

昭和29年11月5日第三種郵便物認可  
昭和60年5月25日（毎月25日発行）  
第764号

Vol. 76 No. 5  
May 1985

CODEN: FKIZA4  
ISSN 0016-254X

# FUKUOKA ACTA MEDICA

## 福岡医学雑誌

第76巻 第5号 (764)

昭和60年5月25日

特 集 号

油 症 と P C B

研 究 報 告 第 10 集

The Tenth 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 10 集

(福岡医学雑誌 第76巻 第5号 昭和60年5月)

### 目 次

1. 序 言.....倉恒 匡徳・青野 正男・吉田彦太郎…( 1)
2. 油症原因油および油症患者血液中の PCB, PCQ および PCT  
.....飯田 隆雄・深町 和美・高橋 克己・増田 義人…( 10)
3. 高速液体クロマトグラフィーによる油症油中のポリ塩化クォーターフェニルの  
分析.....山口 早苗・増田 義人…( 16)
4. 健常者の血中 PCB 濃度およびガスクロマトグラムピークパターンの経年変化  
.....飯田 隆雄・深町 和美・高橋 克己・増田 義人…( 21)
5. 油症 PCB パターンの解析について.....榎本 隆・村田 弘・薬師寺 積・田中 涼一…( 29)
6. 最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール異性体  
.....増田 義人・山口 早苗・黒木 広明・原口 浩一…( 34)
7. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzofuran の酵素誘導作用及び毒性に及ぼす不純物の影響  
.....黒木 広明・原口 浩一・増田 義人・吉原 新一・吉村 英敏…( 37)
8. PCB 異性体によるラット肝可溶性酵素の誘導  
.....古賀 信幸・黒木 淳・外間由美子・吉村 英敏…( 44)
9. 3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニールのニワトリ (ヒナ) に対する急性毒性並びに  
肝酵素誘導作用.....外間由美子・永野 磯美・古賀 信幸・吉村 英敏…( 51)
10. マウスにおける塩化ビフェニールの濃度とパターンおよびベンツピレン水酸化活性  
に及ぼす塩化ジベンゾフランおよびダイオキシンの影響 (英文)  
.....長山 淳哉・清原千香子・半田 純雄・増田 義人・倉恒 匡徳…( 59)
11. 高毒性 2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF) のラット糞中排泄に  
及ぼすスクアランの効果.....吉村 英敏・神村 英利・小栗 一太・佐伯清太郎…( 68)
12. PCDFs 中毒サルに対する 13-cis Retinoic Acid 及びスクアランの治療に関する  
研究.....榎本 隆・堀 伸二郎・尾花 裕孝…( 74)
13. 油症における呼吸器系ならびに免疫系の障害——経過ならびに発病機序について  
.....中西 洋一・栗田 幸男・鐘ヶ江秀明・重松 信昭…( 80)
14. 1, 2-ジメチルヒドラジンによるラット大腸腫瘍発生への PCBs の影響 (英文)  
.....西住 昌裕…( 88)
15. 多塩素化芳香族化合物及びその類似物質の Methylcholanthrene induced Mouse  
Skin Cancer の発生に及ぼす影響について  
.....堀 真・藤田 和夫・山城 一純・鳥山 史・広瀬 寮二  
宿輪 哲生・豊島 弘行・吉田彦太郎…( 92)
16. PCB のポルフィリン代謝に及ぼす影響——低濃度 Griseofulvin 投与マウスに対す  
る KC-400, glutathione の影響  
.....野中 薫雄・大神 太郎・山下 和徳・吉田彦太郎・村山 史男…( 99)

17. **PCB** 投与ラットにおける歯牙硬組織形成への影響について  
.....橋口 勇・赤峰 昭文・原 宣興・前田 勝正・阿南 壽  
.....阿部 隆夫・青野 正男・福山 宏...(105)
18. 油症検診と肝癌早期発見の対策.....奥村 恂・坂口 正剛...(113)
19. 油症患者の甲状腺機能.....村井宏一郎・辻 博・梶原 英二・赤木 公博・藤島 正敏...(117)
20. 昭和 58～59 年度の年次検診における油症皮膚症状の推移  
.....利谷 昭治・旭 正一・本坊 昭三・占部 治邦...(123)
21. 油症患者の眼症状（第 6 報）——瞼板腺内容物採取の工夫と **PCB** 濃度  
.....向野 利彦・大西 克尚・廣中 博見...(128)
22. 油症患者の歯周疾患に関する疫学的調査（第 1 報）  
.....赤峰 昭文・橋口 勇・前田 勝正・原 宣興  
.....鎮守 信弘・岩本 恭行・青野 正男...(132)

## The Tenth Reports of the Study on Yusho and PCB

(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 76, 5, 1985)

### CONTENTS

1. Foreword...M. Kuratsune, M. Aono, H. Yoshida ..... ( 1)
2. PCB, PCQ and PCT in the Rice Oil Which Caused "Yusho" and in the Blood of Patients with Yusho.....T. Iida, K. Fukamachi, K. Takahashi and Y. Masuda ....( 10)
3. Quantitative Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Oil by High Performance Liquid Chromatography.....S. Yamaguchi and Y. Masuda ....( 16)
4. Time Course Variation of PCB Levels and Peak Pattern on Gas Chromatogram in the Blood of Normal Persons.....T. Iida, K. Fukamachi, K. Takahashi and Y. Masuda ....( 21)
5. Analysis on the Pattern of PCBs in the Blood of Patients with Yusho .....T. Kashimoto, H. Murata, T. Yakushiji and R. Tanaka ....( 29)
6. Polychlorinated Biphenyl Isomers in the Blood of Recent Yusho Patients.....Y. Masuda, S. Yamaguchi, H. Kuroki and K. Haraguchi ....( 34)
7. Effects of Impurities on Enzyme Induction and Toxicity in Rats Treated with 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzofuran.....H. Kuroki, K. Haraguchi, Y. Masuda, S. Yoshihara and H. Yoshimura ....( 37)
8. Inductive Effect of Polychlorinated Biphenyl Isomers on Liver Cytosolic Enzymes in Rats.....N. Koga, J. Kuroki, Y. Hokama and H. Yoshimura ....( 44)
9. Acute Toxicity and Inductive Effect on Liver Enzyme Activities of 3, 4, 5, 3', 4'-Pentachlorobiphenyl in Chickens.....Y. Hokama, I. Nagano, N. Koga and H. Yoshimura ....( 51)
10. Effects of Chlorinated Dibenzofuran and Dioxin on Concentration and Pattern of Chlorobiphenyls and Activity of Benzo (a) pyrene Hydroxylation in Mice .....J. Nagayama, C. Kiyohara, S. Handa, Y. Masuda and M. Kuratsune ....( 59)
11. Stimulating Effect of Squalane on Fecal Excretion of a High Toxic 2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF) in Rats.....H. Yoshimura, H. Kamimura, K. Oguri and S. Saeki ....( 68)
12. Studies on Therapeutic Effect of 13-cis Retinoic Acid and Squalane on Symptoms of PCDFs Poisoning in Monkeys.....T. Kashimoto, S. Hori and H. Obana ....( 74)
13. Respiratory Involvement and Immune Status in Polychlorinated Biphenyls and Polychlorinated Didenzofurans Poisoning.....Y. Nakanishi, Y. Kurita, H. Kanegae and N. Shigemathu ....( 80)
14. Effect of PCBs on DMH-induced Colon Tumorigenesis in Rats.....M. Nishizumi ....( 88)
15. Influences of Polychlorinated Biphenyl's (PCB) and PCB-like Chemicals on 20-Methylcholanthrene-Induced Mouse Skin Carcinogenesis.....M. Hori, K. Fujita, K. Yamashiro, F. Toriyama, R. Hirose, T. Shukuwa, H. Toyoshima and H. Yoshida ....( 92)
16. Effects of KC-400 (Polychlorinated Biphenyls) on Porphyrin Metabolism—The Influence of KC-400 and Glutathione on Mice Fed with a Feed Containing a 0.1 % Griseofulvin.....S. Nonaka, T. Ohgami, K. Yamashita, H. Yoshida and F. Murayama ....( 99)
17. Effects on the Hard Tissue of Teeth in PCB Poisoned Rat.....I. Hashiguchi, A. Akamine, Y. Hara, K. Maeda, H. Anan, T. Abe M. Aono and H. Fukuyama ....(105)

18. Hepatic Cell Carcinoma and Patients with Yusho .....M. Okumura  
and S. Sakaguchi ... (113)
19. Thyroid Function in Patients with PCB Poisoning.....K. Murai, H. Tsuji,  
E. Kajiwara, K. Akagi and M. Fujishima ... (117)
20. Dermatological Findings in the General Examination of Yusho in 1983-1984  
.....S. Toshitani, M. Asahi, S. Honbo and H. Urabe ... (123)
21. Ocular Manifestations and Polychlorinated Biphenyls in the Tarsal Gland Contents  
of Yusho Patients.....T. Kohno, Y. Ohnishi and H. Hironaka ... (128)
22. Prevalence of Periodontal Disease in Patients with Yusho.....A. Akamine,  
I. Hashiguchi, K. Maeda, Y. Hara, N. Chinjiu, Y. Iwamoto and M. Aono ... (132)

## 序 言

厚生省油症治療研究班・班長  
中村学園大学・中村学園短期大学教授

倉 恒 匡 徳

九州大学油症治療研究班・班長  
九州大学歯学部教授

青 野 正 男

長崎油症研究班・班長  
長崎大学医学部教授

吉 田 彦 太 郎

### Foreword

Masanori KURATSUNE

*Chief, Study Group for the Therapy of "Yusho" under the Grant  
from the Ministry of Welfare. Professor, Nakamuragakuen  
University and Nakamuragakuen Junior College*

Masao AONO

*Chief, Study Group for the Therapy of "Yusho" at Kyushu  
University. Professor, Faculty of Dentistry, Kyushu University*

Hikotarô YOSHIDA

*Chief, Study Group for the Therapy of "Yusho" at Nagasaki.  
Professor, Nagasaki University, School of Medicine*

It was June 1969 when the 1st report presenting the study on PCB poisoning (Yusho). We had been reporting mainly on the results obtained by the members of the Study Group of Kyushu University for 14 years.

Last year, the Ministry of Welfare created a nationwide organization which 13 study groups of Yusho belonged to. It included Study Group for the Terapy of Yusho at Kyushu University and at Nagasaki University and follow-up groups in 11 prefectures. This is why, this 10th report consists of the results obtained not only by the members of Kyushu University for these 2 years but also by those of Nagasaki University. Those members were shown on Table 1.

This report completed under the grant from the Ministry of Welfare and that from the City of Kitakyushu.

## ( 1 )

## 厚生省油症治療研究班研究報告集の刊行にあたって

倉 恒 匡 徳

厚生省は昭和 59 年度から油症治療研究体制を改め、油症治療研究班の中に、従来から油症治療の研究に従事してきた九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班とをいれるとともに、各府県の油症追跡研究班をも包含し、研究体制を一本化した。このことは、二つの大学の研究協力を一層密にするとともに、油症患者の検診結果を油症治療研究に活用したり、あるいは逆に、油症治療研究の成果を油症検診に反映することを一層容易にした点で、極めて有益な措置であつたと考えられる。これにより、油症治療法の開発が進展するとともに、油症患者の包括的なよりよい健康管理の実現が期待される。本研究報告集はこのように研究体制が改変されたあとに刊行された最初の研究報告集である。従つて、従来と異なり、九州大学と長崎大学の油症研究班の研究成果が共に収められている。

残念ながら、油症の根治療法は長年にわたる班員の献身的な努力にもかかわらず、未だ開発されていない。このことはしかし、根治療法の開発が不可能であることを意味しない。患者が極めて徐々ではあるが、恢復していることは事実であり、この自然治癒を大きく促進させる手段がありうることは十分考えられるからである。研究班の目的を一日でも早く達成し、患者の期待に添いうるよう、班員各位に一層の努力をお願いする次第である。

最後にこの報告集は九州大学油症治療研究班長青野正男教授により編集されたものであることを申し添え、ご尽力に対して感謝の意を表わします。

(昭和 60 年 3 月 14 日)

(2)

青 野 正 男

油症研究報告第1集が昭和44年6月(1969)に発行されて以来、本報告集で第10集を数えることになった。

従来、本報告集は九州大学油症治療研究班員の研究成果を中心に集録してきた。しかし厚生省は昭和59年度から油症治療研究体制を改め九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班、ならびに各府県の油症追跡研究班をも包含して研究体制を一本化した。したがって本報告集は新構想にもとづく最初の報告集でもある。

この第10集は前回の報告集(昭和58年2月)に引き続き、昭和60年2月に至る九州大学油症治療研究班の研究成果と今回新たに加った長崎油症研究班の研究成果を収載したものである。

なお、この期間における油症治療研究班員は表1、表2に示す通りである。

表 1 昭和58, 59年度九州大学油症治療研究班員

|     |                       |           |       |                           |             |
|-----|-----------------------|-----------|-------|---------------------------|-------------|
| 班 長 | 九 大 歯 科 保 存 教 授       | 青 野 正 男   | 班 員   | 九 大 薬 理 学 助 教 授           | 佐 伯 清 太 郎   |
| 班 員 | 九 大 医 皮 膚 科 教 授       | 占 部 治 邦   | 班 員   | 九 大 理 生 体 高 分 子 教 授       | 岩 永 貞 昭     |
| 班 員 | 九 大 医 皮 膚 科 助 教 授     | 旭 正 一     | 班 員   | 福 岡 大 医 第 一 内 科 教 授       | 奥 村 恂       |
| 班 員 | 九 大 医 呼 吸 器 科 教 授     | 重 松 信 昭   | 班 員   | 福 岡 大 医 病 理 科 教 授         | 菊 池 昌 弘     |
| 班 員 | 九 大 医 神 經 内 科 助 手     | 石 本 進 士   | 班 員   | 福 岡 大 医 皮 膚 科 教 授         | 利 谷 昭 治     |
| 班 員 | 九 大 医 眼 科 助 教 授       | 大 西 克 尚   | 班 員   | 中 村 学 園 大 学 食 物 栄 養 科 教 授 | 倉 恒 匡 徳     |
| 班 員 | 九 大 医 第 二 内 科 助 手     | 村 井 宏 一 郎 | 班 員   | 筑 後 市 立 病 院               | 院 長 原 田 寿 彦 |
| 班 員 | 九 大 医 公 衆 衛 生 教 授     | 広 畑 富 雄   | 班 員   | 第 一 薬 大 物 理 分 析 教 授       | 増 田 義 人     |
| 班 員 | 九 大 医 公 衆 衛 生 講 師     | 長 山 淳 哉   | 班 員   | 東 京 農 大 綜 合 研 究 所         | 印 南 敏       |
| 班 員 | 九 大 医 公 衆 衛 生 講 師     | 池 田 正 人   | 班 員   | 撰 南 大 薬 食 品 衛 生 教 授       | 樫 本 隆       |
| 班 員 | 九 大 薬 衛 生 裁 判 化 学 教 授 | 吉 村 英 敏   | 班 員   | 佐 賀 医 大 地 域 保 健 教 授       | 西 住 昌 裕     |
| 班 員 | 九 大 薬 衛 生 裁 判 化 学 助 手 | 古 賀 信 幸   | 事 務 局 | 九 大 歯 科 保 存 講 師           | 赤 峰 昭 文     |

表 2 昭和58, 59年度長崎油症研究班員

|     |                 |           |     |                   |             |
|-----|-----------------|-----------|-----|-------------------|-------------|
| 班 長 | 長 大 医 皮 膚 科 教 授 | 吉 田 彦 太 郎 | 班 長 | 長 大 医 皮 膚 科 医 員   | 山 城 一 純     |
| 班 員 | 長 大 医 皮 膚 科 講 師 | 堀 真       | 班 員 | 長 大 医 皮 膚 科 研 修 医 | 宿 輪 哲 生     |
| 班 員 | 長 大 医 皮 膚 科 助 手 | 大 神 太 郎   | 班 員 | 国 立 長 崎 中 央 病 院   | 医 長 村 山 史 男 |
| 班 員 | 長 大 医 皮 膚 科 助 手 | 野 中 薫 雄   | 班 員 | 佐 世 保 総 合 病 院     | 吉 田 和 徳     |
| 班 員 | 長 大 医 皮 膚 科 助 手 | 藤 田 和 夫   | 班 員 | 国 立 佐 賀 病 院       | 医 員 豊 島 弘 行 |
| 班 員 | 長 大 医 皮 膚 科 助 手 | 広 瀬 寮 二   | 班 員 | 健 保 諫 早 病 院       | 鳥 山 史       |

本第10集では過去の本研究班の足跡をたどる意味もあるので油症診断基準などを再掲した。

昭和43年6月7日九州大学医学部附属病院皮膚科を受診した最初の油症患者発見後、昭和43年10月、油症研究班の発足をみた。ついで同班により油症の診断基準が作成され、油症診断のガイドラインが設定された(表3)。その後、PCBが油症の原因物質であることが判明し、その血中濃度ならびにPCBパターンの測定が可能となった。この間、油症の急性症状は次第に消退し、慢性症

表 3 「油症」診断基準（昭和 43 年）

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>本基準は、西日本地区を中心に米ぬか油使用に起因すると思われる特異な病像を呈して発症した特定疾病（いわゆる「油症」）に対してのみ適用される。</p> <p>したがって、食用油使用が発症要因の一部となりうるすべての皮膚疾患に適用されるものではない。</p> <p>発症参考状況</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 米ぬか油を使用していること。</li> <li>2) 家族発症が多くの場合認められる。これが認められない場合は、その理由について若干の検討を要する。</li> <li>3) 発病は、本年 4 月以降の場合が多い。</li> <li>4) 米ぬか油を使用してから発病までには、若干の時間を要するものと思われる。</li> </ol> <p>診 断 基 準</p> <p>症状 上眼瞼の浮腫、眼脂の増加、食思不振、爪の変色、脱毛、両肢の浮腫、嘔気、嘔吐、四肢の脱力感・しびれ感、関節痛、皮膚症状を訴えるものが多い。</p> <p>特に、眼脂の増加、爪の変色、瘡癤様皮疹は、本症を疑わせる要因となりうる。</p> <p>また、症状に附随した視力の低下、体重減少等もしばしば認められる。</p> <p>以下特殊検査に基づかない一般的な本症の所見を述べる。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 眼 所 見             <p>眼脂（マイボーム氏腺分泌）の増加、眼球および眼瞼結膜の充血・混濁・異常着色・角膜輪部の異常着色、一過性視力低下が認められる。</p> <p>なお、他の眼疾患との鑑別上分泌物のギムザ染色検査が望ましい。</p> </li> <li>2. 皮 膚 所 見             <p>角化異常を主とし、次のような種々の所見が認められる。</p> </li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 爪の変色、時に扁平化をみるが、明らかな変形は認められない。</li> <li>2) 毛孔に一致した黒点（著明化）。</li> <li>3) 手掌の発汗過多。</li> <li>4) 角性丘疹、特に、皮膚汗脂分泌の多い部を侵す（例、腋窩部など）。</li> <li>5) 瘡癤様皮疹、面皰より集簇性瘡癤とみられる重症型まで、さまざまである。</li> <li>6) 脂腺部に一致した嚢胞（外陰部に多くみられる）。</li> <li>7) 小児の場合も上記症状をしめすが、若干症状を異にすることもある。すなわち、全身特に四肢屈側に帽針頭大の落屑性紅斑の多発を認める場合があり、多少の痒みを訴える。</li> <li>8) 掻痒は多くの例にはない。また、あつても軽度であり、掻痕は認めない。</li> <li>9) 皮膚は、多少汚黄色を呈するが、著明な色素沈着はない場合が多い。</li> <li>10) 乾性脂漏。</li> <li>11) 口腔粘膜および歯肉に着色をみることがある。</li> <li>12) 耳垢の増加を認める。</li> </ol> <p>3. 全 身 所 見</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 貧血、肝脾腫は認めないことが多い。しかし発熱、肝機能障害を認めることがある。</li> <li>2) 手足のしびれ、脱力感を訴えるが、著明な麻痺は認めない。深部反射は減弱あるいは消失することがある。</li> </ol> <p>四肢末端の痛覚過敏を時に認める。</p> <p>上記所見は、典型例においては、その大多数が認められるが、手掌の発汗過多、爪の変色、眼脂の分泌増加、頬骨部の面皰形成、および自覚症のいくらかを総合して、疑症をもうけることは必要であろう。</p> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

表 4 油症診断基準（昭和 47 年 10 月 26 日改訂）

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>油症は PCB の急性ないし亜急性の中毒と考えられるが、現在全身症状には、成長抑制、神経内分泌障害、酵素誘導現象、呼吸器系障害、脂質代謝異常などがあり、局所症状には皮膚および粘膜の病変として瘡癤様皮疹と色素沈着、さらに眼症状などがみられる。</p> <p>1. 発病条件</p> <p>PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。</p> <p>多くの場合家族発症がみられる。</p> <p>2. 全身症状</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 自覚症状             <ol style="list-style-type: none"> <li>① 全身倦怠感</li> <li>② 頭重ないし頭痛</li> <li>③ 不定の腹痛</li> <li>④ 手足のしびれ感または疼痛</li> <li>⑤ 関節部のはれおよび疼痛</li> <li>⑥ 咳嗽・喀痰</li> <li>⑦ 月経の変化</li> </ol> </li> <li>2) 他覚症状</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>① 気管支炎様症状</li> <li>② 感覚性ニューロパチー</li> <li>③ 粘液嚢炎</li> <li>④ 小児では成長抑制および歯牙異常</li> <li>⑤ 新生児の SFD (Small-For-Dates Body) および全身性色素沈着</li> </ol> <p>3) 検査成績</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① 血液 PCB の性状および濃度の異常</li> <li>② 血液中性脂肪の増加</li> <li>③ 貧血、リンパ球増多、アルブミン減少</li> <li>④ 知覚神経伝導性と副腎皮質機能の低下</li> </ol> <p>3. 皮膚粘膜症状</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 瘡癤性皮疹             <p>顔面、臀部、その他間擦部などにみられる黒色面皰、瘡癤様皮疹とその化膿傾向</p> </li> <li>2) 色素沈着             <p>顔面、眼瞼粘膜、歯肉、指趾爪などの色素沈着</p> </li> <li>3) 眼症状             <p>マイボーム腺肥大と眼脂過多、眼瞼浮腫など</p> </li> </ol> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

表 5 油症診断基準（昭和 51 年 6 月 14 日補遺）

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>油症の診断基準としては、昭和 47 年 10 月 26 日に改訂された基準があるが、その後の時間の経過とともに症状と所見の変化がみられるので、現時点においては、次のような診断基準によることが妥当と考えられる。</p> <p>発病条件<br/>PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。</p> <p>油症母親を介して児に PCB が移行する場合もある。多くの場合家族発症がみられる。</p> <p>重要な所見</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 瘰癧様皮疹<br/>顔面、臀部、そのほか間擦部などにみられる黒色面皰、面皰に炎症所見の加わったもの、および粥状内容物をもつ皮下嚢胞とそれらの化膿傾向。</li> <li>2. 色素沈着<br/>顔面、眼瞼結膜、指趾爪などの色素沈着（いわゆる“ブラックベビー”をふくむ）</li> <li>3. マイボーム腺分泌過多</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>4. 血液 PCB の性状および濃度の異常<br/>参考となる症状と所見             <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 自覚症状                 <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 全身倦怠感</li> <li>2) 頭重ないし頭痛</li> <li>3) 四肢のパレステジア（異常感覚）</li> <li>4) 眼脂過多</li> <li>5) せき、たん</li> <li>6) 不定の腹痛</li> <li>7) 月経の変化</li> </ol> </li> <li>2. 他覚的所見                 <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 気管支炎所見</li> <li>2) 爪の変形</li> <li>3) 粘液囊炎</li> <li>4) 血清中性脂肪の増加</li> <li>5) 血清 <math>\gamma</math>-GTP</li> <li>6) 血清ビリルビンの減少</li> <li>7) 新生児の SFD (Small-For-Dates Baby)</li> <li>8) 小児では、成長抑制および歯牙異常（永久歯の崩出遅延）</li> </ol> </li> </ol> </li> </ol> |
| <p>註 1. 以上の発病条件と症状、所見を参考にし、受診者の年齢および時間の経過を考慮のうえ、総合的に診断する。</p> <p>2. この診断基準は、油症であるか否かについての判断の基準を示したものであつて、必ずしも油症の重症度とは関係ない。</p> <p>3. 血液 PCB の性状と濃度の異常については、地域差職業などを考慮する必要がある。</p>                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

表 6 油症診断基準（昭和 56 年 6 月 16 日追加）油症治療研究班

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 0.1 ppb 以上：異常に高い濃度</li> <li>(2) 0.03～0.09 ppb：(1) と (3) の境界領域濃度</li> <li>(3) 0.02 ppb（検出限界）以下：通常みられる濃度</li> </ol> </li> </ol> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

状が主体をしてくたので昭和 47 年 10 月には従来の油症診断基準が改訂された（表 4）。さらに昭和 51 年 6 月には補遺が加えられることになった（表 5）。

また原因食品である典型的ライスオイル中には PCB の 2 量体 polychlorinated quater phenyl (PCQ) が PCB と等濃度（約 1,000 ppm）で混入していることが明らかになり、この PCQ は現在、PCB のような広範な環境汚染がないため原因物質たるライスオイル摂取の有無を判定するための有用な化合物と考えられ、昭和 56 年 6 月表 6 に示すような診断基準への追加が行われた。

福岡県における油症患者発生状況は表 7 に示すように昭和 43～60 年の 18 年間に計 814 名に達している。また昭和 59 年 12 月 31 日現在の全国油症患者数は 1,833 名であり、その居住地別内訳は表 8 のようである。さらに全国の年次別油症患者発生数の累計は表 9 のように現在も新たな認定患者が追加されている。

なお油症患者からその児への移行が考えられる事件後出生患者数の年次別患者状況は表 10 のようである。

表 7 福岡県油症患者発生状況（年次別および累計）

| 年 次   | 男   | 女   | 計   | 累 計 | 年 次   | 男  | 女  | 計  | 累 計 |
|-------|-----|-----|-----|-----|-------|----|----|----|-----|
| 昭和43年 | 156 | 164 | 320 | 320 | 昭和52年 | 5  | 8  | 13 | 737 |
| 44    | 46  | 42  | 88  | 408 | 53    | 4  | 4  | 8  | 745 |
| 45    | 15  | 13  | 28  | 436 | 54    | 2  | 7  | 9  | 754 |
| 46    | 9   | 6   | 15  | 451 | 55    | 13 | 13 | 26 | 780 |
| 47    | 1   | 0   | 1   | 452 | 56    | 6  | 8  | 14 | 794 |
| 48    | 18  | 17  | 35  | 487 | 57    | 5  | 4  | 9  | 803 |
| 49    | 33  | 36  | 69  | 556 | 58    | 4  | 2  | 6  | 809 |
| 50    | 62  | 61  | 123 | 679 | 59    | 1  | 0  | 1  | 810 |
| 51    | 23  | 22  | 45  | 724 | 60    | 4  | 0  | 4  | 814 |

表 8 年次別，都道府県別油症患者数

| 都道府県名 | 年 次 | 昭和58年末 | 昭和59年末 |
|-------|-----|--------|--------|
| 北海道   |     | 0      | 0      |
| 青森    |     | 1      | 1      |
| 茨城    |     | 1      | 1      |
| 栃木    |     | 0      | 0      |
| 埼玉    |     | 5      | 6      |
| 千葉県   |     | 17     | 14     |
| 東京都   |     | 7      | 9      |
| 神奈川県  |     | 11     | 9      |
| 長野    |     | 1      | 1      |
| 岐阜    |     | 2      | 2      |
| 静岡県   |     | 0      | 0      |
| 愛知県   |     | 28     | 31     |
| 三重    |     | 2      | 3      |
| 京都    |     | 2      | 2      |
| 大阪    |     | 66     | 65     |
| 兵庫県   |     | 15     | 15     |
| 奈良    |     | 23     | 23     |
| 鳥取    |     | 2      | 2      |
| 島根    |     | 8      | 9      |
| 岡山    |     | 4      | 4      |
| 広島    |     | 111    | 108    |
| 山口    |     | 52     | 52     |
| 愛媛    |     | 11     | 13     |
| 徳島    |     | 3      | 0      |
| 高知    |     | 47     | 47     |
| 福岡    |     | 761    | 754    |
| 佐賀    |     | 22     | 22     |
| 長崎    |     | 584    | 596    |
| 熊本    |     | 7      | 8      |
| 大分    |     | 21     | 25     |
| 鹿児島   |     | 9      | 10     |
| 沖縄    |     | 1      | 1      |
| 計     |     | 1,824  | 1,833  |

表 9 全国油症患者発生数（年次別累計）

| 年 次     | 患 者 数 |
|---------|-------|
| 昭和 43 年 | 676   |
| 44      | 1,001 |
| 45      | 1,056 |
| 46      | 1,081 |
| 47      | 1,097 |
| 48      | 1,200 |
| 49      | 1,288 |
| 50      | 1,531 |
| 51      | 1,629 |
| 52      | 1,665 |
| 53      | 1,684 |
| 54      | 1,696 |
| 55      | 1,729 |
| 56      | 1,770 |
| 57      | 1,788 |
| 58      | 1,824 |
| 59      | 1,833 |

表 10 事件後出生患者状況（出生年次別）

| 年 次   | 男  | 女  | 計  |
|-------|----|----|----|
| 昭和43年 | 8  | 5  | 13 |
| 44    | 5  | 2  | 7  |
| 45    | 3  | 1  | 4  |
| 46    | 5  | 5  | 10 |
| 47    | 1  | 2  | 3  |
| 48    | 2  |    | 2  |
| 49    | 2  | 1  | 3  |
| 50    | 0  | 0  | 0  |
| 51    | 2  | 1  | 3  |
| 52    |    | 1  | 1  |
| 計     | 28 | 18 | 46 |

表 11 油症患者追跡調査状況

| 年度 | 区分 | 対象者数 | 受診希望者数 | 受診者数(受診率)  |
|----|----|------|--------|------------|
| 47 |    | 405  | 221    | 130 (32.1) |
| 48 |    | 436  | 206    | 120 (27.5) |
| 49 |    | 502  | 256    | 175 (34.9) |
| 50 |    | 612  | 240    | 100 (16.3) |
| 51 |    | 658  | 166    | 96 (14.6)  |
| 52 |    | 665  | 167    | 103 (15.7) |
| 53 |    | 671  | 186    | 127 (18.9) |
| 54 |    | 676  | 195    | 110 (16.3) |
| 55 |    | 707  | 215    | 112 (15.8) |
| 56 |    | 726  | 182    | 114 (15.7) |
| 57 |    | 729  | 167    | 101 (13.9) |
| 58 |    | 728  | 151    | 80 (11.0)  |
| 59 |    | 700  | 221    | 125 (17.9) |

表 12 未認定者検診及び認定状況

| 年度 | 区分 | 受診希望者数<br>a | 受診者数<br>b | 受診率<br>(%)<br>b/a | 検 診 結 果 |                   |    |          |
|----|----|-------------|-----------|-------------------|---------|-------------------|----|----------|
|    |    |             |           |                   | 患者<br>c | 発現率<br>(%)<br>c/b | 保留 | 所見<br>なし |
| 47 |    |             | 45        |                   | 35      | 77.8              | 8  | 2        |
| 48 |    |             | 91        |                   | 69      | 75.8              | 16 | 6        |
| 49 |    | 366         | 258       | 70.5              | 123     | 47.7              | 93 | 42       |
| 50 |    | 171         | 158       | 92.4              | 44      | 27.8              | 91 | 23       |
| 51 |    | 136         | 126       | 92.6              | 14      | 11.1              | 98 | 14       |
| 52 |    | 145         | 118       | 81.4              | 8       | 6.8               | 73 | 37       |
| 53 |    | 128         | 110       | 85.9              | 9       | 8.2               | 86 | 15       |
| 54 |    | 126         | 90        | 71.4              | 26      | 28.9              | 58 | 6        |
| 55 |    | 105         | 82        | 78.1              | 14      | 17.1              | 47 | 21       |
| 56 |    | 83          | 72        | 86.7              | 9       | 12.5              | 24 | 39       |
| 57 |    | 72          | 61        | 84.7              | 6       | 9.8               | 30 | 25       |
| 58 |    | 68          | 39        | 57.4              | 1       | 2.6               | 21 | 17       |
| 59 |    | 68          | 51        | 75.0              | 4       | 7.8               | 22 | 25       |

本研究班は福岡県における油症検診事業に専門医師の派遣を行ない、油症外来の設置などを通じて協力してきた。これは油症患者の健康管理と追跡調査、治療法の開発にも関連した重要な事柄である。

昭和 47 年から昭和 59 年までの油症患者の追跡調査状況は表 11 のようであり、発症当初の受診率に比し近年は減少または横ばい状態を呈している。

一方、未認定者検診と認定状況は表 12 のように受診率は認定患者に比べて高率であり、未だに少数ながら認定患者が発掘されている現状である。

油症患者の治療については原因物質である PCB の排泄をはかることが先決であり、本研究班も鋭意検討を重ねてきたが、現在まだ有用な排泄促進剤は確認されていない。

したがって現状では対症療法と合併症の治療並に患者の健康管理を十分に行うよう留意するにと

表 13 油症治療指針（昭和 47 年 10 月 26 日改訂）

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

どまつている。昭和47年10月時点での治療指針は表13のようであるがその後における油症研究の成果をふまえ、この治療指針は現在改訂作業を進めている段階である。

昭和58年度と59年度におけるその他の班活動としては現厚生省油症治療研究班長 倉恒匡徳教授の企画により油症検討会と肝臓癌検討会が福岡市において開催された。

油症検討会は昭和58年9月8日に行われ、九州大学油症治療研究班員が油症の臨床像と治療、油症患者における臓器組織の光学顕微鏡並に電子顕微鏡的所見、油症の原因物質について現状を報告した。ついで班員以外の理、工、農、薬、医、各学部の研究者から意見の開陳があり将来の研究推進に資するところが多くあった。

また昭和60年2月18日には PCB と発癌性の関係を検討する主旨で肝臓癌検討会がもたれ、九州大学油症治療研究班員により油症と肝臓癌との関係が報告され、肝臓癌の治療については熊本大学、長崎大学、九州大学の各研究者から最近の趨勢が報告された。

既に、昭和47年10月発行の本報告集第3集において当時の研究班長田中潔教授の指摘された研究課題18項目と第7集で班長井林博教授の示された6項目に及ぶ未解決の研究課題があつた。しかし近年における研究方法の進歩などにより、これらの課題も逐次、研究の俎上に昇つてきている。

油症の原因物質たる PCB, PCQ, PCDF の患者血中における動態や台湾油症との比較など詳細な検討がなされ、彼我の特徴なども明らかになつた。さらに PCB 異性体による酵素誘導作用と毒性発現については患者体内に残留する 2, 3, 7, 8-TCDF による毒性発現の因果関係も判明した。

そのほか PCB 汚染による一般健常者と油症患者血中 PCB との関係、PCB による発癌性と助癌性、ポルフィリン代謝、内分泌腺への影響などについても研究の進展がみられている。

さらに、油症治療において最重要課題である PCB や PCDF の排泄促進療法の開発については動物実験によりスクアランに有効性が認められ将来の治療研究が期待される。

しかし色素沈着の原因や油症患者の不定愁訴の原因究明など残された問題も多く、今後さらに詳細な研究を継続する必要がある。

幸い九州大学と長崎大学を中心とする油症研究班が研究組織の上で統合したので、研究連絡、情報交換などを緊密にし、油症研究の成果が一日も早く油症患者に福音をもたらすことを祈念したい。

本誌に収録した研究成果は「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」に対する昭和58年度および昭和59年度厚生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。

## ( 3 )

吉 田 彦 太 郎

昭和43年、カネミ油症事件が発生した当時、私は油症患者がほとんど発生しなかつた地方の大学に勤務していた。その後間もなく留学のため日本を離れたこともあつて油症事件はいつの間にか私の脳裡から遠ざかつていつたのである。しかし昭和52年秋、長崎大学へ赴任してはじめて油症事件のなまなましさ、油症の医学的、社会学的深刻さを痛感させられたのである。そして傍観者の立場でしか油症事件をみていながつた私自身を恥じたのである。しかし幸いにも長崎大学皮膚科学教室では以前から油症に対する皮膚科学的解析が臨床的にも基礎的にもきわめて積極的に進められていたのである。このことは私にとって大きな救いでもあつたのである。

当教室が事件発生当初からこのような積極的な姿勢を貫くことができた理由は2つあると考えられる。その1つは前任者 野北通夫名誉教授の高い見識に基づいた指導理念であり、他の1つは長崎県当局および長崎県衛生公害研究所の経済的、技術的協力である。大学の教室がその相当部分の労力、時間、研究費を投入して1つのテーマに取り組むことは指導者の理念と経済的基盤なしでは到底できることではない。今回ここにささやかながらも2篇の論文を発表することができたことを私は非常に誇りと思うと共に、野北名誉教授、長崎県当局に深甚の謝意を捧げる次第である。そして長い間油症の研究に取り組んでくれた教室員諸君の労を多とするものである。

油症に関する問題点は不幸にもなお山積されている。私達は今後新しく組織された厚生省油症治療研究班に属し、班員各位からの御指導を頂き乍ら残された問題点を少しでも解決するべく努力を重ねたいと考えている。各方面からの御助言、御協力を乞う次第である。

## 油症原因油および油症患者血液中の PCB, PCQ および PCT

福岡県衛生公害センター

飯田 隆雄・深町 和美・高橋 克巳

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

### PCB, PCQ and PCT in the Rice Oil Which Caused “Yusho” and in the Blood of Patients with Yusho

Takao IIDA, Kazumi FUKAMACHI  
and Katsumi TAKAHASHI

*Fukuoka Environmental Research Center, Mukaisano,  
Dazaifu-shi, Fukuoka, 818-01, Japan*

Yoshito MASUDA

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

The samples of causal rice-bran oil of Yusho occurred in Fukuoka and Yu-Cheng in Taiwan, Kanechlor 400 (KC-400) used as thermotransfer medium, unused KC-400, the blood of Yusho and Yu-Cheng Patients and the blood of normal persons in Fukuoka were analyzed for polychlorinated biphenyls (PCBs), quaterphenyls (PCQs) and terphenyls (PCTs).

1) The average concentrations of PCBs, PCQs and PCTs were 110, 380 and 7.2 ppm in the rice-bran oil of Fukuoka, respectively and  $76.7 \pm 20.8$ ,  $22.3 \pm 6.4$  and  $0.7 \pm 0.13$  (Mean  $\pm$  SD) ppm in the rice-bran oil of Taiwan, respectively.

2) The concentrations of PCBs, PCQs and PCTs were 940000, 60000 and 1000 pm in the KC-400 used as thermotrasfer medium, respectively and 1000000 63 and 11 ppm in unused KC-400, respectively.

3) The average concentrations of PCBs, PCQs and PCTs were  $0.0053 \pm 0.0034$ ,  $0.0039 \pm 0.0027$  and  $0.00062 \pm 0.00059$  ppm in the blood of Yusho patients in Fukuoka, respectively and  $0.067 \pm 0.053$ ,  $0.017 \pm 0.014$  and  $0.0028 \pm 0.00081$  ppm in the blood of Yu-Cheng Patients in Taiwan, respectively.

4) The levels of PCBs, PCQs and PCTs in the blood of normal persons in Fukuoka were  $0.003 \pm 0.0013$ ,  $<0.00002$  and  $0.0012 \pm 0.0078$  ppm, respectively.

The levels of PCBs in the rice-bran oil of Fukuoka and Taiwan were compatible with each other, while the levels of PCQs and PCTs in the rice-bran oil of Fukuoka were 6 to 9 times higher than those in the rice-bran oil of Taiwan.

1968年、西日本でいわゆる油症事件が発生し<sup>9)</sup>、さらに、11年後の1979年に台湾において同様の事件が発生した<sup>10)</sup>。これらの中毒事件の原因となつた食用ライスオイル中には、Polychlorinated Biphenyl (PCB)、Polychlorinated Dibenzofuran (PCDF) および Polychlorinated Quaterphenyl (PCQ)

等が含有されていたことが明らかにされている<sup>11) 4) 5)</sup>。Polychlorinated Terphenyl (PCT) もまた両中毒原因油中に存在することが報告されている<sup>7)</sup>。しかし、PCT については、その含有量および混入過程に関する報告例は見られない<sup>6)</sup>。

今回、中毒原因油、熱媒体として使用済みの PCB

(KC-400), 未使用の KC-400 および健常者と油症患者の血液などの PCB, PCQ および PCT の分析をおこない, 若干の知見を得たので報告する。

### 材料および実験方法

#### 1. 材料

(1) 油症原因油: 福岡の原因油は1968年に福岡で入手したカネミライスオイル(ロット番号82710082)であり, 台湾の油症原因油は1970年に台湾の台中地区で入手された試料を分与された。

(2) 使用済み熱媒体: 1968年にカネミ倉庫において熱媒体として使用されたものである。

(3) 油症患者および健常者の血液: 福岡の患者血液は1979年8月, 11月および12月に県内に在住する患者から, 健常者血液は1979年12月に福岡県内に在住する健常者からそれぞれ採取した。台湾の患者血液は1979年11月から1980年5月にかけて台中地区の患者から採血された試料を分与された。

#### 2. 試薬

(1) PCB 標準品: カネクロール (KC-400, KC-500, KC-600)

(2) 18 塩化クアテルフェニル (ODCQ) 標準液: 大阪府公衆衛生研究所の榎本博士から供与されたポリ塩化クアテルフェニル (PCQ) 標準液を完全塩素化して調製した。

(3) o-, m- および p-14 塩化トリフェニル (TDCT): 和光純薬製 (99.9%以上)。

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

(5) フロリジル: フロリジン製カラムクロマトグラフィ用 (60-100メッシュ) を 130°C で16時間活性化した。

(6) アルミナ: メルク製カラムクロマトグラフィ用 (中性, 活性度 I, 70-130メッシュ) を 130°C で16時間活性化した。

7) その他の試薬は残留農薬試験用, PCB 分析用または試薬特級を用いた。

#### 3. ガスクロマトグラフおよび測定条件

(1) PCB: ガスクロマトグラフは  $^{63}\text{Ni}$  電子捕獲型検出器 ( $^{63}\text{Ni}$ -ECD) 付き柳本 G-1800 型を用い以下の条件で使用した。カラムは1.5%シリコン OV-1 をガスクロム Q (80-100メッシュ) にコーティングし, ガラスカラム (2m×2mm I.D.) に充填したものをを用いた。カラム温度は 185°C に保った。

(2) 18 塩化クアテルフェニル (ODCQ): ガスクロマトグラフは  $^{63}\text{Ni}$ -ECD 付島津 GC-7 A 型を用い, 以下の条件で使用した。カラムは1% OV-210 をガスクロム Q (100-120メッシュ) にコーティングし, ガラスカラム (1m×3mm I.D.) に充填したものをを用いた。カラム温度は 260°C に保った。

(3) 14 塩化トリフェニル (TDCT): ガスクロマトグラフは  $^{63}\text{Ni}$ -ECD 付島津 GC-7 A 型を用い, 以下の条件で使用した。カラムは1% OV-210 をガスクロム Q (100-120メッシュ) にコーティングし, ガラスカラム (1m×3mm I.D.) に充填したものをを用いた。カラム温度は 240°C に保った。

#### 4. 標準溶液および検量線の作成

(1) PCB: 中毒原因油および台湾の油症患者血液については KC-500 を, 福岡の患者および健常者血液については KC-500+KC-600 (1:1) を, 使用済みの熱媒体については KC-400 を標準品として用いてそれぞれヘキサンで 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の標準原液を調製した。この標準原液をヘキサンで 0.01-0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  になるように希釈して, 標準溶液とした。検量線は標準溶液をガスクロマトグラフに注入し, ピーク高の総和から作成した。

(2) ODCQ: PCQ 標準溶液を完全塩素化して PCQ 濃度で 0.02  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に相当する ODCQ 標準原液を調製した。この標準原液をヘキサンで希釈し, PCQ 濃度で 0.002-0.01  $\mu\text{g}/\text{ml}$  に相当する ODCQ 標準溶液を調製した。検量線は, 標準溶液をガスクロマトグラフに注入し, ピーク面積の総和から作成した。

(3) TDCT: o-, m-, p-TDCT 標準品にヘキサンを加えて 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の標準原液を調製した。この標準原液をヘキサンで 0.002-0.01  $\mu\text{g}/\text{ml}$  になるように希釈して標準溶液を調製した。

検量線はガスクロマトグラフに標準溶液を注入しピーク面積から作成した。

#### 5. 分析方法

(1) 中毒原因油中の PCB, PCQ および PCT.

ライスオイル 0.5 g を採りヘキサンで全量 10 ml とし, この 1 ml に 10% 発煙硫酸 1 ml を加えて混和し 2,000 rpm で15分間遠沈した。ヘキサン層を分離し, 硫酸層にはさらにヘキサン 1 ml を加え同様の操作を行なった。この操作をあと1回繰り返して分離したヘキサンを合わせ, ヘキサンで全量 10 ml とし, PCB 測定用 GC 試験液とした。この GC 試験液をガスクロマトグラフに注入し, 4. (1) の検量線から

PCB 濃度を求めた。

次に上述の PCB 測定用 GC 試験液をガラスアンプル中に移し溶媒を完全に留去した後、五塩化アンチモン 0.5 ml を加え封管し、200°C で2時間加熱反応させた。反応後、反応液は20%塩酸 10 ml で洗い出し、ヘキサン 10 ml で3回抽出し、ヘキサン抽出液を合わせた。このヘキサン抽出液は水 20 ml で2回、5%酒石酸水溶液 20 ml で1回、5%炭酸水素ナトリウム水溶液 20 ml で1回および水 20 ml で2回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムのカラムに通して乾燥し、濃縮して ODCQ および TDCT 測定用試験液とした。この試験液を3. (2) の条件のガスクロマトグラフに注入して4. (2) の検量線から PCQ 濃度を求めた。同じ試験液を3. (3) の条件のガスクロマトグラフに注入して4. (3) の検量線から TDCT 濃度を求めた。なお、中毒原因油中の PCT は5-8個の塩素を持つトリフェニルであるので、その平均値6.5個の塩素をもつ PCT として PCT 濃度を算出した。

(2) 使用済み熱媒体中の PCB, PCQ および PCT.

使用済み熱媒体をヘキサンに溶解して 1.0 µg/ml の溶液を調製し、PCB 測定用 GC 試験液とした。この試験液をガスクロマトグラフに注入し、4. (1) の検量線から PCB 濃度を求めた。次に、使用済み熱媒体の 1.0 µg/ml の溶液 1.0 ml をガラスアンプル中にとり5. (1) の五塩化アンチモンによる完全塩素化以下の操作を行ない PCQ および PCT の濃度を求めた。

(3) 台湾の患者血液中の PCB, PCQ および PCT.

PCB は前報<sup>2)</sup>の方法によつて分析した。すなわち血液約 10 g をとり水酸化カリウムおよびエチルアルコールを加えて加熱還流してアルカリ分解を行ない、ヘキサンで抽出した。この抽出液をシリカゲルカラムで精製し、溶出液を濃縮して PCB 測定用試験液とした。

この試験液をガスクロマトグラフに注入し4. (1) の検量線から PCB 濃度を求めた。また、この PCB 測定用試験液を用いて5. (1) と同じ方法で完全塩素化し、アルミナカラムで精製し ODCQ および TDCT 測定用試験液とした。この試験液を5. (1) と同様にガスクロマトグラフに注入し PCQ および PCT 濃度を求めた。

(4) 福岡の患者および健康者血液中の PCB, PCQ および PCT.

前報の方法<sup>2)</sup>によつて分析した。すなわち、血液約 10 g をとり水酸化カリウムおよびエチルアルコールを加え加熱還流してアルカリ分解を行つた後、ヘキサンで抽出した。この抽出液は濃縮してフロリジルカラムで PCB 画分と PCQ 画分に分離した後、PCB 画分は濃縮して PCB 測定用試験液とした。PCQ 画分は濃縮し、5. (1) の五塩化アンチモンによる完全塩素化以下の操作をおこない、アルミナカラムで精製して ODCQ 測定用試験液とした。この試験液を3. (2) のガスクロマトグラフに注入して4. (2) の検量線から PCQ 濃度をもとめた。また、血液中の PCT は5. (3) の方法で測定した。

(5) KC-400 中の PCQ および PCT.

KC-400 標準品 20 mg についてフロリジルカラムで PCB 画分と PCQ・PCT 画分に分離し、PCQ・PCT 画分は5. (4) の方法で完全塩素化し、アルミナカラムで精製して、ODCQ および TDCT 測定用 GC 試験液とした。この試験液を5. (1) と同様にガスクロマトグラフに注入して PCQ 濃度および PCT 濃度を求めた。

## 結果および考察

Fig. 1 に福岡および台湾における中毒原因油中の PCB と標準の KC-400+KC-500 (1:1) のガスクロマトグラムを示す。使用済み熱媒体、KC-400 標準品、中毒原因油、および血液中の PCB, PCQ および PCT 濃度を Table 1 に、PCQ の完全塩素化物のガスクロマトグラムを Fig. 2 に、o-, m-, p-PCT 構成比を Table 2 に示す。

1. 中毒原因油、使用済み熱媒体および KC-400 標準品中の PCB, PCQ および PCT.

(1) PCB: 福岡および台湾における中毒原因油中の PCB の GC パターンは Fig. 1 から明らかにようによく似ており、KC-400+KC-500 (1:1) の GC パターンに類似していた。また、使用済み熱媒体の PCB の GC パターンは KC-400 のそれとほとんど一致していた。

次に、Table 1 に示したように福岡の中毒原因油の PCB 濃度は 110 ppm であり、台湾の中毒原因油の PCB 濃度は 60-100 ppm でほぼ同程度の値であった。さらに、使用済み熱媒体中の PCB 濃度は 940000 ppm であった。

(2) PCQ: Fig. 2 から明らかにように福岡および台湾の中毒原因油並びに使用済み熱媒体中の PCQ を完全塩素化して得られた ODCQ の GC パター

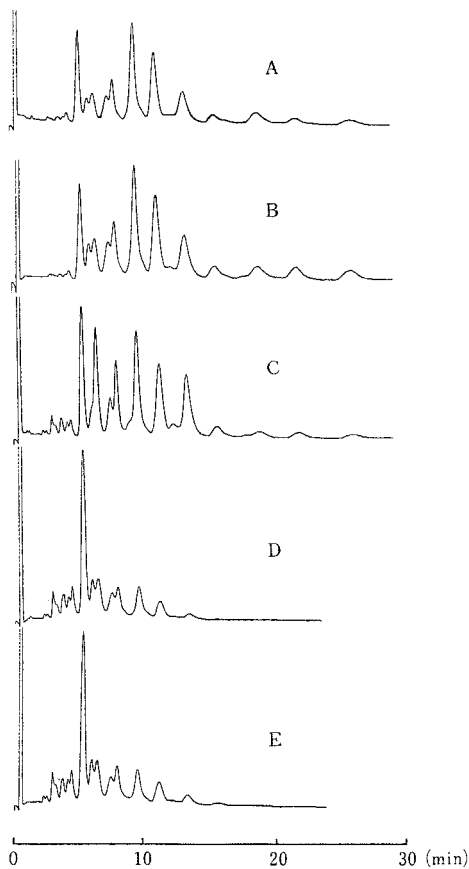


Fig. 1. Gas chromatograms of PCB

- A: Toxic oil in Fukuoka.  
 B: Toxic oil in Taiwan.  
 C: KC-400+KC-500 (1:1).  
 D: KC-400 used as thermotrasfer medium in Fukuoka.  
 E: KC-400.

ンはいずれもよく似ていた。また、中毒原因油中の PCQ 濃度は Table 1 に示すように福岡が 380 ppm であるのに対して台湾のそれは 15-27 ppm と約 1/25-1/15 であった。また、使用済み熱媒体中の PCQ 濃度は 60,000 ppm であり、未使用の KC-400 中では 63 ppm であった。

(3) PCT: Table 1 に示したように中毒原因油中の PCT 濃度は福岡が 7.2 ppm であるのに対して台湾のそれは 0.9-1.2 ppm と約 1/8-1/6 であった。また、使用済み熱媒体中の PCT 濃度は 1,000 ppm であり、未使用の KC-400 中では 11 ppm であった。次に、Table 2 に示したように福岡および台湾の中毒原因油、使用済み熱媒体および未使用の KC-400 中の o-, m-, p- PCT の各異性体の構成比はいずれも

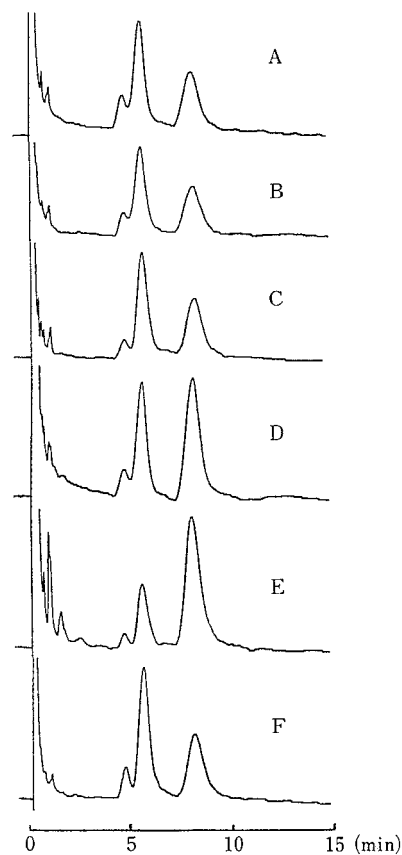


Fig. 2. Gas chromatograms of octadeca-chloroquaterphenyl

- A: KC-400 used as thermotransfer medium in Fukuoka.  
 B: Toxic oil in Fukuoka.  
 C: Toxic oil in Taiwan.  
 D: Blood of Fukuoka Yusho patient.  
 E: Blood of Taiwanese Yu-Cheng patient.  
 F: Standard.

ほぼ同様の値であった。

福岡の油症事件はライスオイルの製造工程で熱媒体として使用された KC-400 が混入したライスオイルを摂食したことによって引き起こされたとされている<sup>10)</sup>。また、このライスオイル中には毒性の強い PCDF や多量の PCQ が含有されていたことが量的にも明らかにされ、PCT の存在についても報告されている<sup>7)</sup>。KC-400 を熱媒体として使用している間に PCQ が生成し、その熱媒体がライスオイル中に混入したのち、脱臭工程で加熱減圧され、沸点の低い PCB 成分が蒸散し、その結果ライスオイル中に沸点の高い PCQ の割合が大きくなったとされている<sup>8)</sup>。

Table 1. PCB, PCQ, and PCT levels in KC-400 used as thermotransfer medium, unused KC-400, toxic oils, and blood of Yusho patients and normal persons

| Samples                              | No | Concentration (ppm)                               |                             |                                     | PCB: PCQ : PCT        |
|--------------------------------------|----|---------------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------|
|                                      |    | PCB                                               | PCQ                         | PCT                                 |                       |
| KC-400 used as thermotransfer medium | 1  | 940000                                            | 60,000                      | 1000                                | 100 : 6.4 : 0.1       |
| Unused KC-400                        | 1  | 1000000                                           | 63                          | 11                                  | 100 : 0.0063 : 0.0011 |
| Toxic oil in Fukuoka                 | 1  | 110                                               | 380                         | 7.2                                 | 100 : 345 : 6.5       |
| Toxic oils in Taiwan                 | 3  | 76.7±20.8 <sup>a)</sup><br>(60-100) <sup>b)</sup> | 22.3±6.4<br>(15-27)         | 0.7±13<br>(0.62-0.86)               | 100 : 32 : 1.0        |
| Blood of Yusho patients in Fukuoka   | 10 | 0.0053±0.0034<br>(0.003-0.03)                     | 0.0039±0.0027<br>(2-12)     | 0.00062±0.00059<br>(0.00016-0.0022) | 100 : 74 : 12         |
| Blood of normal persons in Fukuoka   | 10 | 0.0034±0.0013<br>(0.002-0.005)                    | <0.00002                    | 0.0012±0.00078<br>(0.20-2.69)       | 100 : <0.6 : 35       |
| Blood of Taiwanese Yu-Cheng patients | 5  | 0.067±0.053<br>(0.031-0.16)                       | 0.017±0.014<br>(0.008-0.04) | 0.0028±0.00081<br>(0.0019-0.0039)   | 100 : 25 : 4.2        |

a) Average±SD      b) Range

Table 2. Composition of PCT isomer in KC-400 used as thermotransfer medium, unused KC-400, toxic oils, and blood of Yusho patients and normal persons

| Samples                              | No | o-isomer               | m-isomer | p-isomer  |
|--------------------------------------|----|------------------------|----------|-----------|
| KC-400 used as thermotransfer medium | 1  | 27.0(%)                | 53.3(%)  | 19.7(%)   |
| Unused KC-400                        | 1  | 25.0                   | 48.3     | 26.7      |
| Toxic oil in Fukuoka                 | 1  | 15.7                   | 64.4     | 19.9      |
| Toxic oil in Taiwan                  | 3  | 17.3±1.2 <sup>a)</sup> | 59.9±2.4 | 22.8±2.0  |
| Blood of normal persons              | 10 | 12.3±3.9               | 52.1±3.2 | 35.7±2.3  |
| Blood of Fukuoka Yusho patients      | 10 | 13.3±4.9               | 56.6±5.9 | 30.1±4.0  |
| Blood of Taiwanese Yu-Cheng Patients | 5  | 13.0±5.1               | 27.1±7.8 | 59.9±10.0 |

a) Average±SD

今回の福岡の使用済み熱媒体、KC-400 標準品および油症原因油中 PCQ 濃度の分析結果は宮田のこれらの報告とほぼ一致していた。また、PCT 濃度はいずれも PCQ よりかなり低かったが PCT 濃度の PCB 濃度に対する割合が未使用の KC-400 より使用済み熱媒体の方が大きく油症原因油でさらに大きいという傾向は PCQ と同じであった。PCT は未使用の KC-400 を鉄粉末と加熱することにより生成することから<sup>3)</sup> PCQ と同様に熱媒体の加熱使用中に生成しライスオイル中に混入したものと考えられる。一方、台湾の油症原因油中の PCQ および PCT の平均値は PCB 濃度が両原因油中ではほぼ同じであったにもかかわらず、それぞれ、福岡の原因油の約 1/6 および 1/9 にすぎなかった。これはライスオイルに混入した熱媒体中の PCQ および PCT の濃度が福岡と比べてかなり低かったことを示唆し、ライスオイル中に混入した

熱媒体の使用条件が異なっていたためと考えられる。

## 2. 福岡の油症患者および健常者並びに台湾の患者の血液中 PCB, PCQ および PCT.

(1) PCB: Table 1 に示すように、福岡の油症患者および健常者並びに台湾の油症患者血中 PCB 濃度の平均値は、それぞれ、0.0053, 0.0034 および 0.067 ppm であった。

(2) PCQ: 福岡の油症患者および健常者並びに台湾の油症患者血中 PCQ 濃度の平均値は、それぞれ、0.0029, 0.00002 以下および 0.017 ppm であった。

(3) PCT: 福岡の油症患者および健常者並びに台湾の油症患者の血中 PCT 濃度の平均値は、それぞれ、0.00062, 0.0011 および 0.0028 ppm であった。また、o-, m-, p- PCT 各異性体の相対比は Tabel 2 に示すように福岡の患者と健常者には差は認められないが台湾の患者は p-PCT が多かった。

福岡の油症患者および健康者血中の PCB および PCQ はいずれも患者のほうが健康者より高いが、PCT は両者の間に有意な差は認められなかった。一方、台湾の患者血液中の PCB, PCQ および PCT は、福岡の患者血液と比べていずれも高濃度であった。これは福岡の場合が原因油を摂取してから十数年後に採血された試料であるのに対し台湾の場合は原因油摂取後わずか数箇月で採血された試料であり代謝等による濃度の低下が少ないためと考えられる。

### 総 括

油症原因油、使用済み熱媒体、未使用の KC-400 および油症患者血液の PCB, PCQ および PCT を分析した。

1. 福岡および台湾における中毒原因油中の GC パターンはよく似ており、KC-400+KC-500 (1:1) の GC パターンに類似していた。また、使用済み熱媒体の PCB の GC パターンは KC-400 のそれとほとんど一致していた。一方、台湾の油症原因油中の PCQ および PCT の平均値は PCB 濃度が原因油中でほぼ同じであったにもかかわらず、それぞれ、福岡の原因油の約 1/6 および 1/9 にすぎなかった。

2. 福岡の油症患者および健康者血液中の PCB および PCQ はいずれも患者のほうが健康者より高いが、PCT は両者の間に差は認められなかった。一方、台湾の患者血液中の PCB, PCQ および PCT は、福岡の患者血液と比べていずれも高濃度であった。これは福岡の場合が原因油を摂取してから十数年後に採血された試料であるのに対し台湾の場合は原因油摂取後わずか数箇月で採血された試料であり代謝等による濃度の低下が少ないためと考えられる。

### 文 献

- 1) Chen, P. H., Chang, K. T. and Lu, Y. D.: Toxic compounds in the cooking oil which caused PCB poisoning in Taiwan I. Clinical Medicine (Taipei) 7: 71-76, 1981.
- 2) Chen, P. H., Lu, Y. D., Yang, M. H. and Chen, J. S.: Toxic compounds in the cooking oil which caused PCB poisoning in Taiwan II. The presence of polychlorinated quaterphenyls and polychlorinated terphenyls. Clinical Medi-

cine (Taipei) 7: 77-82, 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: ヒト血液中におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリ塩化クァテルフェニル. 福岡医誌 72: 185-191, 1981.

4) 飯田隆雄: 未発表データ.

5) Kamps, L. R., Trotter, W. J., Yung, 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) Kashimoto, T., Miyata, H., Hsu, S., Tang, T., Chang, K., Tang, S., Ohi, G., Nakagawa, J., Yamamoto, S.: Role of polychlorinated dibenzofuran in Yusho, PCB poisoning. Arch. Environ. Health 36: 321-326, 1981.

7) 勝木司馬之助: 序. 福岡医誌 60: 403-407, 1969.

8) 増田義人, 倉恒匡徳: 油症を起こしたライスオイル中の毒性物質. 福岡医誌 70: 229-237, 1979.

9) Masuda, Y., Kuroki, H., Yamaryo, T. and Haraguchi, K.: Comparison of causal agents in Taiwan and Fukuoka PCB poisonings. Chemospher. 11: 199-206, 1982.

10) Miyata, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: Studies on the compounds related to PCB (V) detection and determination unknown organocompound J. Food Hyg. Soc. 19: 364-371, 1978.

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

12) Miyata, H., Kashimoto, T. and Kunita, N.: Investigation on organochlorinated compound formed in Kanemi rice oil that caused the "Yusho". J. Food Hyg. Soc. 20: 1-9, 1979.

13) Nagayama, J., Kuratsune, M. and Masuda, Y.: Determination of chlorinated dibenzofurans in kanemichlor and "Yusho oil". Bull. Environ. Contam. Toxicol., 15: 9-18, 1976.

14) 塚本久雄ほか 33 名: 油症患者が使用したライスオイル中の有害物質の化学的検索. 福岡医誌 60: 496-512, 1969.

15) Wong, C. K.: Forword. Clinical Medicine (Taipei) 7: 1-3, 1981.

## 高速液体クロマトグラフィーによる油症油中の ポリ塩化クォーターフェニルの分析

第一薬科大学物理分析学教室

山 口 早 苗・増 田 義 人

### Quantitative Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Oil by High Performance Liquid Chromatography

Sanae YAMAGUCHI and Yoshito MASUDA

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

Polychlorinated quaterphenyls (PCQs) in the Kanemi rice oil and Taiwan rice oil were quantitatively determined by high performance liquid chromatography (HPLC) on a column of gel permeation. The samples were cleaned up by saponification, extraction with n-hexane and column chromatography on silica gel and then analyzed on HPLC. PCQs were determined to be 705 and 950 ppm in Kanemi rice oil and 31.9 and 64.6 ppm in Taiwan rice oil. Polychlorinated hexaphenyls were also identified in some of the Kanemi rice oil.

油症原因油にはポリ塩化ビフェニル (PCB) のほかに、PCB に近い濃度でポリ塩化クォーターフェニル (PCQ) が存在していたことが明らかにされた<sup>6)2)</sup>。その後、PCQ は油症患者の体組織や血液からも検出され、その濃度は健常者のそれらの濃度より、有意に高い濃度であることが分つた<sup>1)3)</sup>。PCQ は PCB の二量体であり、理論的には数十万の塩素の数及び置換位置による異性体が考えられる。この PCQ を分析するには、PCQ を五塩化アンチモンと反応させ、十八塩化クォーターフェニル (ODCQ) として、ガスクロマトグラフに注入する方法が行われている<sup>1)3)5)</sup>。PCQ を完全に塩素化するには、かなりの試練を要し、得られた ODCQ には、6 種類の構造異性体が存在するために、ガスクロマトグラム上では 3 本のピークとして現われる<sup>8)</sup>ので、PCQ の定量に煩雑さをともなう。PCQ は PCB やポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の約 2 倍の分子量を持っている。そこで、化合物を分子量の大きさにより分別できるゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いて、ライスオイル中の PCQ の定量分析をした。その方法及び分析結果を報告する。

### 実 験 方 法

#### 1. 溶媒および試薬

- (1) n-ヘキサンおよびエタノール  
残留 PCB 分析用溶媒を使用。
- (2) クロロホルム  
高速液体クロマトグラフ用溶媒を使用。
- (3) 水  
蒸留水を前記の n-ヘキサンで 1 回洗浄したものを使用。
- (4) シリカゲル  
ワコーゲル (Lot. No. CEL 8126-1) を 140° で 3 時間加熱乾燥したものを使用。
- (5) 水酸化ナトリウムおよび無水硫酸ナトリウム  
試薬特級または PCB 分析用試薬を使用。
- (6) 標準 PCQ  
カネミ製油工場で、油症事件当時 (1968 年) 熱媒体として使用されていたカネクロールより PCQ 部分を分離した。カネクロール 1 g を n-ヘキサン 20 ml に溶かし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ、n-ヘキサンで溶出させ、着色部分を除いた後、GPC 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (後記) で PCQ 分画を集めた。

1 回の分離では十分でなかったので、繰り返し GPC-HPLC を行ない、PCB および PCDF を含まない PCQ 分画を集めることができた。PCQ 分画の保持時間は、*p*-クオーターフェニルを塩素化して合成した PCQ<sup>9)</sup> を同じ GPC-HPLC にかけて推定した。カネクロール 5 g より 121.9 mg の黄色粘質の PCQ を得た。

## 2. 測定機器

### (1) 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

ウォーターズ社製 ALC/GPC 204 型を使用。途中でポンプを島津製作所の LC-5 A に変更して使用した。カラムは昭和電工の Shodex A-801 ステンレスカラム (8 mm×50 cm) を 2 体直列に結合して使用。

移動相にクロロホルム、流速 1.0 ml/min、圧力 400~500 psi で使用、流出液は波長 254 nm の紫外線で検出した。

### (2) 質量分析計

日本電子の JMS D-100 を使用し、直接導入により質量スペクトルを測定した。イオン化エネルギー 75 eV、イオン化電流 300  $\mu$ A、加速電圧 3.0 KV を用いた。

## 3. 試料

ライスオイルはカネミ倉庫製造で PCB を含んでいないもの (1968 年 1 月以前製造)、油症患者が使用していた油 (1968 年 2 月 5、6 日製造)、および台湾の PCB 中毒患者の使用していたもの (衛生署、許氏より供与) 試料として使用した。

## 4. 分析方法

### (1) 試料のクリーンアップ

30 ml の目盛付試験管にカネミライスオイル 0.1 g または台湾ライスオイル 0.5 g を採取し、これにエタノール 10 ml 及び水酸化ナトリウム 1g を加え、よく混合したのち、空気冷却管をつけて 75°C の水浴上で 2 時間加熱した。冷後、同量の水を加え、*n*-ヘキサン 10 ml を加え、共栓をつけて振とうした。しばらく放置したのち、上層の *n*-ヘキサンを駒込ピペットで別の試験管に移した。この抽出操作を繰り返した。この抽出操作を繰り返したのち、無水硫酸ナトリウム約 0.1 g を加え乾燥させた。この *n*-ヘキサン溶液をシリカゲル 0.5 g のカラムクロマトグラフィーにかけ、*n*-ヘキサンで溶出させた。はじめの 40 ml に殆ど PCQ は溶出される。完全に溶出されているかを検討するために、更に 40 ml の *n*-ヘキサンを溶出させる。これらの溶出液をそれぞれ、ロータリーエバポレ

ーターで濃縮し、一定量のクロロホルムに溶解した。

### (2) HPLC による PCQ の定量分析

標準 PCQ を秤量し、クロロホルムに溶かし、段階的濃度の標準溶液を作り、それぞれ 25  $\mu$ l を HPLC に注入した。得られた全ピーク (Fig. 1. c) のピーク面積を半値幅法により求め、検量線を作った。検量線は 10~100  $\mu$ g/ml の範囲では原点を通る直線を示した。同じ条件の HPLC に前記試料のクロロホルム溶液を注入し、保持時間の一致するピークの面積を求め、検量線より PCQ の濃度を求めた。

### (3) HPLC ピークの質量分析

標準 PCQ の HPLC における 2 つのピーク及びそれらのピークと保持時間が一致するライスオイルから得られた試料のピークに相当する溶出液をそれぞれ分取し、溶媒を蒸発させ、それぞれ質量スペクトルを測定した。

## 結 果

### 1. ライスオイルフラクションの質量スペクトル

カネミライスオイルより分離した PCQ 画分及び標準 PCQ の HPLC クロマトグラムを、Fig. 1, A 及び C に示す。PCQ 画分の保持時間、26~28 分の部分を分取し、溶媒を留去して質量スペクトルを測定すると、Fig. 3. の上段に示すようなスペクトルが得られた。同様に、台湾ライスオイルより分離した PCQ 画分の保持時間 24~26 分 (Fig. 2.) の部分を分取して、質量スペクトルを測定したものを Fig. 3. の下段に示す。これらのスペクトルはいずれも、塩素数 7 から 10 の PCQ および塩素数 7 から 9 の PCQ エーテルであることを示した。

標準 PCQ の HPLC クロマトグラム (Fig. 1, c) の保持時間 23.7~25.7 分の部分を分取し、溶媒を留去して質量スペクトルを測定すると、Fig. 4 のようなスペクトルが得られた。これは、その質量数より PCB の 3 量体 (塩化キサフェニル, PCH) と推定される。カネミライスオイルより分離した、同じ保持時間の部分の質量スペクトルも、同様のスペクトルを示した。すなわち、PCB の 3 量体もライスオイルに含まれていたと考えられる。

### 2. 回収試験

PCB が検出されなかつたライスオイル 0.1 g に、標準 PCQ 63  $\mu$ g を添加し、分析方法に従って処理し、HPLC により PCQ を定量したところ 90 % 以上の回収率を示した。この分析方法により、正しい PCQ の含量が測定できる。

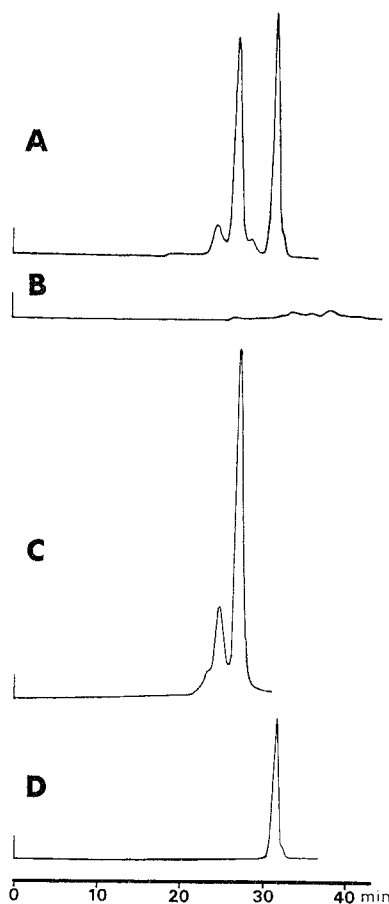


Fig. 1. High performance liquid chromatography of PCQs on a gel permeation column.

A: PCQ fraction from Kanemi rice oil.  
B: PCQ fraction from control rice oil.  
C: PCQ standard.  
D: Kanechlor 400.

### 3. PCQ 定量分析

カネミライスオイル2検体及び台湾ライスオイル2

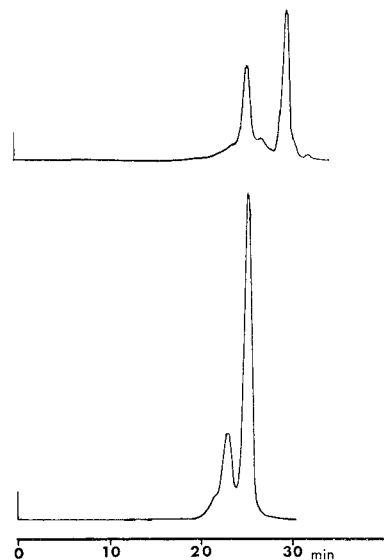


Fig. 2. High performance liquid chromatography of PCQ fraction from Taiwan rice oil (upper) and PCQ standard (lower).

検体をそれぞれ数回秤量し、分析方法に従って処理し、得られた HPLC クロマトグラムの PCQ 及び PCH に相当するピークを、別々に定量した値を Table. 1 に示す。カネミライスオイルには、705 及び 950 ppm、台湾ライスオイルには 31.9 及び 64.9 ppm の PCQ が検出された。PCH はカネミライスオイル 1 検体からは、ピークとして認められ、その濃度は 70 ppm と計算されたが、他のライスオイル検体からは、はっきりした相当ピークが認められなかったため、検出されずとした。

### 考 察

分子量数百の化合物を分離できる Shodex A-801 を用いたゲル浸透クロマトグラフィーによれば、ライ

Table 1. Concentrations of PCQs in the rice oil of Fukuoka and Taiwan

| Sample          | Number of experiment | PCQs*                             |                       | PCHs*                             |                       |             |
|-----------------|----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|-------------|
|                 |                      | Amount detected ( $\mu\text{g}$ ) | Concent. in oil (ppm) | Amount detected ( $\mu\text{g}$ ) | Concent. in oil (ppm) |             |
| Kanemi rice oil | A                    | 5                                 | 78.7 $\pm$ 10.1       | 705 $\pm$ 71                      | 7.9 $\pm$ 2.6         | 70 $\pm$ 17 |
|                 | B                    | 3                                 | 127 $\pm$ 23          | 950 $\pm$ 56                      | nd                    | —           |
| Taiwan rice oil | C                    | 10                                | 16.0 $\pm$ 1.6        | 31.9 $\pm$ 3.3                    | nd                    | —           |
|                 | D                    | 5                                 | 32.3 $\pm$ 0.6        | 64.6 $\pm$ 1.5                    | nd                    | —           |

\* Values are mean $\pm$ SD. nd: less than 3  $\mu\text{g}$ .

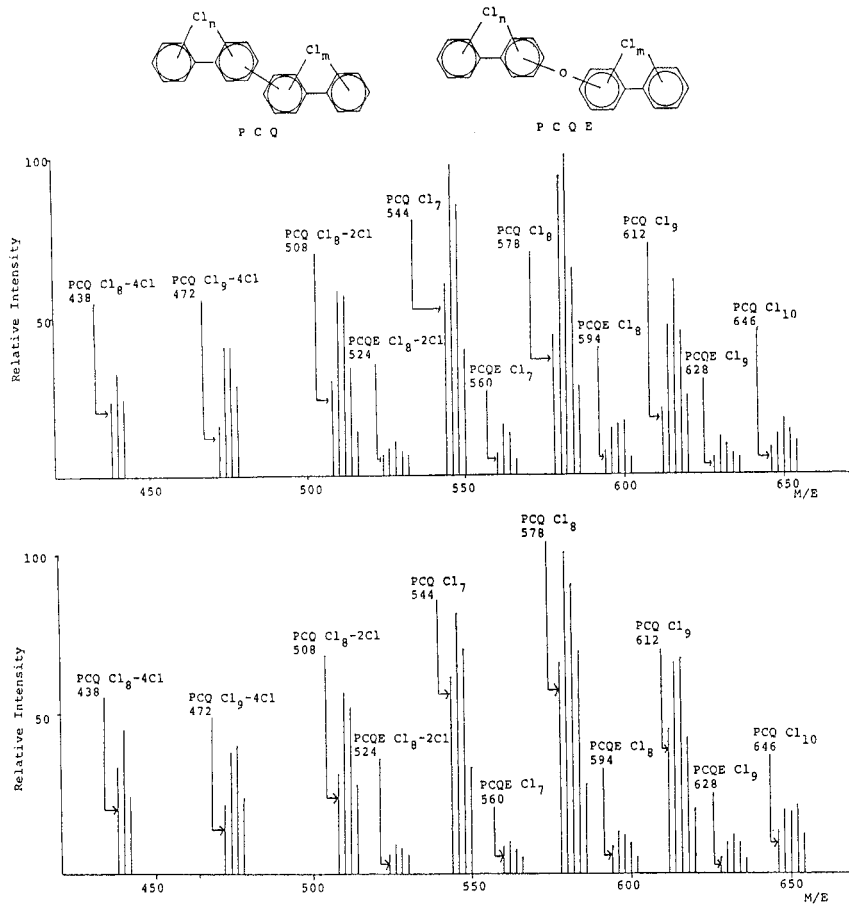


Fig. 3. Mass spectra of PCQ fractions from Kanemi rice oil (upper) and Taiwan rice oil (lower).

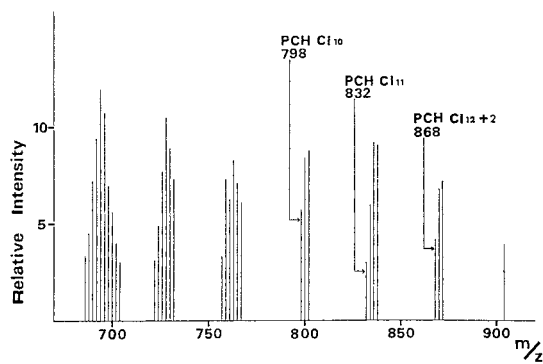


Fig. 4. Mass spectrum of the early eluting fraction of PCQ standard ( $t_R$  23.7–25.7 min in Fig. 1, C).

スオイルのように PCB, PCDF, 及び PCQ を含む試料においては, PCDF は PCB に近い保持時間

を示すので, PCQ を PCB 及び PCDF より分離等になり, 試料から他の妨害物質を除けば, PCB 及び PCDF が混在したままで, 液体クロマトグラフィーで分離定量できる。この分析法では, ライスオイルをアルカリ分解, その n-ヘキサン抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーでクリーンアップ, 次いで液体クロマトグラフィーによる PCQ の定量, と非常に簡便に分析できる。しかも, アルカリ分解, n-ヘキサン抽出等は試験管による処理で, 小規模な方法をとっているため, 数種の試料を同時にクリーンアップ処理することができる。宮田ら<sup>7)</sup>は, 1968 年 2 月 5 日に生産されたカネミライスオイルより 866 ppm の PCQ を検出した。ここでは, 同じ時に生産されたカネミライスオイルから, 705 及び 950 ppm の PCQ を検出しており, 近似的な PCQ 濃度を

示した。また Kashimoto ら<sup>4)</sup>は台湾のライスオイルより17.3 ppm の PCQ を検出している。本分析においては、台湾ライスオイル中の PCQ 濃度は 32 及び 65 ppm であった。両検体が同じ種類のものであるかどうか分からないが、近い値を示した。台湾のライスオイルの PCQ は、分析したカネミライスオイルの PCQ 濃度よりも 1 桁以上低い濃度であった。

### 総 括

油症の原因となつたカネミライスオイル及び台湾 PCB 中毒のライスオイルに含まれる PCQ をゲル浸透カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により、定量分析した。

1) 試料を、アルカリ分解、n-ヘキサン抽出、及びシリカゲルクロマトグラフィーによりクリーンアップして、HPLC にかけた。

2) HPLC により、PCQ を共存する PCB 及び PCDF から分離することができたので、PCQ の定量分析をした。

3) カネミライスオイルには、705 及び 950 ppm、台湾ライスオイルには、32 及び 65 ppm の PCQ が検出された。

4) カネミライスオイルから PCB の三量体である PCH も検出された。

### 文 献

1) 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.

2) Kamps, L. R., Trotter, W. J., Young,

S. J., Carson, L. J., Roach, J. A. G., Sphon, J. A., Tanner, J. T. and McMahon, B.: Polychlorinated quaterphenyls identified in rice oil associated with Japanese "Yusho" poisoning. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 20: 589-591, 1978.

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

4) Kashimoto, T., Miyata, H., Kunita, S., 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.

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

6) 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.

7) Miyata, H., Murakami, Y. and Kashimoto, T.: Investigation on polychlorinated quaterphenyl in Kanemi rice oils caused the "Yusho". J. Food Hyg. Soc. 19: 233-235, 1978.

8) 高田 智, 毛利隆美, 飯田隆雄, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人: 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。福岡医誌 5: 193-201, 1983.

9) 山領智子, 室崎徳光, 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オターフェニルの生成。福岡医誌 70: 88-92, 1979.

## 健常者の血中 PCB 濃度およびガスクロマト グラムピークパターンの経年変化

福岡県衛生公害センター

飯田 隆雄・深町 和美・高橋 克巳

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

### Time Course Variation of PCB Levels and Peak Pattern on Gas Chromatogram in the Blood of Normal Persons

Takao IIDA, Kazumi FUKAMACHI and Katsumi TAKAHASHI

*Fukuoka Environmental Research Center, Mukaisano,  
Dazaifu-shi, Fukuoka, 818-01 Japan*

Yoshito MASUDA

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

The samples of normal persons (221 in total) collected during the period of 1974–1980 were analyzed for the concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) and examined for gas chromatographic patterns of PCBs. The average concentrations of PCBs in the samples gave the maximum value in 1975 and later gradually decreased with year. The PCB levels in the blood of male were higher than those of female in every year. The ratio of first peak to second peak ( $(1/2)$  value) after p, p'-DDE peak on gas chromatogram gave the maximum value in 1975 and later gradually decreased with time. The  $(1/2)$  value of female were higher than those of male in every year. The ratio of 5th peak to second peak ( $(5/2)$  value) after p, p'-DDE peak on gas chromatogram showed no significant variation during the checking years and no significant difference between male and female. Most of the plots of Yusho patients were distributed outside of the tolerance ellipse of normal persons in 1974 and 1980.

#### 緒 言

1972年、増田らは日本人の母乳から PCB を検出し PCB による人体汚染を明らかにした。<sup>3)</sup>

また、増田らは1968年に西日本地域で発生した“油症”の患者と健常者の血中 PCB を分析し、前者は後者と比べ一般に濃度が高く、さらに、両者のガスクロマトグラム上のピークパターン (GC パターン) に差異があることを明らかにした。<sup>4)</sup> 我々は1974年より油症診断の基礎資料を得る目的で患者血液と対照として健常者の血中 PCB を分析して来た。<sup>1)</sup> 今回、PCB による人体汚染の推移を明らかにする目的で1974年

から1980年までの7年間に分析した健常者血液延べ221例について PCB 濃度および GC パターンの経年変化を調査し、いくつかの知見を得たので報告する。

#### 材料および実験方法

##### 1. 血液

血液は福岡県衛生公害センター職員について、上腕部肘静脈からヘパリン入り真空採血管中に10 ml 採取し、分析するまで冷蔵庫で保存した。

##### 2. 試薬

(1) PCB 標準品: カネクロール (KC-500, KC-

600)

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

(3) ヘキサン：和光純薬の残留農薬試験用 300 を1回蒸留して用いた。

(4) その他の試薬は残留農薬試験用、PCB 試験用または試薬特級を用いた。

### 3. ガスクロマトグラフおよび測定条件

ガスクロマトグラフは Ni<sup>63</sup> 電子捕獲型検出器付き柳本 G-800 型、柳本 G-1800 型、島津 GC-6 A 型、島津 GC-7 AG 型を用い以下の条件でを使用した。カラムは 1.5% シリコン SE-30 をガスクロム Q (80-100 メッシュ) にコーティングし、ガラスカラム (2 m × 2 mm I.D.) に充填したものを用い、カラム温度は 185°C に保った。

### 4. 標準溶液および検量線の作成

KC-500 と KC-600 を同量ずつとり、ヘキサンを用いて 100 μg/ml の標準原液を調製した。この標準原液をヘキサンで 0.01-0.1 μg/ml になるように希釈して、標準溶液とした。検査線は標準溶液をガスクロマトグラフに注入し、p, p'-DDE より保持時間の長いピーク高の総和から作成した。

### 5. 分析方法

(1) PCB 濃度：前報の方法<sup>2)</sup>に従って分析した。すなわち、血液約 10 g をとり水酸化カリウムおよびエチルアルコールを加えて加熱還流してアルカリ分解を行ない、ヘキサンで抽出した。この抽出液をシリカゲルカラムで精製して、溶出液を濃縮して PCB 測定用試験液とした。この試験液をガスクロマトグラフに注入し、検量線から PCB 濃度を求めた。

(2) GC パターン<sup>4)</sup>

p, p'-DDE から数えて1番目ピークの2番目のピークに対する相対ピーク高さ ((1/2) 値) および5番目ピークに対する相対ピーク高さ ((5/2) 値) について検討した。装置および測定年度による違いは標準液の GC パターンを用いて補正し、規格化した。

### 結果および考察

Fig. 1, Fig. 2 および Fig. 3 に血中 PCB 濃度、(1/2) 値および (5/2) 値の平均値の経年変化を示す。また、血中 PCB 濃度、(1/2) 値および (5/2) 値について、各作年度毎の平均値、標準偏差 (SD) および分析件数を Table 1, Table 2, および Table 3, に示す。Table 4, Table 5 および Table 6 に比較的経年的にデータがある個人別の分析値を示す。

#### 1. PCB 濃度の経年変化

Table 1 および Fig. 1 から分かるように血中 PCB 濃度は 1975 年を最高に減少傾向を示した。また、7年間を通して男の方が女より高濃度であった。

Table 4 に示したように個々人の分析値において一部は殆ど経年変化を示さないが大部分は 1980 年では 1973 年または 1975 年の 2/3 から 1/2 に減少していた。

健康者の血中 PCB 濃度の減少は 1972 年にとられた PCB の製造および使用中止措置のためと考えられる。

#### 2. (1/2) 値の経年変化

Table 2 および Fig. 2 から分かるように (1/2) 値は 1975 年を最高としてその後は減少していた。また、7年間を通して女の (1/2) 値の方が男より高かった。

Table 5 に示したように個々人の分析値において、1980 年の (1/2) 値は 1974 年または 1975 年の 2/3 から 1/2 に減少していた。

Table 1. Time course variation (1974-1980) of PCB level (ppb) in the blood of normal persons

|        | Year | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Total  | N    | 32   | 27   | 31   | 29   | 31   | 31   | 40   |
|        | Mean | 3.8  | 4.5  | 3.8  | 3.3  | 3.2  | 2.8  | 3.1  |
|        | SD   | 1.65 | 1.67 | 1.51 | 1.25 | 1.23 | 0.98 | 1.24 |
| Male   | N    | 22   | 14   | 18   | 19   | 19   | 25   | 30   |
|        | Mean | 4.2  | 5    | 4.4  | 3.6  | 3.3  | 2.9  | 3.3  |
|        | SD   | 1.76 | 1.75 | 1.40 | 1.38 | 1.19 | 0.93 | 1.26 |
| Female | N    | 10   | 13   | 13   | 11   | 12   | 6    | 10   |
|        | Mean | 3.0  | 4.0  | 3    | 2.7  | 2.9  | 2.7  | 2.6  |
|        | SD   | 1.05 | 1.47 | 1.22 | 0.77 | 1.31 | 0.92 | 1.07 |

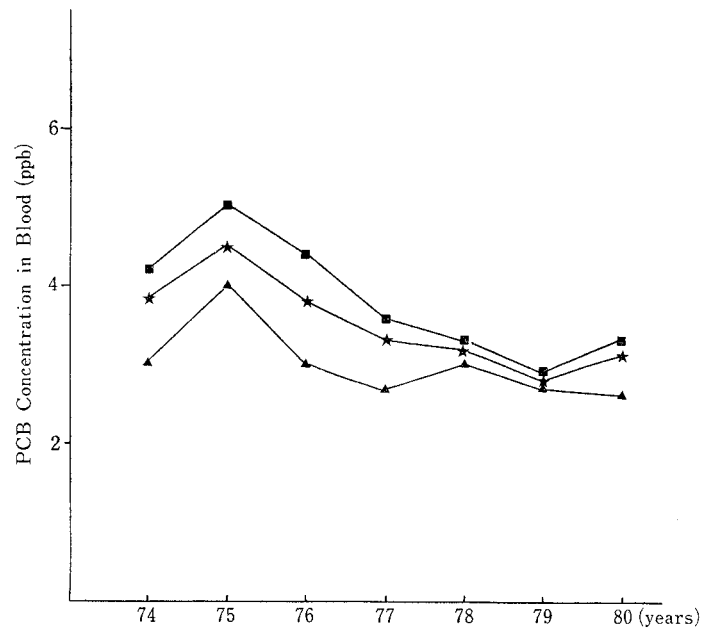


Fig. 1. Time course (1974-1980) variation of PCB level (ppb) in the blood of normal persons.  
 ■: Male ★: Female ▲: Total

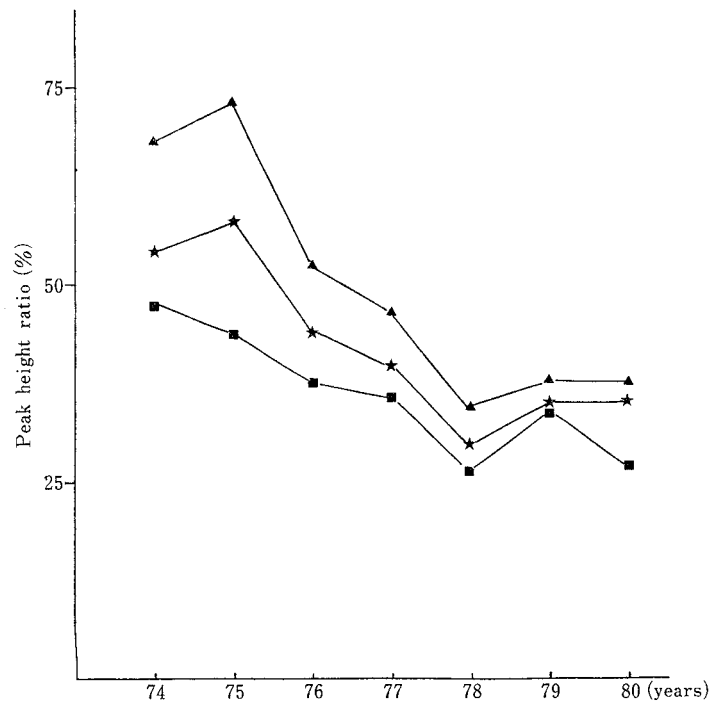


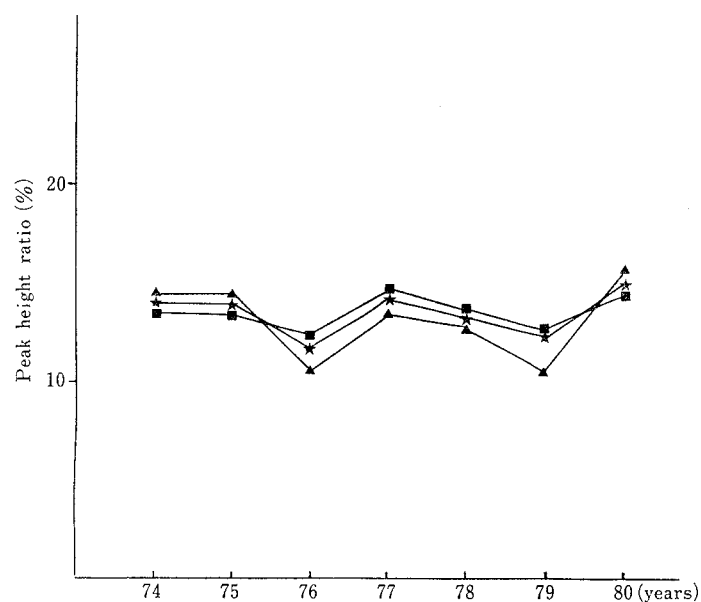
Fig. 2. Time course variation of PCB GC pattern, peak height ratio (%) of first peak vs. second peak after p,p'-DDE peak in the blood of normal persons.  
 ■: Male ★: Female ▲: Total

**Table 2.** Time course variation (1974-1980) of PCB GC pattern in the blood of normal persons, the ratio (%) of first peak vs. second peak after p,p'-DDE on the gas chromatogram

|        | Year | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Total  | N    | 32   | 27   | 31   | 29   | 31   | 31   | 40   |
|        | Mean | 53.7 | 57.6 | 43.5 | 39.6 | 29.3 | 34.5 | 29.7 |
|        | S D  | 18.7 | 22.8 | 17.0 | 15.3 | 8.6  | 12.2 | 11.4 |
| Male   | N    | 22   | 14   | 18   | 18   | 19   | 25   | 30   |
|        | Mean | 46.9 | 43.7 | 37.3 | 35.6 | 26.0 | 33.7 | 27.2 |
|        | S D  | 17.1 | 20.3 | 18.6 | 17.2 | 9.2  | 13.0 | 11.4 |
| Female | N    | 10   | 13   | 13   | 11   | 12   | 6    | 10   |
|        | Mean | 68.6 | 72.7 | 52.0 | 46.3 | 34.2 | 37.7 | 37.5 |
|        | S D  | 12.5 | 14.3 | 9.6  | 8.6  | 5.0  | 7.8  | 6.9  |

**Table 3.** Time course variation (1974-1980) of PCB GC pattern in the blood of normal persons, the ratio (%) of 5th peak vs. second peak after p,p'-DDE on the gas chromatogram

|        | Year | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Total  | N    | 32   | 27   | 31   | 29   | 31   | 31   | 40   |
|        | Mean | 13.9 | 14.1 | 11.6 | 14.3 | 13.3 | 12.0 | 15.0 |
|        | S D  | 2.2  | 4.5  | 2.4  | 3.2  | 2.9  | 3.0  | 3.5  |
| Male   | N    | 22   | 14   | 18   | 18   | 19   | 25   | 30   |
|        | Mean | 13.8 | 13.5 | 12.2 | 14.6 | 13.7 | 12.4 | 14.8 |
|        | S D  | 2.4  | 2.5  | 2.3  | 2.2  | 3.3  | 3.0  | 2.9  |
| Female | N    | 10   | 13   | 13   | 11   | 12   | 6    | 10   |
|        | Mean | 14.1 | 14.7 | 10.7 | 13.8 | 12.8 | 10.3 | 15.8 |
|        | S D  | 1.7  | 6.0  | 2.3  | 4.4  | 1.9  | 2.4  | 4.9  |

**Fig. 3.** Time course variation of PCB GC pattern, peak height ratio (%) of 5th peak vs. second peak after p,p'-DDE peak in the blood of normal persons.

■: Male    ★: Female    ▲: Total

### 3. (5/2) 値の経年変化

Table 3 および Fig. 3 から分かるように (5/2) 値は経年的変化が認められなかった。また、男女間に差はなかった。Table 6 から分かるように個々人の分析値でも余り変動は認められなかった。

Fig. 4 に p, p'-DDE から数えて 1 番目ピークおよび 5 番目ピークの 2 番目ピークに対する相対ピーク高さの対数変換値をそれぞれ縦軸および横軸にとり、1974 年と 1980 年の GC-パターンを推移をします。楕円は健康者の分布領域を示している。この図からわかるように健康者は 1974 年と比べて 1980 年は分布領域が広がり下方に移動していた。しかし、両年度とも油

症患者のプロットは楕円の外に分布していた。

### 総 括

1974 年から 1980 年までの 7 年間に分布した健康者血液延べ 221 例について血中 PCB 濃度および GC パターンの経年変化を調べた。PCB 濃度は 1975 年を最高に減少傾向を示した。また、7 年間を通して男の方が女より高濃度であった。ピーク 1 のピーク 2 に対する相対ピーク高さ ((1/2) 値) は 1975 年に最高となりその後、減少傾向を示した。また、7 年間を通して女の方が男より高かった。ピーク 5 のピーク 2 に対する相対ピーク高さ ((5/2) は値) は経年的変化は認め

Table 4. Time course variation (1974-1980) of PCB level (ppb) in the blood of individual normal persons

| No | Sex    | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|----|--------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1  | Male   | 9    | 9    | 8    | 7    | 6    | 5    |      |
| 2  |        | 4    | 5    | 6    | 3    | 3    | 2    |      |
| 3  |        | 3    | 4    | 4    | 2    | 2    | 3    |      |
| 4  |        | 3    |      | 3    | 2    | 2    | 2    |      |
| 5  |        | 3    |      | 5    | 4    | 3    | 4    |      |
| 6  |        | 5    | 8    | 6    | 4    | 5    | 3    |      |
| 7  |        | 3    | 4    | 6    | 4    | 5    |      | 5    |
| 8  |        | 3    |      |      |      | 3    |      |      |
| 9  |        | 3    |      | 3    | 2    |      |      |      |
| 10 |        | 4    |      |      |      | 2    |      |      |
| 11 |        |      |      | 3    | 2    | 3    |      | 2    |
| 12 |        | 3    | 4    |      |      | 2    |      |      |
| 13 |        | 2    | 3    | 3    | 2    | 3    |      |      |
| 14 |        | 4    | 4    | 3    | 3    | 2    |      |      |
| 15 |        | 4    | 5    | 4    | 5    |      |      | 4    |
| 16 |        | 5    | 6    | 5    | 5    | 5    | 4    |      |
| 17 |        |      | 3    | 3    | 3    | 2    | 3    |      |
| 18 |        | 7    | 6    | 5    | 5    |      |      |      |
| 19 |        | 2    | 3    | 3    | 2    | 3    |      |      |
| 20 |        | 7    |      |      |      |      | 4    |      |
| 21 | Female | 4    | 4    | 3    | 3    | 4    | 3    | 4    |
| 22 |        | 3    | 3    | 2    |      | 3    |      | 2    |
| 23 |        | 4    | 7    | 5    | 3    | 2    |      | 2    |
| 24 |        |      | 4    | 5    | 4    | 4    | 3    |      |
| 25 |        | 3    | 5    | 3    | 3    | 4    |      | 4    |
| 26 |        |      | 4    | 3    | 2    | 3    | 2    | 3    |
| 27 |        |      |      | 2    | 2    | 2    | 2    |      |
| 28 |        | 2    | 3    | 2    | 2    | 2    |      |      |
| 29 |        | 2    |      | 2    | 2    |      |      |      |
| 30 |        | 3    | 4    |      |      |      |      |      |
| 31 |        |      |      | 5    | 4    | 6    |      | 4    |

**Table 5.** Time course variation (1974-1980) of PCB GC pattern in the blood of individual normal persons, the ratio (%) of first peak vs. second peak after p, p'-DDE on the gas chromatogram.

| No | Sex    | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|----|--------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1  | Male   | 31   | 29   | 19   | 24   | 17   | 19   |      |
| 2  |        | 34   | 29   | 27   | 24   | 18   | 29   |      |
| 3  |        | 31   | 23   | 19   | 13   | 13   | 22   |      |
| 4  |        | 34   |      | 24   | 25   | 15   | 17   |      |
| 5  |        | 53   |      | 54   | 50   | 39   | 38   |      |
| 6  |        | 36   | 32   | 21   | 23   | 20   | 29   |      |
| 7  |        | 34   | 36   | 26   | 25   | 20   |      | 15   |
| 8  |        | 52   |      |      |      | 26   |      |      |
| 9  |        | 33   |      | 20   | 14   |      |      |      |
| 10 |        | 39   |      |      |      |      | 26   |      |
| 11 |        |      |      | 33   | 30   |      |      | 26   |
| 12 |        | 30   | 27   |      |      | 17   |      |      |
| 13 |        | 54   | 57   | 48   | 40   | 31   |      |      |
| 14 |        | 41   | 33   | 29   | 25   | 22   |      |      |
| 15 |        | 51   | 53   | 42   | 43   |      |      | 30   |
| 16 |        | 55   | 52   | 41   | 44   | 31   | 31   |      |
| 17 |        |      | 45   | 51   | 47   | 37   | 47   |      |
| 18 |        | 98   | 103  | 80   | 82   |      |      |      |
| 19 |        | 43   | 43   |      | 31   | 23   |      |      |
| 20 |        | 48   |      |      |      |      | 37   |      |
| 21 | Female | 49   | 45   | 30   | 27   | 23   | 25   | 19   |
| 22 |        | 71   | 70   | 55   |      | 40   |      | 38   |
| 23 |        | 58   | 70   | 51   | 42   | 31   |      | 39   |
| 24 |        |      | 71   | 58   | 59   | 42   | 48   |      |
| 25 |        | 67   | 65   | 47   | 48   | 36   |      | 34   |
| 26 |        |      | 62   | 47   | 44   | 34   | 34   |      |
| 27 |        |      |      | 53   | 57   | 36   | 41   | 26   |
| 28 |        | 70   | 73   | 51   | 48   | 35   |      |      |
| 29 |        | 60   |      | 47   | 42   | 30   |      |      |
| 30 |        | 78   | 79   |      |      |      |      |      |
| 31 |        |      |      | 52   | 50   | 38   |      | 43   |

**Table 6.** Time course variation (1974-1980) of PCB GC pattern in the blood of individual normal persons, the ratio (%) of 5th peak vs. second peak after p,p'-DDE on the gas chromatogram

| No | Sex    | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | 1979 | 1980 |
|----|--------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1  | Male   | 17   | 20   | 15   | 19   | 18   | 16   |      |
| 2  |        | 13   | 13   | 12   | 11   | 12   | 14   |      |
| 3  |        | 16   | 15   | 14   | 16   | 16   | 15   |      |
| 4  |        | 15   |      | 15   | 17   | 15   | 11   |      |
| 5  |        | 19   |      | 15   | 18   | 15   | 11   |      |
| 6  |        | 15   | 16   | 11   | 17   | 15   | 11   |      |
| 7  |        | 11   | 13   | 12   | 14   | 13   |      | 10   |
| 8  |        | 18   |      |      |      | 13   |      |      |
| 9  |        | 14   |      | 10   | 12   |      |      |      |
| 10 |        | 15   |      |      |      |      | 11   |      |
| 11 |        |      |      | 12   | 13   | 13   |      | 11   |
| 12 |        | 14   | 10   |      |      | 12   |      |      |
| 13 |        | 12   | 12   | 11   | 12   | 10   |      |      |
| 14 |        | 12   | 15   | 12   | 16   | 12   |      |      |
| 15 |        | 15   | 13   | 11   | 16   |      |      | 10   |
| 16 |        | 12   | 13   | 9    | 14   | 12   | 11   |      |
| 17 |        |      | 12   | 17   | 10   | 11   | 12   |      |
| 18 |        | 12   | 10   | 9    | 14   |      |      |      |
| 19 |        | 12   | 12   |      | 14   | 12   |      | 10   |
| 20 |        | 16   |      |      |      |      | 13   |      |
| 21 | Female | 18   | 31   | 11   | 16   | 16   | 14   | 14   |
| 22 |        | 13   | 12   | 6    |      | 13   |      | 16   |
| 23 |        | 14   | 13   | 12   | 14   | 10   |      | 12   |
| 24 |        |      | 10   | 11   | 12   | 12   | 9    |      |
| 25 |        | 15   | 15   | 11   | 25   | 15   |      | 17   |
| 26 |        |      | 10   | 6    | 10   | 12   | 9    |      |
| 27 |        |      |      | 11   | 14   | 15   | 13   | 14   |
| 28 |        | 18   | 31   | 11   | 16   | 16   |      |      |
| 29 |        | 14   |      | 12   | 14   | 12   |      |      |
| 30 |        | 15   | 25   |      |      |      |      |      |
| 31 |        |      |      | 12   | 14   | 13   |      | 15   |

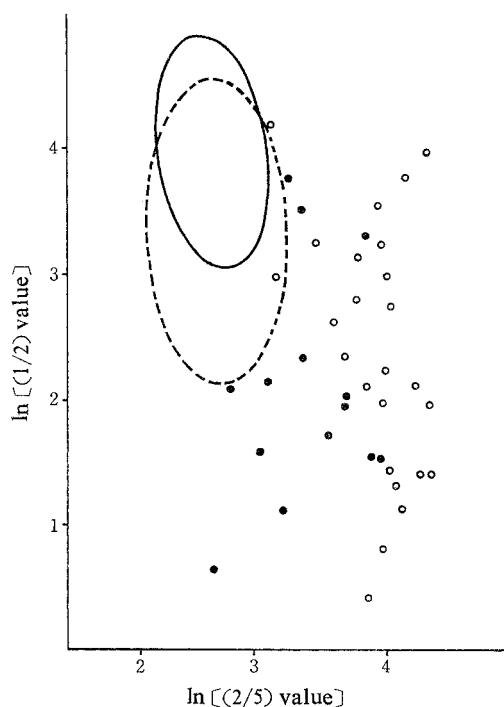


Fig. 4. Distribution of (1/2) value and (5/2) value.  
 (1/2) value: the ratio of first peak vs. second peak after p, p'-DDE on gas chromatogram.  
 (5/2) value: the ratio of 5th peak vs. second peak after p, p'-DDE peak on gas chromatogram.  
 —: area of normal persons in 1974.  
 .....: area of normal persons in 1980.  
 ●: Yusho patients in 1974.  
 ○: Yusho patients in 1980.

られなかった。また、男女間に差はなかった。p, p'-DDE から数えて1番目ピークおよび5番目ピークの2番目ピークに対する相対ピーク高さについて、1974年と1980年分布領域をしらべた。健常者は1974年と比べて1980年は1番目ピークが減少し分布領域が広がっているが、両年度とも油症患者は健常者の分布領域の外に分布していた。

#### 文 献

1) 飯田隆雄, 篠原志郎: ヒト血液中の PCB の性状に関する統計解析について。第22回福岡県公衆

衛生学会, 福岡市 1975年5月。

2) 飯田隆雄, 芥野岑男, 高田 智, 中村周三, 高橋克己, 増田義人: ヒトの血液におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリクアテルフェニルについて。福岡医誌 72: 185-191, 1981。

3) Masuda, Y., Kagawa, R. and Kuratsune, M.: Comparison of polychlorinated biphenyls in Yusho patients and ordinary persons. Bull. Env. Contam. Toxicol. 11: 213-216, 1974.

4) 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。

## 油症 PCB パターンの解析について

大阪府立公衆衛生研究所

榎 本 隆・村 田 弘  
薬師寺 積・田 中 涼 一

### Analysis on the Pattern of PCBs in the Blood of Patients with Yusho

Takashi KASHIMOTO, Hiroshi MURATA, Tsumoru YAKUSHIJI  
and Ryoichi TANAKA

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

A computer programs written in BASIC for the PC-9801 family of computers, which can calculate similarity ratios on the base of component ratios of the blood PCBs in patients with Yusho, was established. This enabled to objectively classify the patterns three classes, so-called "Type A", which is characteristic of the blood PCB pattern in heavy patients, "Type C" which is resemble to that in normal subjects, or "Types B", which is intermediate between the former and the latter, giving a possibility for accurate investigation the pattern change in time course therefore, the method was applied on an examination of the pattern of PCBs in the blood specimen collected in 1983 to 1984 from 70 patients in Osaka Prefecture.

Showing ov-1 gaschromatographic PCB components of peak No. 4, 9, 15 and 20 to important elements on a classification for PCB pattern.

We come to a conclusion that our method is suitable as a standard method for an arrangement of blood PCB patterns.

#### 緒 言

油症患者の血中 PCB 濃度、PCQ 濃度<sup>1)</sup> および PCB ガスクロマトグラムパターン<sup>2)</sup>は、油症原因油の摂取量や症状などと密接に関係しており、油症診断基準<sup>3)</sup>において重要な役割を果たしている。その中で油症の PCB パターンは、現在 A, B, C の 3 つのタイプに分類<sup>3)</sup>されており、A タイプは、油症の特徴的なパターン。C タイプは、一般人と同様なパターン。B タイプは、A と C タイプの中間型とされている。これらの PCB パターンは、毎年相対比較により決められており、特に一般人の C タイプの PCB パターンは、経年的に変化し、A タイプに近づく傾向にある。そこで、われわれは PCB の数値化法<sup>4)</sup>による算出法と類似率による計算法を<sup>5)6)</sup>、パーソナルコンピュータにプログラムして、昭和 57 年度、58 年度に実施した油症患者の血液 70 例の PCB パターンの比較を数

値的に表現し、結果を客観的、自動的に行える方法を考案したので報告する。

#### 対 象 と 方 法

##### 1. 対象

昭和 57 年度、58 年度大阪府下在住油症認定患者 70 名の血液 (57 年度 30 名、58 年度 40 名)

##### 2. 分析法

厚生省 PCB 分析法<sup>7)</sup>に準じた。

##### 3. 分析装置および測定条件

装置は ECD (<sup>63</sup>Ni) 付き Varian 2100 型ガスクロマトグラフィーを使用した。カラムは、2% OV-1, Gaschrom Q 100/120 1.8 m×2 mmφ ガラスカラムを用い、温度は 180°C で行なった。

##### 4. データ解析システムの構成

本体: PC-9801 (NEC)

ディスプレイ: PC-8853 (NEC)

フロッピディスク：PC-8881 (NEC)

プリンタ：PC-PR 201 (NEC)

デジタイザ：GRAPHIC DIGITIZER model/A 4-10 (OSCON) で構成されている。ソフトウェアは BASIC で記述した以下のプログラムで構成されている。

PCB 濃度計算 (PCB 数値化法) プログラム。

PCB パターン類似率プログラム。

## 5. 方法

油症患者の血液を PCB 分析法の公定法に従い前処理した後、試料をガスクロマトグラフィーで分析し、得られたガスクロマトグラムから (図1は、A・B・Cタイプのパターン例である。) デジタイザにより、ピーク高を計測し、生データとする。生データは PCB 濃度計算用プログラムや PCB パターン類似率プログラムで処理される。今回用いた PCB の構成パターン成分は、ガスクロマトグラム上のピーク番号 4・9・15・16・18・19・20・21・22 の9個である。

表1は、昭和57, 58年度に実施した70検体の一部の PCB 構成パターン9成分のデータを表示したものである。これらの数値群を用い、コンピュータで検体間のパターン類似率を計算する。その数が1に近づくほど両者間のパターンは類似していることを示し、類似・非類似が数値で表現できる。

すなわち、類似率の計算は、一般に数値群パターン A ( $a_1, a_2, \dots, a_n$ ) とパターン B ( $b_1, b_2, \dots, b_n$ ) との間のパターン類似率を  $S(A, B)$  とすると、ベクトルの内積の公式より、 $(OA, OB) = |OA| |OB| \cos \theta = \sum_{i=1}^n a_i b_i$  から

$$S(A, B) = \cos \theta = (OA, OB) / |OA| |OB| = \sum_{i=1}^n a_i b_i / (\sum_{i=1}^n a_i^2 \cdot \sum_{i=1}^n b_i^2)^{1/2}$$

で表わされる。パターン類似率は、パターンを全く同じ場合、 $\theta=0$  従って  $S(A, B) = \cos 0^\circ = 1$ 、また全く異なるときは、 $\theta=90^\circ$ 、 $S(A, B) = \cos 90^\circ = 0$  となる。またパターンが似ているほど、パターン類似率は1に近い数値、例えば0.999となる。

今回の油症患者の血中 PCB パターンの場合、主として OV-1 でピーク番号4, 9, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22の9個に代表されるので、これらの成分組成をデータとして、類似率の式にあてはめてみた。表1から試料1と試料2の類似率を求めるには、次のようになる。

類似率  $S$  (試料1, 試料2) =  $\{(3.37 \times 1.79) + (4.25 \times 1.94) + (3.72 \times 3.48) + (28.22 \times 29.22) + (17.84 \times 20.11) + (10.62 \times 9.30) + (12.10 \times 12.25) + (14.84 \times$

$15.46) + (5.04 \times 6.45)\} / \{(3.37^2 + 4.25^2 + 3.72^2 + 28.22^2 + 17.84^2 + 10.62^2 + 12.10^2 + 14.84^2 + 5.04^2)^{1/2} \cdot (1.79^2 + 1.94^2 + 3.48^2 + 29.22^2 + 20.11^2 + 9.30^2 + 12.25^2 + 15.46^2 + 6.45^2)^{1/2}\} = 0.995$  となる。このような類似率の計算および PCB 濃度計算はすべてプログラムによって行われる。従ってガスクロマトグラム以後の操作は、迅速に処理される。

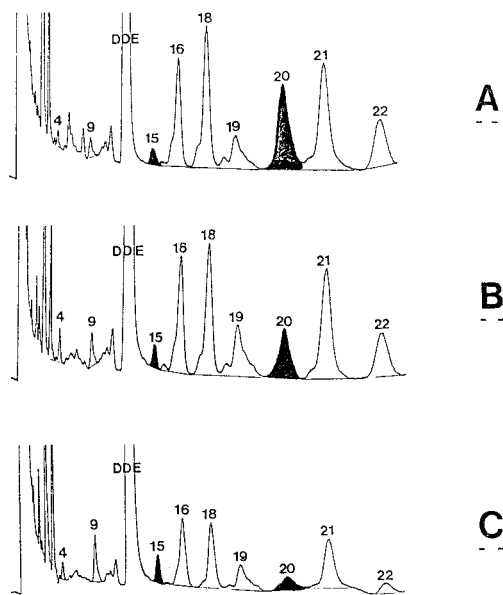


図1 油症患者の血中 PCB パターン例

## 結果および考察

表2は昭和57, 58年度に実施した油症患者の血中 PCB ガスクロマトグラム70例の一部を処理したパターン類似率表を示したものである。

行と列の1~30の数値は、試料番号で、表の行と列とが交わるところに両者間のパターン類似率の数値が記載されている。例えば、油症患者の試料1が他の油症患者のどの試料番号とパターンが似ているか調べる場合、検体番号1の列を上から下へ見ていくことにより、試料番号4とのパターン類似率が0.998で最もよく似ていることを数量的に知ることができる。そして試料1はAタイプと思われるので、当然試料4もAタイプであると判断される。その他の試料についても同様にしてパターンが類似なものや非類似なものを選び出すことができる。つまりAタイプの基準さえ作成されていれば、その標準となるものと対象のサンプルのパターン類似率の数値を根拠にして分類が可能となる。

表 1 油症患者の血中 PCB 各ピーク成分組成率 (%)

| ピーク番号 |    |       |       |       |       |       |       |       |       |      |  |
|-------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|--|
| 試料番号  |    | 4     | 9     | 15    | 16    | 18    | 19    | 20    | 21    | 22   |  |
|       |    | 3.37  | 4.25  | 3.72  | 28.22 | 17.84 | 10.62 | 12.10 | 14.84 | 5.04 |  |
| 1     | 2  | 1.79  | 1.94  | 3.48  | 29.22 | 20.11 | 9.30  | 12.25 | 15.46 | 6.45 |  |
| 2     | 3  | 6.15  | 2.92  | 5.10  | 29.90 | 17.60 | 10.00 | 8.78  | 15.44 | 4.12 |  |
| 3     | 4  | 2.78  | 3.28  | 2.90  | 28.77 | 19.41 | 11.32 | 12.03 | 13.78 | 5.65 |  |
| 4     | 5  | 4.99  | 12.84 | 15.55 | 28.22 | 18.39 | 4.98  | 4.74  | 8.15  | 2.34 |  |
| 5     | 6  | 4.21  | 8.50  | 15.24 | 29.08 | 17.90 | 7.57  | 5.64  | 9.75  | 2.12 |  |
| 6     | 7  | 5.63  | 11.80 | 9.96  | 27.03 | 18.62 | 9.12  | 4.77  | 9.72  | 3.35 |  |
| 7     | 8  | 9.98  | 13.86 | 15.78 | 26.74 | 16.12 | 6.03  | 1.83  | 7.80  | 1.86 |  |
| 8     | 9  | 3.78  | 2.74  | 2.53  | 26.16 | 19.63 | 7.31  | 18.43 | 12.39 | 6.83 |  |
| 9     | 10 | 10.87 | 4.21  | 4.39  | 24.72 | 18.78 | 6.68  | 15.27 | 10.57 | 4.49 |  |
| 10    | 11 | 3.30  | 1.84  | 1.39  | 22.95 | 19.42 | 3.93  | 24.26 | 14.76 | 8.16 |  |
| 11    | 12 | 10.95 | 10.44 | 14.25 | 26.37 | 15.98 | 6.03  | 4.96  | 8.48  | 2.52 |  |
| 12    | 13 | 8.09  | 3.99  | 8.79  | 33.22 | 23.16 | 3.18  | 9.04  | 5.99  | 4.53 |  |
| 13    | 14 | 5.44  | 21.57 | 8.54  | 24.20 | 15.48 | 6.95  | 5.64  | 9.05  | 3.13 |  |
| 14    | 15 | 17.24 | 2.61  | 3.35  | 22.31 | 16.74 | 6.16  | 14.90 | 11.90 | 4.80 |  |
| 15    | 16 | 15.96 | 9.91  | 7.17  | 21.99 | 14.85 | 7.07  | 9.34  | 9.71  | 3.99 |  |
| 16    | 17 | 5.77  | 3.21  | 3.12  | 30.73 | 17.45 | 10.54 | 11.66 | 14.48 | 5.04 |  |
| 17    | 18 | 5.36  | 3.68  | 5.21  | 27.87 | 16.77 | 9.51  | 11.53 | 14.86 | 5.21 |  |
| 18    | 19 | 7.76  | 5.71  | 5.29  | 28.45 | 14.78 | 9.19  | 9.63  | 13.93 | 5.27 |  |
| 19    | 20 | 3.21  | 2.37  | 1.87  | 27.94 | 18.41 | 8.39  | 16.49 | 14.15 | 7.16 |  |
| 20    | 21 | 5.63  | 13.80 | 13.98 | 26.92 | 14.77 | 8.03  | 4.58  | 9.81  | 2.46 |  |
| 21    | 22 | 2.71  | 8.68  | 6.05  | 24.86 | 16.00 | 10.47 | 12.50 | 13.45 | 5.28 |  |
| 22    | 23 | 4.17  | 5.77  | 4.52  | 29.84 | 17.70 | 11.04 | 9.42  | 12.82 | 4.71 |  |
| 23    | 24 | 4.48  | 6.07  | 3.65  | 28.79 | 18.91 | 9.41  | 12.45 | 12.65 | 4.59 |  |
| 24    | 25 | 2.71  | 4.28  | 3.40  | 27.64 | 15.73 | 12.05 | 10.26 | 17.73 | 6.21 |  |
| 25    | 26 | 6.35  | 3.98  | 4.00  | 27.73 | 18.34 | 9.89  | 10.71 | 14.07 | 4.95 |  |
| 26    | 27 | 4.16  | 2.70  | 3.44  | 28.83 | 15.54 | 14.67 | 7.73  | 17.35 | 3.38 |  |
| 27    | 28 | 7.76  | 14.39 | 7.15  | 21.14 | 12.33 | 6.64  | 13.36 | 9.96  | 5.28 |  |
| 28    | 29 | 11.28 | 9.85  | 10.33 | 27.13 | 16.13 | 8.25  | 7.79  | 6.90  | 3.34 |  |
| 29    | 30 | 4.86  | 2.12  | 3.02  | 28.71 | 18.42 | 8.31  | 13.13 | 15.14 | 6.30 |  |

また、経年的なパターンの変動を科学的数値によって追跡した解析を行なうことも可能となる。表 3 は、57、58 年度の同一人のデータ 24 例が、典型的 A パターンである試料（試料番号 1）を基準にして、類似率の経年変化を調べたものである。表より変化が認められるものも少数例があるが、類似率が 0.990 以上の数値を持つものは、変動がほとんどないことがわかる。このように典型的油症患者の標準を定めれば、同一人の経年変化も数値で表現できたことになる。

今後の経年的変化の経移をみて更に明白になるものと考え。

次に表 4 は、油症患者と一般人の PCB パターンの相違に特に関与しているピーク成分を求めるための要因解析をしたものである。すなわち、パターン構成成分のピークを順次減らしていくことによりパターン類似率がどう変化するか調べたものである。

A タイプ（試料番号 2）と C タイプ（試料番号 8）の元の類似率は、0.831 と低い数値であるが、1 つの成分ピークを除いただけでは類似率はそれほど高くはない。つまり A タイプと C タイプは特定の 1 つの要因によってパターンが違ってくるのではなくて多くの要因によってパターン類似率が低くなっているものと判断できる。事実、ピーク 4、9、15、20 を除いた場合が 0.997 とかなり A タイプ、C タイプが類似している。このように、ピーク 4、9、15、20 の成分が油症患者の PCB パターンを特徴づけることが確認できたわけであるが、現在のところ PCB 残留成分の個体差や微量分析上の誤差を考慮すると、9 個の PCB 残留成分全てのパターン類似率の解析が好ましいと考える。

パターン類似率は、パターンがどの程度似ているかを表す数値であるが、パターン間の距離がどの程度あるか数値で表わす場合は、パターン類似率  $S(A, B) = \cos \theta$  よりパターン類似率が  $\cos \theta$  で与えられるので  $\theta$  そのものの数値がパターン間距離となる。例えば、試料 1 と試料 8 の類似率  $S(1, 8) = \cos \theta = 0.856$  であるが、このパターン間距離  $\theta = \arccos(0.856) = 0.54$  となる。図 2 は、このようにしてすべての類似率の数値  $x$  を  $\arccos(x)$  でパターン間距離としては平面上に配置したものである。手順としては、類似率の最も低い試料 8 と試料 11 のパターン類似率が 0.704 であり、この間が最もパターン間距離がある。

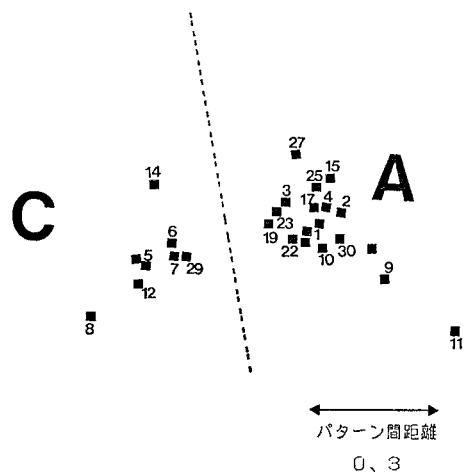


図 2 油症 PCB パターン相互分布図 (57 年度, 30 例)

パターン間距離  $= \cos^{-1}(\text{パターン類似率})$

表 2 油症患者の血中 PCB パターン類似率表  
試 料 番 号

|    | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    | 13    | 14    | 15    | 16    | 17    | 18    | 19    | 20    | 21    | 22    | 23    | 24    | 25    | 26    | 27    | 28    | 29    | 30 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
| 1  | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 2  | 0.995 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 3  | 0.992 | 0.987 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 4  | 0.998 | 0.997 | 0.989 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 5  | 0.895 | 0.880 | 0.910 | 0.887 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 6  | 0.929 | 0.917 | 0.944 | 0.922 | 0.991 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 7  | 0.942 | 0.925 | 0.951 | 0.937 | 0.984 | 0.985 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 8  | 0.856 | 0.831 | 0.884 | 0.844 | 0.887 | 0.881 | 0.892 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 9  | 0.979 | 0.982 | 0.957 | 0.980 | 0.850 | 0.881 | 0.907 | 0.922 | 0.864 | 0.977 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 10 | 0.965 | 0.957 | 0.961 | 0.962 | 0.887 | 0.907 | 0.922 | 0.864 | 0.904 | 0.982 | 0.977 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 11 | 0.931 | 0.933 | 0.896 | 0.929 | 0.769 | 0.800 | 0.809 | 0.704 | 0.809 | 0.982 | 0.945 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 12 | 0.886 | 0.875 | 0.921 | 0.885 | 0.985 | 0.981 | 0.978 | 0.992 | 0.852 | 0.914 | 0.772 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 13 | 0.935 | 0.937 | 0.948 | 0.938 | 0.945 | 0.955 | 0.950 | 0.916 | 0.927 | 0.952 | 0.861 | 0.946 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 14 | 0.884 | 0.832 | 0.861 | 0.850 | 0.953 | 0.974 | 0.961 | 0.951 | 0.815 | 0.853 | 0.742 | 0.937 | 0.865 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 15 | 0.917 | 0.903 | 0.924 | 0.910 | 0.826 | 0.847 | 0.868 | 0.895 | 0.932 | 0.981 | 0.903 | 0.884 | 0.905 | 0.796 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 16 | 0.906 | 0.878 | 0.921 | 0.894 | 0.914 | 0.912 | 0.939 | 0.931 | 0.887 | 0.958 | 0.833 | 0.960 | 0.917 | 0.910 | 0.943 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 17 | 0.998 | 0.994 | 0.984 | 0.997 | 0.991 | 0.927 | 0.937 | 0.953 | 0.974 | 0.962 | 0.921 | 0.894 | 0.941 | 0.852 | 0.914 | 0.901 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 18 | 0.997 | 0.992 | 0.996 | 0.993 | 0.906 | 0.939 | 0.947 | 0.974 | 0.976 | 0.973 | 0.927 | 0.915 | 0.944 | 0.866 | 0.924 | 0.925 | 0.992 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 19 | 0.987 | 0.975 | 0.993 | 0.981 | 0.921 | 0.946 | 0.969 | 0.904 | 0.956 | 0.970 | 0.893 | 0.939 | 0.947 | 0.892 | 0.929 | 0.949 | 0.988 | 0.994 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 20 | 0.989 | 0.992 | 0.972 | 0.990 | 0.853 | 0.888 | 0.900 | 0.902 | 0.996 | 0.970 | 0.970 | 0.855 | 0.925 | 0.818 | 0.975 | 0.884 | 0.988 | 0.986 | 0.969 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 21 | 0.905 | 0.880 | 0.918 | 0.892 | 0.991 | 0.986 | 0.988 | 0.988 | 0.847 | 0.885 | 0.762 | 0.965 | 0.920 | 0.812 | 0.927 | 0.899 | 0.915 | 0.936 | 0.855 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 22 | 0.988 | 0.976 | 0.973 | 0.982 | 0.922 | 0.943 | 0.959 | 0.886 | 0.927 | 0.957 | 0.921 | 0.917 | 0.921 | 0.921 | 0.903 | 0.921 | 0.980 | 0.986 | 0.981 | 0.973 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 23 | 0.995 | 0.987 | 0.984 | 0.993 | 0.923 | 0.951 | 0.965 | 0.893 | 0.961 | 0.959 | 0.896 | 0.924 | 0.951 | 0.892 | 0.909 | 0.920 | 0.995 | 0.993 | 0.992 | 0.974 | 0.932 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |       |    |
| 24 | 0.995 | 0.990 | 0.988 | 0.994 | 0.916 | 0.959 | 0.953 | 0.878 | 0.982 | 0.977 | 0.933 | 0.916 | 0.957 | 0.888 | 0.928 | 0.925 | 0.994 | 0.994 | 0.988 | 0.987 | 0.919 | 0.988 | 1.000 |       |       |       |       |       |       |    |
| 25 | 0.974 | 0.988 | 0.988 | 0.990 | 0.875 | 0.913 | 0.929 | 0.840 | 0.959 | 0.940 | 0.908 | 0.878 | 0.902 | 0.852 | 0.895 | 0.868 | 0.991 | 0.991 | 0.983 | 0.977 | 0.895 | 0.982 | 0.986 | 1.000 |       |       |       |       |       |    |
| 26 | 0.996 | 0.996 | 0.976 | 0.994 | 0.906 | 0.936 | 0.951 | 0.877 | 0.974 | 0.977 | 0.971 | 0.917 | 0.917 | 0.870 | 0.940 | 0.932 | 0.995 | 0.998 | 0.993 | 0.973 | 0.963 | 0.913 | 0.982 | 0.995 | 1.000 |       |       |       |       |    |
| 27 | 0.985 | 0.977 | 0.988 | 0.982 | 0.846 | 0.910 | 0.926 | 0.841 | 0.936 | 0.976 | 0.870 | 0.878 | 0.895 | 0.835 | 0.887 | 0.884 | 0.964 | 0.964 | 0.979 | 0.958 | 0.983 | 0.984 | 0.984 | 1.000 |       |       |       |       |       |    |
| 28 | 0.905 | 0.874 | 0.890 | 0.889 | 0.919 | 0.905 | 0.937 | 0.909 | 0.895 | 0.974 | 0.858 | 0.926 | 0.923 | 0.882 | 0.889 | 0.950 | 0.932 | 0.911 | 0.929 | 0.889 | 0.939 | 0.951 | 0.913 | 0.925 | 0.891 | 1.000 |       |       |       |    |
| 29 | 0.931 | 0.910 | 0.947 | 0.925 | 0.817 | 0.971 | 0.979 | 0.969 | 0.900 | 0.953 | 0.823 | 0.789 | 0.764 | 0.929 | 0.924 | 0.978 | 0.931 | 0.945 | 0.964 | 0.901 | 0.970 | 0.942 | 0.954 | 0.949 | 0.909 | 0.864 | 1.000 |       |       |    |
| 30 | 0.995 | 0.996 | 0.990 | 0.994 | 0.878 | 0.913 | 0.923 | 0.837 | 0.987 | 0.974 | 0.948 | 0.886 | 0.942 | 0.835 | 0.934 | 0.905 | 0.995 | 0.996 | 0.984 | 0.995 | 0.992 | 0.986 | 0.992 | 0.986 | 0.995 | 0.975 | 0.891 | 0.923 | 1.000 |    |

表3 油症患者（同一人）の類似率による年次変化

| 例数 | 57 年 度 | 58 年 度 |
|----|--------|--------|
| 1  | 0.864  | 0.902  |
| 2  | 0.895  | 0.875  |
| 3  | 0.942  | 0.968  |
| 4  | 0.931  | 0.902  |
| 5  | 0.997  | 0.990  |
| 6  | 0.965  | 0.964  |
| 7  | 0.979  | 0.927  |
| 8  | 0.995  | 0.993  |
| 9  | 0.987  | 0.988  |
| 10 | 0.905  | 0.906  |
| 11 | 0.988  | 0.972  |
| 12 | 0.996  | 0.981  |
| 13 | 0.985  | 0.986  |
| 14 | 0.989  | 0.983  |
| 15 | 0.995  | 0.991  |
| 16 | 0.995  | 0.992  |
| 17 | 0.998  | 0.993  |
| 18 | 0.905  | 0.937  |
| 19 | 0.995  | 0.998  |
| 20 | 0.992  | 0.995  |
| 21 | 0.935  | 0.933  |
| 22 | 0.995  | 0.975  |
| 23 | 0.906  | 0.942  |
| 24 | 0.917  | 0.942  |

(注) 典型的Aタイプの試料を1.000とした。

(0.79) これをベースにして実際は10倍した7.9cmの間隔をとり、次に試料1から順に、つまり試料1と試料8のパターン間距離(0.54)、試料1と試料11のパターン間距離(0.37)を求め、試料8から5.4cmで、試料11から3.7cmで交わる点を1とし、このような方法で57年度の試料30例すべてを配置した図である。この方法により、全体の相互関係を示すことが可能となる。いま、油症の典型的なAタイプ、一般人と同じCタイプの2つのグループに分類する場合は、図中の点線で分類される。また同じAタイプでもパターン間距離の近いものは、非常によく似ていることも判断できる。

以上、パターン類似率を中心に解析を試みたが、油

表4 AタイプとCタイプの要因解析

| 除いた項目            | 類 似 率 |
|------------------|-------|
| ピーク 4            | 0.847 |
| ピーク 9            | 0.869 |
| ピーク 15           | 0.871 |
| ピーク 16           | 0.688 |
| ピーク 18           | 0.794 |
| ピーク 19           | 0.827 |
| ピーク 20           | 0.855 |
| ピーク 21           | 0.832 |
| ピーク 22           | 0.834 |
| ピーク 4, 9         | 0.890 |
| ピーク 15, 16       | 0.746 |
| ピーク 15, 20       | 0.896 |
| ピーク 4, 9, 15, 20 | 0.977 |
| 元の類似率(全ピーク含む)    | 0.831 |

症認定基準に重要な位置を占める PCB パターンの解析に、PCB 数値化法とパターン類似率を採用することにより、各府県間のA, B, C判定の統一化に寄与でき、パターンの経年的な変化の追跡も数値的な表現で行なうことが可能になり、パターンの将来予測の解析ができるものと考ええる。

#### 文 献

- 1) 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: 198-204, 1981.
- 2) 厚生省環境衛生局 PCB 研究班: 昭和46年度科学技術特別研究促進調整費による研究成果報告. 食品衛生研究 22: 24-249, 1972.
- 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) 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: 192-197, 1981.
- 5) 田村真八郎: 食品の鑑別とパターン類似率, 化学と生物 17: 34-39, 1979.
- 6) 田村真八郎: 分析値のパターンの取り扱い. ぶんせき 6: 379-387, 1978.
- 7) 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, 1973.
- 8) 占部治邦: 序言. 福岡医誌 65: 1-4, 1974.

## 最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール異性体

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人・山 口 早 苗  
黒 木 広 明・原 口 浩 一

### Polychlorinated Biphenyl Isomers in the Blood of Recent Yusho Patients

Yoshito MASUDA, Sanae YAMAGUCHI, Hiroaki KUROKI  
and Koichi HARAGUCHI

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

The blood of Yusho patients sampled in 1983 and 1984 were analyzed for 7 polychlorinated biphenyl (PCB) isomers by gas chromatography with a fused-silica capillary column. The concentrations of 2,4,5,3',4'-penta-CB and 2,3,4,3',4'-penta-CB in the blood were on similar levels in Yusho patients and normal persons, while the levels of other PCB isomers, especially 2,3,4,5,3',4'-hexa-CB, were significantly higher in the blood of Yusho patients than in that of normal persons. The characteristic pattern of PCB gas chromatogram was still observed in the blood of Yusho patients 15 years after the onset.

1968年西日本一帯で油症が起こり、その原因はライスオイルに混入されたポリ塩化ビフェニール(PCB)、ポリ塩化ベンゾフラン及びポリ塩化クォーターフェニルを摂取したためとされている<sup>4)5)6)</sup>。油症患者の血液中 PCB は事件後5年を経過した1973年においても検出され、その濃度は平均値で7ppb程度であり、一般人の血中濃度(平均値3ppb)よりも高かったが、大きな濃度差は認められなかった<sup>3)</sup>。しかし、血液中 PCB のガスクロマトグラムパターンは油症患者と一般人とは明らかに異なり、PCB の異性体ごとの血中濃度の割合が異なることが示された。特に、油症患者においては、一般人よりも2,4,5,3',4'-penta-CB の濃度が低く、2,3,4,5,3',4'-hexa-CB の濃度が高いのが特徴的であった<sup>1)</sup>。これらの血液中 PCB の状態が、油症発生後15年以上経過した現在においても持続されているか検討した。最近、ガスクロマトグラフに分離能が非常に良く、取扱いが容易な溶融シリカのキャピラリーカラムが用いられるようになったので、これを使用して油症患者の血中 PCB の分析をした。その結果を報告する。

#### 研 究 材 料

##### 1. 血液

###### (1) 油症患者血液

1983年及び1984年に油症一斉検診を受けた油症認定患者それぞれ18名及び26名より採血された血液約10gを用いた。患者血液の PCB パターン<sup>3)</sup>は、1983年に採取した血液ではAパターン16名、bパターン2名、1984年に採取した血液ではAパターン24名、Bパターン2名であった。

###### (2) 一般人血液

産婦人科病院において、1983年に出産時に妊婦より採血された血液約10gを用いた。

##### 2. 試薬及び溶媒

PCB 標準物質は当教室で合成したもの又は Analabs 社(米国)より購入したものを使用した<sup>1)</sup>。エタノール、n-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム及びシリカゲルはいずれも PCB 分析用のものを用いた。

##### 3. 装置

島津 GC-7AG 型ガスクロマトグラフに電子捕獲型検出器(<sup>63</sup>Ni)を装着したものを使用した。カラムは

ULBON HR-54 (島津) 0.24 mm×50 m, キャリアーガスは 99.999 %, 高純度窒素を用いた。ガス流量は試料注入口 26 ml/min, カラム内 1.5 ml/min, 検出器 30 ml/min とした。温度は 180° で最初 4 分間, 16°/分で 280° まで昇温, その後 280° で一定に保持した。試料の注入は, ムービングニードル形ソルベントカット試料装置 (島津) を用いて行なった。

### 分 析 方 法

試料の前処理は前報<sup>2)</sup>と同様に行った。血液約 10g を秤量し試験管にとり, これにエタノール 5 ml 及び水酸化ナトリウム 1 g を加え, よく振り混ぜて, 70° で 3 時間加熱した。冷後 n-ヘキサン 5 ml で 2 回抽出した。n-ヘキサン層を集めて水洗し, 無水硫酸ナトリウムで乾燥したのち, 活性化したシリカゲル (ワコーゲル S-1) 0.5 g のカラムクロマトグラフィーにかけた。カラムは n-ヘキサン 25 ml で溶出させ, 溶出液をスニードーカラム付試験管で濃縮した。濃縮 n-ヘキサン溶液に, 内部標準物質として 2, 3, 4, 5, 6, 2', 5'-hespta-CB を 0.5 ng 添加し, ガスクロマトグラフの試料とした。各 PCB 異性体の定量はピーク面積比による内部標準法により行い, クロマトパック C-R2AX (島津) で面積測定及び計算をした。

### 結 果 と 考 察

油症患者及び一般人の血中 PCB のガスクロマトグラムを Fig. 1 に示す。油症患者では, 2, 4, 5, 3', 4'-penta-CB 及び 2, 4, 5, 3', 4'-penta-CB に相当するピーク 1 及びピーク 3 が一般人のそれよりも小さいが, 2, 3, 4, 5, 3', 4', -hexa-CB に相当するピーク 5 が非常に大きい。これは, 油症患者の組織中 PCB が特有のガスクロマトグラムパターンを示すと報告<sup>3)</sup>した内容と同じ PCB 組成の状態を示すものである。

油症患者及び一般人の血中 PCB の内, 7 つの主な PCB 異性体について定量分析した結果を Table 1 にまとめた。2, 4, 5, 3', 4'-penta-CB 及び 2, 3, 4, 3', 4'-penta-CB の血中濃度は油症患者及び一般人の間で差がないが, 他の定量された PCB 異性体では, 油症患者の血中濃度が一般人のそれよりも有意に高い。とりわけ, 2, 3, 4, 5, 3', 4'-hepta-CB の両者における濃度差が大きい。油症患者の血中 PCB 濃度が一般人よりも高い要因の主なものは, これら PCB 異性体の濃度差によるものと考えられる。1975 年及び 1976 年に採血した油症患者の血液中 PCB 分析データ<sup>1)</sup>と比較すると, 今回の油症患者の結果では,

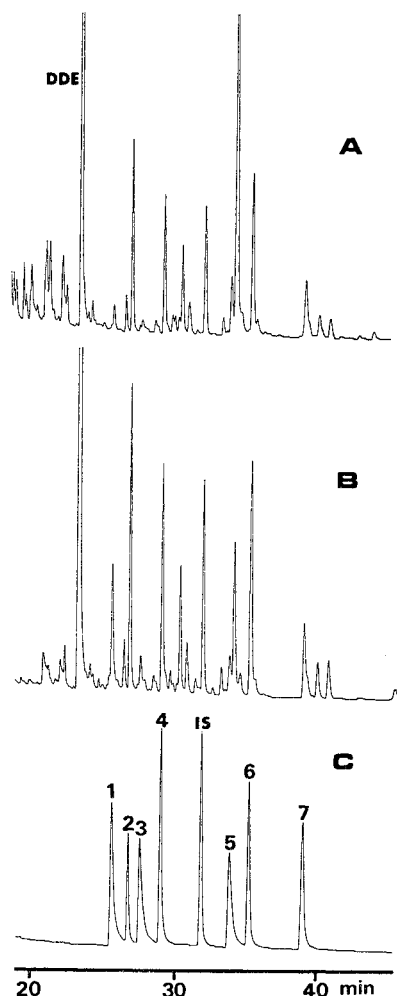


Fig. 1. Gas chromatograms of blood PCBs from Yusho patient (A), normal person (B) and authentic compounds (C).

- 1 : 2, 4, 5, 3', 4'-Penta-CB
- 2 : 2, 4, 5, 2', 4', 5'-Hexa-CB
- 3 : 2, 4, 5, 3', 4'-Penta-CB
- 4 : 2, 3, 4, 2', 4', 5'-Hexa-CB
- 5 : 2, 3, 4, 5, 3', 4'-Hexa-CB
- 6 : 2, 3, 4, 5, 2', 4', 5'-Hepta-CB
- 7 : 2, 3, 4, 5, 2', 3', 4'-Hepta-CB
- IS : 2, 3, 4, 5, 6, 2', 5'-Hepta-CB (Internal standard)

2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexa-CB 及び 2, 3, 4, 5, 3', 4'-hexa-CB の濃度が高くなっているのが目立つ。2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexa-CB は一般人血液中の濃度も高くなっているため, 油症患者/一般人の濃度割合はあまり変わらないが, 2, 3, 4, 5, 3', 4'-hexa-CB の両者の濃度割合は大きくなっている。これは, 今回採血した患者に

Table 1 Concentrations of PCB isomers in the blood of Yusho patients

| PCB isomer                      | Control<br>1983<br>N=27<br>Female 27 | Yusho                                            |                                                  | Ratio               |                     |
|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------|---------------------|
|                                 |                                      | 1983<br>N=18<br>(Male 7)<br>(Female 11)          | 1984<br>N=26<br>(Male 10)<br>(Female 16)         | Yusho'83<br>Control | Yusho'84<br>Control |
| 2, 4, 5, 3', 4'-Penta-CB        | 71 ± 95                              | 55 ± 44<br>(41 ± 33)<br>(64 ± 50)                | 70 ± 29<br>(64 ± 23)<br>(75 ± 33)                | 0.77                | 0.99                |
| 2, 4, 5, 2', 4', 5'-Hexa-CB     | 348 ± 430                            | 1086 ± 678*<br>(865 ± 432*)<br>(1230 ± 784*)     | 1240 ± 915*<br>(999 ± 636*)<br>(1390 ± 1040*)    | 3.12                | 3.56                |
| 2, 3, 4, 3', 4'-Penta-CB        | 27 ± 35                              | 38 ± 26<br>(39 ± 30)<br>(38 ± 25)                | 33 ± 17<br>(30 ± 17)<br>(35 ± 17)                | 1.41                | 1.22                |
| 2, 3, 4, 2', 4', 5'-Hexa-CB     | 130 ± 160                            | 522 ± 294*<br>(397 ± 249*)<br>(602 ± 303*)       | 878 ± 761*<br>(667 ± 451*)<br>(1010 ± 892*)      | 4.02                | 6.75                |
| 2, 3, 4, 5, 3', 4'-Hexa-CB      | 50 ± 33                              | 836 ± 343*<br>(751 ± 355*)<br>(891 ± 341*)       | 427 ± 330*<br>(345 ± 202*)<br>(478 ± 387*)       | 16.7                | 8.54                |
| 2, 3, 4, 5, 2', 4', 5'-Hepta-CB | 91 ± 124                             | 311 ± 239*<br>(264 ± 105*)<br>(341 ± 296*)       | 336 ± 244*<br>(299 ± 174*)<br>(361 ± 283*)       | 3.42                | 3.69                |
| 2, 3, 4, 5, 2', 3', 4'-Hepta-CB | 45 ± 55                              | 198 ± 142*<br>(150 ± 73*)<br>(229 ± 169*)        | 491 ± 428*<br>(377 ± 246*)<br>(564 ± 506*)       | 4.40                | 10.9                |
| Total                           | 763 ± 922                            | 3080 ± 1440*<br>(2590 ± 1200*)<br>(3390 ± 1550*) | 3480 ± 2570*<br>(2780 ± 1680*)<br>(3910 ± 2970*) | 4.04                | 4.56                |

Values are mean ± SD ppt.

\* Significantly different from control value ( $p < 0.01$ )

は非常に重症の者が多く含まれていたのが一つの要因と考えられるが、油症発生後15年経過した現在でも、油症患者に特定の PCB 異性体の濃度が高いこと、すなわち、油症特有の PCB パターンが維持されていることを示している。

#### 総 括

油症発生後15年経過した1983年及び1984年に、油症患者及び一般人より採取した血液中の7つの PCB 異性体を、分離能が良い溶融シリカキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフ分析法により分析した。

1) 2, 4, 5, 3', 4'-Penta-CB 及び 2, 3, 4, 3', 4'-penta-CB の血中濃度は、油症患者及び一般人の間で差がないが、他の PCB 異性体では油症患者の方が一般人よりも有意に高かった。

2) 2, 3, 4, 5, 3', 4'-hexa-CB の油症患者における血中濃度が、一般人のそれより特に高かった。

3) 油症患者特有の PCB ガスクロマトパターン

は、15年経過した時点においても維持されている。

#### 文 献

- 1) Kuroki, H. and Masuda, Y.: Structures and concentration of the main components of polychlorinated biphenyle retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 6: 469-474, 1977.
- 2) 増田義人, 香川梨絵, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール. *福岡医誌* 65: 17-24, 1974.
- 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) Miyata, H., Murakami, Y. and Kashimoto, T.: Investigation of polychlorinated quaterphenyl in kanemi rice oils caused the "Yusho". *J. Food Hyg. Soc.* 19: 233-235, 1978.
- 5) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in kane-chlors and rice oil used by patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 66: 593-599, 1975.
- 6) 油症研究班分析部会: 油症患者が使用したライスオイル中の有毒物質の化学的検索. *福岡医誌* 60: 496-512, 1969.

## 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofuran の酵素誘導作用 及び毒性に及ぼす不純物の影響

第一薬科大学物理分析学教室

黒木 広明・原口 浩一・増田 義人

九州大学薬学部衛生化学裁判化学教室

吉原 新一\*・吉村 英敏

### Effects of Impurities on Enzyme Induction and Toxicity in Rats Treated with 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofuran

Hiroaki KUROKI, Koichi HARAGUCHI  
and Yoshito MASUDA

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

Shin'ichi YOSHIHARA and Hidetoshi YOSHIMURA

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

Impure 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF) (>95%), synthesized by chlorination, was found to contain 1,2,3,7,8-pentachloro-dibenzofuran (Pen-CDF) (2%), 2,3,4,7,8-PenCDF (2%), 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran (HCDF) (0.2%) and 1,2,3,6,7,8-HCDF (0.1%) by capillary column gas chromatography. To determine whether these impurities affect the biological activities of 2,3,7,8-TCDF, the liver of rats treated with pure 2,3,7,8-TCDF or impure 2,3,7,8-TCDF was examined for cytochrome p-450 content, enzyme activities of benzo [a] pyrene 3-hydroxylase, benzphetamine N-demethylase and DT-diaphorase and toxic effects such as hypertrophy of the liver, atrophy of the thymus and was quantitatively analyzed for the individual isomers by capillary column gas chromatography and mass fragmentography. Both pure 2,3,7,8-TCDF and impure 2,3,7,8-TCDF enhanced these enzyme activities and showed such toxic signs. However, there were no decisive differences in the enzyme induction abilities and toxic potencies between the two samples. The liver of rats treated with impure 2,3,7,8-TCDF retained 1,2,3,7,8-PenCDF, 2,3,4,7,8-PenCDF, 1,2,3,4,7,8-HCDF and 1,2,3,6,7,8-HCDF at relatively high levels comparable to that of 2,3,7,8-TCDF, while no other isomers except 2,3,7,8-TCDF were retained in the liver of rats treated with pure 2,3,7,8-TCDF. The impurities may not be disregarded on the effect of biological activities in chronic toxicity test of impure 2,3,7,8-TCDF because of their high accumulation and toxicities.

2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF) は polychlorinated dibenzofuran (PCDF) のなかで、最もよく研究対象とされている異性体の一つであり、吉原ら<sup>1)</sup>によりラットにおいてチトクローム p-448 含量の増大や benzo [a] pyrene 3-水酸化酵素活性

[AHH] 及び DT-diaphorase 活性を顕著に増加させる 3-methylcholanthrene (MC) 型の酵素誘導作用を示す一方、体重の増加抑制、胸線や脾臓の萎縮など強い毒性を示すことが知られている。AHH 誘導や受容体タンパク質との特異的な結合については、Poland<sup>2)</sup> や Bandiera ら<sup>3)</sup> の研究がある。2,3,7,

\* 現在広島大学医学部総合薬学科

8-TCDFの毒性はニワトリ、モルモット、マウス及び赤毛ザルを用いて McKinney<sup>12)</sup>, Goldstein<sup>7)</sup>, Mooreら<sup>14)</sup>により報告されている。また、催奇性<sup>16)</sup>や慢性毒性<sup>13)</sup>に関する報告もある。2,3,7,8-<sup>14</sup>C-TCDFを用いては、ラット<sup>2)</sup>, サル<sup>3)</sup>, モルモット<sup>5)8)</sup>, マウス<sup>4)</sup>における体内分布や排泄について詳細に調べられている。

このような実験に用いられた2,3,7,8-TCDFは大部分が塩素ガスを用いる塩素化反応によつて合成されている。たとえば、benzidine-2,2'-disulfonic acidを出発原料とし、いくつかの反応後得られた3,8-dichlorodibenzofuranを塩素化する方法、あるいは2,3,8-trichlorodibenzofuranやジベンゾフランを塩素化する方法がとられており、不純物として penta-chlorodibenzofuran (PenCDF) の混在<sup>7)12)16)</sup>が指摘されている。また、吉原らにより酵素誘導作用及び毒性評価の一部に用いられた2,3,7,8-TCDF<sup>17)</sup>には微量不純物として PenCDF および hexachlorodibenzofuran (HCDF) が含まれていた。このように2,3,7,8-TCDFの合成にさいして塩素化に伴う不純物の混在はまぬがれ得ない。

PCDF異性体のなかには、2,3,4,7,8-PenCDFや1,2,3,4,7,8-HCDFのように極めて高い肝残留性<sup>11)</sup>を示し、酵素誘導能及び毒性は2,3,7,8-TCDFに匹敵<sup>17)</sup>しうる異性体も存在する。一方、2,3,7,8-TCDFの肝残留性は低い<sup>17)</sup>。従つて、2,3,7,8-TCDFの示す生物活性にそれに含まれるPenCDFやHCDFなどの不純物が関与している可能性も考えられる。そこで2,3,7,8-TCDFが示す酵素誘導作用および毒性に不純物が影響しているか否かを明らかにする目的で、不純物を含む2,3,7,8-TCDFと含まないTCDFをラットに投与し、両者の酵素誘導能及び毒性について比較した。また、ラット肝臓におけるPCDFの残留性についても検討した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

不純物を含まない2,3,7,8-TCDFは3,4-ジクロロフェノールと2,4,5-トリクロロニトロベンゼンから合成し高速液体クロマトグラフにより精製<sup>9)</sup>したものを使用した。不純物を含む2,3,7,8-TCDFとしてはPomerantz博士(Food and Drug Administration, Washington, DC, USA)より提供されたものを用いた。これは塩素化を利用して合成されており、純度は後述のガスクロマトグラフィーによる検討

から95%以上であつた。不純物として1,2,3,7,8-PenCDF(2%), 2,3,4,7,8-PenCDF(2%), 1,2,3,4,7,8-HCDF(0.2%)および1,2,3,6,7,8-HCDF(0.1%)が含まれていた。以後、これらの不純物を含む2,3,7,8-TCDFをimpure 2,3,7,8-TCDFと略記する。

### 2. 実験動物、薬物投与及び肝酵素活性等の測定

生後5週令のWistar系雄性ラット(体重約100g)を一群4匹として対照群、2,3,7,8-TCDF, impure 2,3,7,8-TCDF投与群に分けて使用した。2,3,7,8-TCDF, impure 2,3,7,8-TCDFはコーンオイル溶液として、いずれも1mg/kgを、対照群にはコーンオイルのみを腹腔内に1回投与した。

投与後5日目に屠殺し、肝臓、胸腺、脾臓を摘出し秤量した。肝9000×g上清は既報<sup>18)</sup>に従い調製し、以下この上清を用いて既報<sup>18)</sup>に従いチトクロームp-450量、benzphetamine (BZ) N-脱メチル酵素活性、benzo [a] pyrene (BP) 3-水酸化酵素活性及びDT-diaphorase活性を測定し、酵素誘導を対照群と比較した。毒性の指標としては体重の増加、肝臓、胸腺、脾臓の各重量さらにはFolchらの方法<sup>6)</sup>によつて肝総脂質量を測定した。

### 3. 試料処理方法

肝残留PCDFの分析は肝総脂質量を測定するため調製されたクロロホルム-メタノール溶液を用いて行なつた。すなわち、溶媒を留去後、n-ヘキサン溶液(約10ml)とし、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(ワコーゲルS-1, 1.5g)に付し、n-ヘキサン100mlで溶出した。溶出液を濃縮し、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)

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)を使用し前報<sup>11)</sup>に従つて行なつた。すなわち、GC-5Aのカラムには1.5% OV-17あるいは1.5% Apiezon L(いずれも5m)を用い、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で行なつた。キャリアーガスには窒素ガスを用いた。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, 島津)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で行なつた。キャリアーガス及びメイクアップガスには窒素ガスを使用した。

### 5. ガスクロマトグラフィーによるPCDFの定量

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)

測定には日本電子 DX 300 ガスクロマトグラフィー質量分析計/データ処理システム JMA-DA 5000を使用した。カラムにはフューズドシリカキャピラリーカラム DB 225 (0.252 mm×30 m, J & W 社)を用い、イオン化モードとして試薬ガスにメタンを用いる負イオン化学イオン化法 (NCI) を用いた。キャリアガスにはヘリウムガスを用いた。

四塩化、五塩化及び六塩化体のモニターイオンとして ( $M^+ - Cl + O$ ) イオンを利用した。すなわち四塩化体では  $m/z$  285<sup>+</sup>, 287<sup>+</sup> を、五塩化体では  $m/z$  319<sup>+</sup>, 321<sup>+</sup> を、六塩化体では  $m/z$  353<sup>+</sup>, 355<sup>+</sup> を用いた。試料はソルベントレス試料導入装置を用いて溶媒を自然蒸発させた後、キャピラリーカラムに注入した。測定条件は次の通りである。イオン化室温度: 200°C, メタンガス圧:  $1.5 \times 10^{-5}$  Torr, イオン化エネルギー: 70 eV, イオン化電流: 300  $\mu$ A, キャリアガス流速: 35 ml/min, 注入口温度: 230°C, セパレーター温度: 200°C, インレット温度: 200°C, カラム温度: 170°C で2分間、次いで8°C/分の割合で170°Cから230°Cまで昇温させた。

## 結 果

### 1. 酵素誘導作用と毒性

Fig. 1 に 2,3,7,8-TCDF 及び impure 2,3,7,8-TCDF をそれぞれ 1 mg/kg, 1 回腹腔内投与したと

きの酵素誘導作用及び毒性を示す。これまでの研究結果<sup>17)</sup>と同様に、いずれの投与群においてもチトクローム P-448 含量の増大, BP 3-水酸化酵素活性や DT-diaphorase 活性の著明な増大および BZ N-脱メチル酵素活性の減少など 3-MC 型の酵素誘導作用が認められたが、その誘導能の強さは両者において同程度であつた。

また、毒性に関しても両投与群において、肝脂質の増加を併う肝肥大や胸腺、脾臓の著しい萎縮など強い毒性が認められたものの、その毒性の強さに相違は認められなかった。

### 2. 肝における PCDF の残留

Fig. 2 に impure 2,3,7,8-TCDF を 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。主な不純物は 1,2,3,7,8-PenCDF (2%), 2,3,4,7,8-PenCDF (2%) の五塩化体であり、1,2,3,4,7,8-HCDF (0.2%) 及び 1,2,3,6,7,8-HCDF (0.1%) の六塩化体も含まれていた。2,3,7,8-TCDF あるいは impure 2,3,7,8-TCDF を投与後5日目のラット肝臓に残留する PCDF について同様に分析した結果も合わせて Fig. 2 に示す。Fig. 2 に示すこれらのピークの同定は PCDF 標品の保持時間 ( $t_R$ ) と比較して行なった。またデータは示さなかったが、これらの PCDF 標品との  $t_R$  の一致は 1.5% Apiezon L 及び 1.5% OV-17 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、2,3,7,8-TCDF 及び impure 2,3,7,8-TCDF 投与群における PCDF の

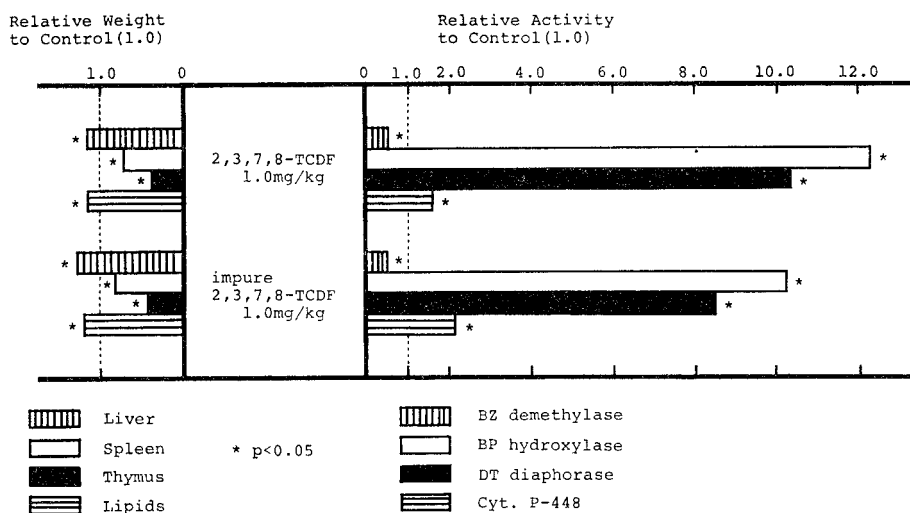


Fig. 1. Effect of pretreatment with 2,3,7,8-TCDF or impure 2,3,7,8-TCDF on liver enzyme activities (right), organ weights and liver lipid content (left) in rats.

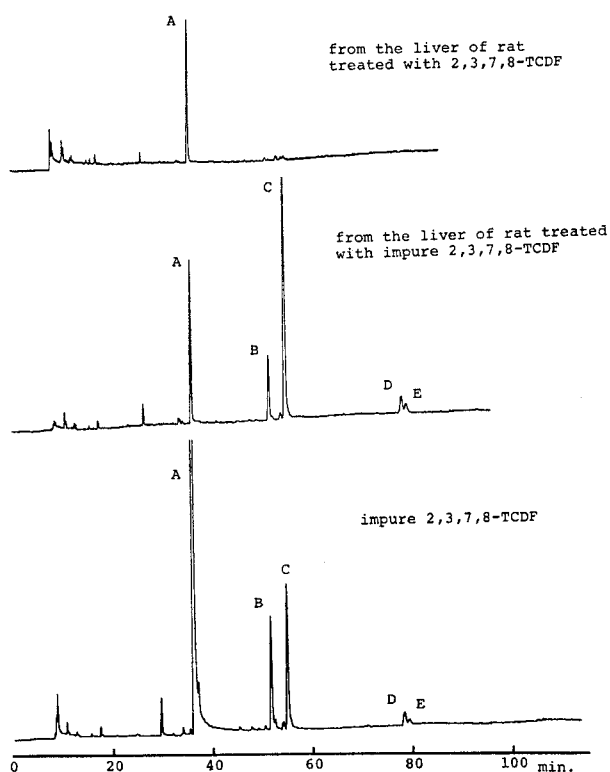


Fig. 2. Gas chromatograms of PCDF on a fused silica capillary column (50 m) coated with OV-101.

Peaks A, B, C, D and E correspond to 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HCDF and 1,2,3,6,7,8-HCDF, respectively.

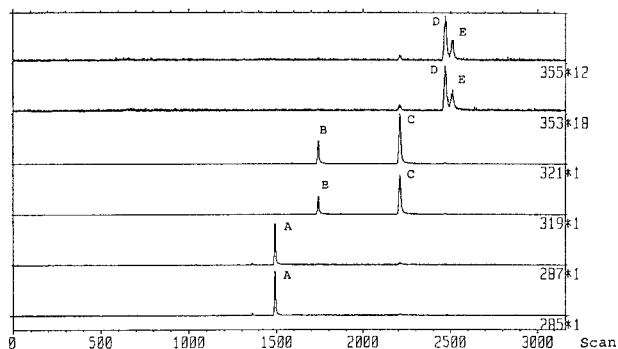


Fig. 3. Mass fragmentograms of PCDF in the liver of rat (F3) treated with impure 2,3,7,8-TCDF on a fused silica capillary column (30 m) coated with DB 225 in NCI mode (methane reagent gas). Peaks identified are the same as shown in Fig. 2.

8-TCDF のみならず不純物である 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HCDF 及び 1,2,3,6,7,8-HCDF のすべての異性体が検出された。しかも 2,3,4,7,8-PeCDF のピークは 2,3,7,8-TCDF のピークより高く、これまでの結果<sup>17)</sup> 同様、この異性体の高い肝残留性がうかがわれた。一方 2,3,7,8-TCDF 投与群からは当然のことながら 2,3,7,8-TCDF のみが検出され、不純物である上記の PCDF 異性体は全く検出されなかった。

impure 2,3,7,8-TCDF 投与群では、ラット肝臓に残留する四塩化、五塩化及び六塩化体についてさらに NCI (メタン) による MF の検討を加えた。モニタリングイオンとして  $M^- - 19$  ( $M^- - Cl + O$ ) イオンを用いた。Fig. 3 に示すように、MF により四塩化、五塩化及び六塩化体が検出され、これらの残留が確認されると同時に、これらのピークの  $t_R$  はそれぞれ 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HCDF 及び 1,2,3,6,7,8-HCDF の  $t_R$  と一致した。この結果はさきのキャピラリーカラムを用いた GC の結果 (Fig. 2) と一致する。なお、Fig. 3 からラット肝臓には上記 PCDF 異性体の他にごく微量の四塩化体及び六塩化体の残留することが明らかとなったが、これらは impure 2,3,7,8-TCDF 中の微量不純物に由来するものと思われる。

次に、不純物の残留性をより詳細に検討するためラット肝に残留する各 PCDF 異性体について定量した。Table 1 にその結果を示す。2,3,7,8-TCDF 投与群における 2,3,7,8-TCDF 濃度は平均 0.3ppm であり、投与量の約 1.3% の残留率であった。一方、impure 2,3,7,8-TCDF 投与群からは、すべてのラットから 2,3,7,8-TCDF とともに不純物の各 PCDF 異性体が検出され、2,3,7,8-TCDF の濃度が平均 0.1 ppm であり、投与量の約 0.6%

残留性について、両者は際立った違いを示した。すなわち、impure 2,3,7,8-TCDF 投与群では、2,3,7,

4,7,8-PeCDF 及び 1,2,3,4,7,8-HCDF の濃度は、

**Table 1.** Concentration of PCDF isomers in the liver of rats 5 days after a single injection of 2, 3, 7, 8-TCDF or impure 2, 3, 7, 8-TCDF

| Rat no | Concentration of PCDF isomers (ppm) |                      |                      |                       |                       | total |
|--------|-------------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
|        | 1, 2, 3, 7, 8-TCDF                  | 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF | 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF | 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF | 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF |       |
| E 0    | 0.26(1.3)                           | ND                   | ND                   | ND                    | ND                    | 0.26  |
| 1      | 0.21(1.0)                           | ND                   | ND                   | ND                    | ND                    | 0.21  |
| 2      | 0.28(1.4)                           | ND                   | ND                   | ND                    | ND                    | 0.28  |
| 3      | 0.37(1.6)                           | ND                   | ND                   | ND                    | ND                    | 0.37  |
| F 0    | 0.10(0.6)                           | 0.05(14.3)           | 0.14(37.1)           | 0.01(31.6)            | TR                    | 0.31  |
| 1      | 0.04(0.2)                           | 0.02(6.3)            | 0.22(57.8)           | 0.01(36.4)            | TR                    | 0.30  |
| 2      | 0.01(0.05)                          | 0.01(2.3)            | 0.04(8.7)            | TR                    | ND                    | 0.05  |
| 3      | 0.15(0.9)                           | 0.06(17.8)           | 0.23(66.8)           | 0.02(49.7)            | TR                    | 0.46  |

ND: less than 0.001 ppm TR: 0.001-0.005 ppm

E: 2, 3, 7, 8-TCDF (1.0 mg/kg) F: impure 2, 3, 7, 8-TCDF (1.0 mg/kg)

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

それぞれ平均 0.04 ppm, 0.2 ppm 及び 0.01 ppm であり、投与量の約 13%, 54% 及び 39% の残留率であった (例外的に低値を示した F<sub>2</sub> を除く)。

### 考 察

impure 2, 3, 7, 8-TCDF には不純物として 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF 及び 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF がそれぞれ 2%, 2%, 0.2%, 及び 0.1% の割合で含まれていることが明らかとなった。他の研究者により動物実験に提供された 2, 3, 7, 8-TCDF にもそれが塩素化を利用して合成されていれば同様な不純物の混在が予想される。これらの PCDF 不純物はいずれもジベンゾフラン骨格の 2, 3, 7 及び 8-位が塩素原子によって置換されており、PCDF 中強い生物活性を示すと考えられている。たとえば、両五塩化体及び 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF は吉原ら<sup>17)</sup> により、2, 3, 7, 8-TCDF と同様、ラット肝において典型的な 3-MC 型の酵素誘導作用を示し、また強い毒性を示すことが知られており、特に 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF は 1 回投与量 1 µg/kg で有意な誘導作用が、また 10 µg/kg では有意な毒性が認められている。1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF<sup>18)</sup> についても AHH 活性などを増大させることが報告されている。

以上のことから impure 2, 3, 7, 8-TCDF の示す酵素誘導作用及び毒性にこれら不純物が関与している可能性も考えられるが、Fig 1 に示すように 2, 3, 7, 8-TCDF 及び impure 2, 3, 7, 8-TCDF 投与において、両群から BP 3-水酸化酵素活性の増大など 3-MC 型の酵素誘導作用ならびに肝肥大や胸腺・脾臓の萎縮

などの強い毒性が観察されたものの、両群においてこれらの程度に相違は認められなかった。

したがって、今回検討した投与後 5 日目のラット肝における酵素誘導作用及び毒性を指標とした限りでは impure 2, 3, 7, 8-TCDF に含まれる不純物の影響は無視できると思われる。また、このことは 95% 以上の純度の 2, 3, 7, 8-TCDF を用いて酵素誘導作用及び毒性を評価しても問題はないことを意味している。

ラット肝残留 PCDF 濃度に関して両者は際立つた特徴を示した。2, 3, 7, 8-TCDF 及び impure 2, 3, 7, 8-TCDF 投与群において、2, 3, 7, 8-TCDF の濃度はそれぞれ 0.3 ppm, 0.1 ppm とほぼ同濃度であったが、後者からは不純物である各 PCDF 異性体がすべてのラットから検出された。しかも残留不純物を合計した濃度は 2, 3, 7, 8-TCDF 濃度の約 2~6 倍に達した。単一 PCDF 異性体を用いたラット肝残留性に関する実験から 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF 及び 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF は高い残留性を示すが、2, 3, 7, 8-TCDF の肝残留性は低い<sup>19)</sup> ことが知られている。今回の実験においてもこのような傾向が更に裏付けられた。また、肝残留 PCDF 濃度はこのように両群で著しい差が認められたにもかかわらず、すでに述べたように酵素誘導能及び毒性の強さに相違は認められなかった。このことから肝残留濃度と酵素誘導能及び急性毒性の強さは短期間内では直接に関連していないと考えられる。

2, 3, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF 及び 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF は油症患者の発症後 9 年経過した肝臓から検出<sup>10)</sup> されているし、1, 2, 3, 4, 7, 8-

HCDF は PCB 中毒サルの実験開始後約 2~3 年経過した肝臓からも検出<sup>13)</sup> されている。一方、2, 3, 7, 8-<sup>14</sup>C-TCDF をラットに投与すると、その放射能の 90% 以上は胆汁を介して速やかに排泄される<sup>2)</sup> ことが知られている。これらのことや今回の実験結果を合わせて考えると、impure 2, 3, 7, 8-TCDF 投与後長期間経過した肝臓には、2, 3, 7, 8-TCDF よりむしろ不純物である各 PCDF 異性体の残留がより顕著であろうと予想される。したがって、不純物を含む 2, 3, 7, 8-TCDF を用いて慢性毒性など長期の毒性評価を行う場合は、不純物による影響も考慮する必要があると思われる。

### 総 括

2, 3, 7, 8-TCDF は強力な 3-MC 型の酵素誘導作用を示す一方、肝肥大や胸腺・脾臓の萎縮などの強い毒性を示すことが知られている。塩素化を利用して合成された 2, 3, 7, 8-TCDF (Pomerantz 博士より提供) には、キャピラリーカラムを用いた GC から不純物として 1, 2, 3, 7, 8-PenCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HCDF 及び 1, 2, 3, 6, 7, 8-HCDF がそれぞれ 2%, 2%, 0.2% 及び 0.1% の割合で混在していた。これらの不純物も強い 3-MC 型の酵素誘導作用及び毒性を示し、肝残留性も極めて高い。そこで不純物が 2, 3, 7, 8-TCDF の示す酵素誘導作用及び毒性に影響を及ぼしているか否かを明らかにするため、上記の不純物を含む 2, 3, 7, 8-TCDF と含まない 2, 3, 7, 8-TCDF をラットに投与し 5 日目の肝ミクロゾームにおける酵素誘導作用及び毒性について比較した。

その結果、両者において 3-MC 型としての酵素誘導能及び急性毒性の強さに相違は観察されなかった。したがって、今回検討した投与後 5 日目における 2, 3, 7, 8-TCDF の示す酵素誘導作用及び急性毒性に上記の不純物の影響は認められなかった。

不純物を含む 2, 3, 7, 8-TCDF 投与のラット肝臓からは、不純物が 2, 3, 7, 8-TCDF より高濃度で検出され、改めてこれら不純物の高残留性が確認された。PCDF の生物活性と肝残留性は必ずしも直接的に関連していないと考えられるが、不純物を含む 2, 3, 7, 8-TCDF を用いて長期にわたる毒性を評価する実験では、不純物の極めて高い残留性と毒性を考慮すれば、これら不純物の影響を無視しない可能性が考えられる。

### 文 献

- 1) Bandiera, S., Sawyer, T., Romkes, M., Zmudzka, B., Safe, L., Mason, G., Keys, B. and Safe, S.: Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs): Effects of structure on binding to the 2, 3, 7, 8-TCDD cytosolic receptor protein, AHH induction and toxicity. *Toxicology* 32: 131-144, 1984.
- 2) 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.
- 3) Birnbaum, L. S., Decad, G. M., Matthews, H. B. and McConnell, E. E.: Fate of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in the monkey. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 57: 189-196, 1981.
- 4) Decad, G. M., Birnbaum, L. S. and Matthews, H. B.: Distribution and excretion of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 59: 564-573, 1981.
- 5) Decad, G. M., Birnbaum, L. S. and Matthews, H. B.: 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran tissue distribution and excretion in guinea pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 57: 231-240, 1981.
- 6) 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.
- 7) Goldstein, J. A., McKinney, J. D., Lucier, G. W., Hickman, P., Bergman, H. and Moore, J. A.: Toxicological assessment of hexachlorobiphenyl isomers and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in chicks 11. Effects on drug metabolism and porphyrin accumulation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 36: 81-92, 1976.
- 8) Ioannou, Y. M., Birnbaum, L. S. and Matthews, H. B.: Toxicity and distribution of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in male guinea pigs. *J. Toxicol. Environ. Health* 12: 541-553, 1983.
- 9) Kuroki, H., Haraguchi, K. and Masuda, Y.: Synthesis of polychlorinated dibenzofuran isomers and their gas chromatographic profiles. *Chemosphere* 13: 561-573, 1984.
- 10) Kuroki, H. and Masuda, Y.: Determination of polychlorinated dibenzofuran isomers retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 7: 771-777, 1978.
- 11) 黒木広明, 増田義人, 古賀信幸, 吉村英敏: PCB 中毒サルの肝臓における PCDF 蓄積及び酵素誘導作用. *福岡医誌* 74: 234-239, 1983.
- 12) McKinney, J. D., Chae, K., Gupta, B. N., Moore, J. A. and Goldstein, J. A.: Toxi-

cological assessment of hexachlorobiphenyl isomers and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in chicks 1. Relationship of chemical parameters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 36: 65-80, 1976.

13) McNulty, W. P., Pomerantz, I. and Farrell, T.: Chronic toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran for rhesus macaques. *Food Cosmet. Toxicol.* 19: 57-65, 1981.

14) 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.

15) Poland, A., Glover, E. and Kende, A. S.: Stereospecific, high affinity binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by hepatic cy-

tosol. *J. Biol. Chem.* 251: 4936-4946, 1976.

16) Weber, H., Lamb, J. C., Harris, M. W. and Moore, J. A.: Teratogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF) in mice. *Toxicology Letters* 20: 183-188, 1984.

17) 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.

18) 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.

## PCB 異性体によるラット肝可溶性酵素の誘導

九州大学薬学部衛生化学裁判化学教室

古 賀 信 幸・黒 木 淳  
外 間 由美子・吉 村 英 敏

### Inductive Effect of Polychlorinated Biphenyl Isomers on Liver Cytosolic Enzymes in Rats

Nobuyuki KOGA, Jun KUROKI, Yumiko HOKAMA  
and Hidetoshi YOSHIMURA

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

In the previous study, we found that polychlorinated biphenyls (PCBs) were potent inducers for the hepatic microsomal mixed function oxidase system and could be classified into two distinct groups, phenobarbital (PB)- and 3-methylcholanthrene (MC)-type. Among them, only MC-type PCBs revealed high toxicity, which is well correlated with their inducing ability for the cytosolic DT-diaphorase and the hepatic microsomal mixed function oxidase system. In the present study, we examined the induction mode of cytosolic enzymes by treatment of rats with 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (PenCB) and 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (HCB) as representatives of MC-type PCBs and PB-type PCBs, respectively. As the results, DT-diaphorase, glutathione (GSH) S-transferase, aldehyde dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase were induced about 10-, 2.7-, 18- and 2.2-fold, respectively, at 12 days after PenCB-treatment at a single oral dose of 0.5 mg/kg. These inductions of cytosolic enzymes were maximum at 12 days after PenCB-treatment, in contrast to microsomal enzymes, which were induced maximally at Day 5. HCB-treatment also induced above cytosolic enzymes, but the extent was much less than PenCB-treatment. On the other hand, GSH peroxidase activity, the scavenger of lipid peroxide, was decreased by HCB-pretreatment, but the formation of lipid peroxide was not altered by both PCBs.

These results suggested that MC- and PB-type PCB affected cytosolic enzymes with different modes, same as microsomal mixed function oxidase system.

Polychlorinated biphenyl (PCB) は polychlorinated dibenzofuran とともにいわゆる油症の原因物質として知られ、また世界的な環境汚染物質でもある。一方、これら多塩素化芳香族化合物は肝ミクロゾームの薬物代謝酵素系の強力な誘導剤でもあり、著者らおよび他のグループは、PCB がその酵素誘導の性質の違いから、phenobarbital (PB) 型と 3-methylcholanthrene (MC) 型の 2 種に大別されることを見出した<sup>22) 6)</sup>。また、このうち 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl を原型とする平面的構造を持つ

MC 型の PCB は、肝ミクロゾームの benzo (a) pyrene 3-hydroxylase 活性とともに、肝可溶性画分の DT-diaphorase 活性を顕著に上昇させ、さらにこの誘導の強さと胸腺の萎縮を指標とする急性毒性の強さに、高い相関が観察されることも報告した<sup>23)</sup>。

このように PCB の毒性は肝ミクロゾーム酵素ばかりでなく、肝可溶性酵素の誘導とも密接な関連があると考えられる。肝可溶性画分には DT-diaphorase の他に、グルタチオン (GSH) 抱合を触媒する GSH S-transferase, NADP の還元や核酸合成のための

リボースリン酸供給を行うペントースリン酸回路をはじめ、数多くの酵素が存在している。またスーパーオキシド等の活性酸素や過酸化脂質による毒性から生体を防御する superoxide dismutase, GSH peroxidase-reductase 系などもこの画分に分布している。これら肝可溶性酵素のうちいくつかについては、これまでに最強の MC 型酵素誘導能を有するといわれる 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) をはじめとする数種の化合物による誘導が報告されている。たとえば GSH S-transferase は TCDD, MC, PB のほか<sup>1)</sup>、抗酸化剤である butylated hydroxytoluene によっても誘導されることが知られており<sup>15)</sup>、aldehyde dehydrogenase については PB<sup>9)</sup>、TCDD<sup>20)</sup> により 30~100 倍の顕著な誘導を受け、さらに Aroclor 1254 による活性上昇も報告されている<sup>2)</sup>。また四塩化炭素による肝障害時には、ペントースリン酸回路の律速酵素である glucose-6-phosphate (G-6-P) dehydrogenase が誘導される<sup>20)</sup>。一方斎藤らは四塩化炭素を主成分とする PCB により肝過酸化脂質が増加し、その際過酸化脂質生成の防御酵素系の GSH peroxidase 活性が低下することを見出している<sup>18)</sup>。

このように肝可溶性酵素の誘導剤について数多く報告されているものの、これまで単一 PCB による検討はなされておらず、これら肝可溶性酵素に及ぼす PCB の影響を明らかにすることは PCB の毒性発現機構を解明していくうえで非常に重要であると考えられる。そこで、PCB の肝可溶性酵素に対する誘導作用の特性を明らかにするために、既知の単一 PCB のうち、強力な MC 型酵素誘導能を有し、最も毒性の高い 3, 4, 5, 3', 4'-pentachlorobiphenyl (PenCB) および強力な PB 型誘導を示すが、毒性は低い 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl (HCB) をモデル化合物として用い、ラット肝可溶性酵素並びに過酸化脂質生成に及ぼす影響について検討を加えた。

## 実験方法

### 1. 実験材料

PenCB は佐伯らの方法<sup>17)</sup> に従って合成し、HCB はガスクロ工業 (株) (東京) より購入した。NAD (P)H, NAD(P), G-6-P (2Na 塩), G-6-P dehydrogenase, GSH (酸化型および還元型) は Sigma Chemical Company (米国, St. Louis) の製品を用いた。Propionaldehyde, 1, 2-dichloro-4-nitrobenzene (DCNB), dicoumarol は和光純

薬 (株) (大阪) より、また 2, 6-dichlorophenol-indophenol, pyrazole, 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene (CDNB) は Merck AG (西ドイツ, Darmstadt), 半井化学薬品 (株) (京都), 東京化成工業 (株) (東京) よりそれぞれ購入した。

### 2. 実験動物および薬物投与

4 週令の Wistar 系雄性ラット (体重 100~110 g) を 1 群 4 匹として対照群, PCB 処置群に分けて使用した。PenCB および HCB は、それぞれの実験に記載した用量を体重 1 kg 当り 1 ml のサラダ油に溶解して、また対照群にはサラダ油のみを投与した。なお PenCB のみの場合には経口にて、HCB との比較実験には腹腔内にいずれも 1 回投与した。

### 3. 酵素液の調製

PCB 投与後、水、餌は自由に与え、記載した日数後に一夜絶食ののち屠殺した。肝臓を摘出し生理食塩水にて灌流後細切して、氷冷した 0.25 M ショ糖-0.1 mM EDTA-10 mM Tris-HCl (pH 7.5) 溶液中でテフロンホモジナイザーを用いて 25% ホモジネートとした。

これを 9000×g で 20 分間遠心し、沈渣を同量の同緩衝液に懸濁させ、再度 9000×g で 20 分間遠心し、この上清を 1 度目の上清と合わせて 9000×g 上清とした。さらにこの 9000×g 上清を 105000×g で 60 分間遠心し、得られた上清を 105000×g 上清とした。

### 4. 酵素活性等の測定

cytochrome P-450 (P-450) 含量は 9000×g 上清を試料とし、Matsubara らの方法により定量した<sup>13)</sup>。肝可溶性酵素活性は 105000×g 上清を用いて測定した。DT-diaphorase 活性は既報<sup>21)</sup> に従って、また aldehyde dehydrogenase 活性は propionaldehyde を基質とし<sup>3)</sup>、G-6-P dehydrogenase 活性は G-6-P を基質として<sup>1)</sup>、それぞれ NADH, NADPH の生成量を求める常法により測定した。GSH peroxidase 活性は cumene hydroperoxide を基質とし、GSH reductase による NADPH の減少量を<sup>11)</sup>、また GSH reductase 活性は酸化型 GSH を基質として NADPH の減少量をそれぞれ測定して求めた<sup>19)</sup>。GSH S-transferase 活性は CDNB あるいは DCNB を基質とし、その GSH 抱合体の生成量により測定した<sup>7)</sup>。

肝ホモジネート中の過酸化脂質量は Ohkawa らの方法に従い thiobarbituric acid 法<sup>16)</sup> により、タンパク量は Lowry らの方法<sup>12)</sup> によりそれぞれ定量し

た。

## 結 果

## 1. PenCB 処理による肝可溶性酵素誘導の経日的変化並びに投与量の影響

Fig. 1 に PenCB (0.5 mg/kg 体重) 投与後30日

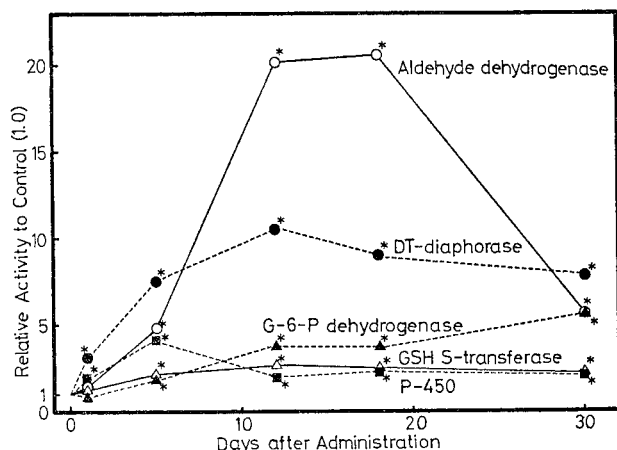


Fig. 1. Time course of enzyme induction after single oral administration of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (0.5 mg/kg of body weight). Each point represents the relative activity to the control (1.0). The activity of GSH S-transferase was assayed by the GSH-conjugate formed from CDNB. GSH, glutathione; G-6-P, glucose-6-phosphate.

\* Significantly different from control,  $p < 0.05$ .

目までの DT-diaphorase, GSH S-transferase, G-6-P dehydrogenase および aldehyde dehydrogenase の各可溶性酵素活性の経日的変動を示した。肝ミクロゾーム薬物代謝酵素系の中心酵素である P-450 の含量は, PenCB 投与後 5 日目まで最大となるのに対し, これら可溶性酵素活性はいずれも 12 日目以降に最大となった。特に aldehyde dehydrogenase 活性は 5 日目以降に急増し, 最大となる投与後 12~18 日目には対照群の 20 倍にまで誘導され, 今回測定した酵素のうちで最大の誘導性を示した。また DT-diaphorase, GSH S-transferase の 2 種も投与後 12 日目に最大の誘導を示し, それぞれ対照群の 11 倍, 2.7 倍に活性が上昇した。一方 G-6-P dehydrogenase 活性は前 3 者とは異なり, 急激な活性上昇は認められなかったものの, 緩やかながら連続的に活性が上昇し, 投与後 30 日目には対照群の 5.5 倍まで誘導された。

Table 1 は PenCB 投与後 12 日目における P-450 含量および肝可溶性酵素活性に及ぼす投与量の影響を示している。P-450 含量が投与量 3 mg/kg まで用量依存的に増加しているのに対し, DT-diaphorase, G-6-P dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase の各酵素活性は 0.5 mg/kg の用量でほぼ最大に達し, それぞれ対

Table 1. Effects of PenCB dose on P-450 contents, and DT-diaphorase, GSH S-transferase, aldehyde dehydrogenase and G-6-P dehydrogenase activities in rat liver at 12 days after a single oral administration

|                                      | Dose of PenCB (mg/kg of body weight) |                |                 |                 |
|--------------------------------------|--------------------------------------|----------------|-----------------|-----------------|
|                                      | 0                                    | 0.05           | 0.5             | 3.0             |
| P-450 <sup>1)</sup>                  | 0.157 ± 0.022                        | 0.253 ± 0.045* | 0.353 ± 0.113   | 0.483 ± 0.046*  |
| DT-diaphorase <sup>2)</sup>          | 0.435 ± 0.061                        | 1.003 ± 0.138* | 4.464 ± 0.456*  | 4.267 ± 0.712*  |
| GSH S-transferase                    | 0.601 ± 0.109                        | 0.917 ± 0.083* | 1.928 ± 0.117*  | 1.693 ± 0.248*  |
|                                      |                                      |                |                 |                 |
| CDNB <sup>3)</sup>                   |                                      |                |                 |                 |
| DCNB <sup>4)</sup>                   | 24.69 ± 1.03                         | 29.89 ± 5.55   | 45.41 ± 10.44*  | 45.47 ± 8.76*   |
| Aldehyde dehydrogenase <sup>5)</sup> | 7.90 ± 0.82                          | 8.29 ± 2.01    | 145.66 ± 17.45* | 147.20 ± 41.23* |
| G-6-P dehydrogenase <sup>6)</sup>    | 12.68 ± 0.73                         | 19.37 ± 1.80*  | 27.88 ± 2.95*   | 28.38 ± 3.00*   |

Liver 9000 × g supernatant and 105000 × g supernatant were used for the measurement of P-450 contents and for the enzyme assays of soluble fractions, respectively.

Values are expressed as the mean ± S.D. of 4 experiments.

1) nmoles/mg protein, 2)  $\mu$ moles of reduced DCPIP/min/mg protein, 3)  $\mu$ moles of conjugate formed/min/mg protein, 4) nmoles of conjugate formed/min/mg protein, 5) nmoles of NAD reduced/min/mg protein, 6) nmoles of reduced NADPH/min/mg protein.

\* Significantly different from control,  $p < 0.05$ .

照群の 10, 2.2, 18 倍に活性が上昇した。一方 GSH S-transferase も 0.5 mg/kg 投与で最大となったが, CDNB, DCNB の両基質に対し, それぞれ 3.2, 1.8 倍と異なる活性上昇を示した。

## 2. MC 型 PCB および PB 型 PCB による肝可溶性酵素誘導の比較

前記のように, 代表的な MC 型 PCB である PenCB により数種の可溶性酵素が誘導されることが明らかとなった。そこで代表的な PB 型 PCB の HCB を用い, その肝可溶性酵素の誘導能について PenCB との比較を行った。Fig. 2 は PenCB (0.5 mg/kg) あるいは HCB (20 mg/kg) 投与後 5 日目および 12 日目における酵素活性を示している。PenCB 処理で顕著に誘導された DT-diaphorase および aldehyde dehydrogenase は HCB 処理によっても誘導が観察され, 投与後 5 日目において

DT-diaphorase 1.7 倍, aldehyde dehydrogenase 4.1 倍と有意な活性上昇が認められた。また CDNB を基質とする GSH S-transferase 活性も 5 日目において PenCB 処理の 2.5 倍には及ばないものの, HCB 処理により対照群の 1.8 倍に誘導された。

PenCB は PCB 異性体中で最も高毒性であり, 低毒性の HCB との比較において過酸化脂質およびその防御酵素系に与える影響がどうか興味を持たれた。結果は Table 2 に示すように, 肝重量 1 g 当りの過酸化脂質量は, PenCB, HCB 処理のいずれにおいても有意な変化は認められなかった。一方, GSH peroxidase は HCB 処理でのみ対照群の 86% にまで減少した。また GSH reductase 活性は PenCB, HCB のいずれの投与でも 1.2~1.3 倍に誘導された。

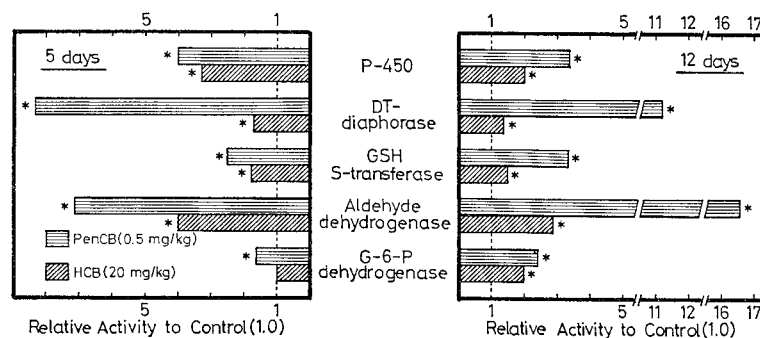


Fig. 2. Comparative effects of pretreatment with PenCB and HCB on rat liver enzyme activities. The enzyme activities in the control 5 days and 12 days after injection were given, respectively, as follows (mean  $\pm$  S.D.): P-450  $0.108 \pm 0.031$ ,  $0.128 \pm 0.018$  nmoles/mg protein; DT-diaphorase  $0.365 \pm 0.081$ ,  $0.362 \pm 0.046$   $\mu$ moles/min/mg protein; GSH S-transferase (CDNB as substrate)  $1.174 \pm 0.103$ ,  $1.569 \pm 0.162$   $\mu$ moles/min/mg protein; aldehyde dehydrogenase  $9.23 \pm 1.27$ ,  $6.39 \pm 0.45$  nmoles/min/mg protein; G-6-P dehydrogenase  $19.59 \pm 1.17$ ,  $13.05 \pm 1.65$  nmoles/min/mg protein.

\* Significantly different from control,  $p < 0.05$ .

Table 2. Effects of PenCB and HCB pretreatment on lipid peroxide content and activities of the related enzymes of rat liver at 5 days after injection

|                              | Control           | PenCB (0.5 mg/kg)  | HCB (20 mg/kg)      |
|------------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Lipid peroxide <sup>1)</sup> | $0.565 \pm 0.024$ | $0.564 \pm 0.105$  | $0.584 \pm 0.033$   |
| GSH peroxidase <sup>2)</sup> | $0.207 \pm 0.009$ | $0.184 \pm 0.037$  | $0.177 \pm 0.011^*$ |
| GSH reductase <sup>3)</sup>  | $45.44 \pm 3.11$  | $55.77 \pm 2.00^*$ | $57.37 \pm 0.86^*$  |

Values are expressed as the mean  $\pm$  S.D. of 4 experiments.

1)  $\mu$ moles of formed malondialdehyde/g of liver, 2)  $\mu$ moles of oxidized NADPH/min/mg protein of  $105000 \times g$  supernatant, 3) nmoles of oxidized NADPH/min/mg protein of  $105000 \times g$  supernatant.

\* Significantly different from control,  $p < 0.05$ .

## 考 察

代表的な MC 型 PCB である PenCB あるいは PB 型の HCB 前処理によって、ラット肝可溶性酵素のうち aldehyde dehydrogenase, GSH S-transferase, G-6-P dehydrogenase, GSH reductase の各活性が誘導されることが明らかとなった。これら肝可溶性酵素の PenCB 投与後の経日的な変動パターンはそれぞれ異なっており、その誘導機構に若干の差異があることが示唆された。DT-diaphorase の誘導が benzo (a) pyrene 3-hydroxylase と同じく Ah locus に支配されることはよく知られているが、DT-diaphorase と似た変動パターンを示した GSH S-transferase については Ah locus 以外の遺伝子座によることが報告されており<sup>9)</sup>、他の可溶性酵素についてもさらに異なる遺伝子が関与すると考えられるが詳細は不明である。

また PenCB による肝可溶性酵素の誘導はミクロゾームの場合と異なり、検討した全酵素について 0.5 mg/kg ではば最大となった。このような現象は高用量により誘導剤の毒性が強まり、そのため充分な対応ができないためと考えられる。事実今回の実験でも PenCB の投与量を 5 mg/kg まで上げると投与後 7~12 日で半数以上のラットが死亡した。また Deitrich らは TCDD による aldehyde dehydrogenase の誘導に関し、75 µg/kg でその効果が最大となり、これ以上の用量ではラットが死亡するなど毒性が強く出現することを報告している<sup>9)</sup>。

一方 0.5 mg/kg の PenCB の投与後 12 日目における GSH S-transferase 活性の上昇率は、CDNB と DCNB の両基質により異なっていたが、このことはラット肝可溶性画分に基質特異性の異なる 8 種の isozymes が存在する<sup>9)</sup> ことを考慮すると、PenCB により誘導される isozymes には選択性があるものと考えられる。さらに PenCB, HCB 処理のいずれにおいても GSH S-transferase, および aldehyde dehydrogenase 活性が誘導されたが、この 2 種の酵素は PB および TCDD によりそれぞれ異なる isozymes が誘導されることが知られており<sup>10)</sup>、MC 型および PB 型 PCB はそれぞれ異なる分子種の GSH S-transferase, aldehyde dehydrogenase を誘導する可能性も考えられる。

これまでに PCB 処理による肝過酸化脂質の増加と PCB の毒性との関連について多くの報告がなされている<sup>18)</sup> が、PCB 異性体中で最も高毒性の

PenCB によっても、また HCB によっても、それぞれ 3 mg/kg および 20 mg/kg の 1 回投与では肝重量 1 g 当りの過酸化脂質量には全く変化が認められなかった。今回実験に用いた PCB はいずれも肝肥大を惹起することから、過酸化脂質の総量は増加しているといえるが、PenCB と HCB の毒性の強さが大きく異なることを考慮すると、過酸化脂質の生成が毒性発現に直接関与するとは考えにくい。さらに過酸化脂質の scavenger である GSH peroxidase 活性が高毒性の PenCB を 3 mg/kg の用量で投与しても変化が認められなかったのに対し、毒性の弱い HCB では有意に減少したことも、この考えを支持するものと思われる。

一方肝癌や四塩化炭素による肝障害により活性が上昇することが知られる G-6-P dehydrogenase は、PenCB と HCB 処理のいずれにおいても誘導されるとはいえ、PenCB の方がはるかに強い誘導を示した。これが肝障害の程度を示すものか否かについては不明である。さらに本酵素は、脂質および核酸の合成にも関与することが知られ、特に PenCB による肝脂質の増加を考えると肝脂質合成への影響は重要と思われる。

印南らは PCB 投与により肝ビタミン A 濃度が減少し、ビタミン A 不足飼料により PCB の毒性が強まることから、PCB によってビタミン A の代謝異常が起こると考察している<sup>8)</sup>。ビタミン A は retinol から retinyl aldehyde (retinal) を経て retinoic acid へと代謝されるが、retinal から retinoic acid への代謝には可溶性画分の retinal dehydrogenase が関与する<sup>10)</sup>。本酵素と今回 PCB 処理で誘導された aldehyde dehydrogenase との異同は明らかではないが、いずれも同じく NAD を補酵素として aldehyde を酸化することから、この誘導がビタミン A の代謝異常に関与している可能性も考えられ、今後の重要な研究課題といえる。

## 総 括

PCB は、その毒性と酵素誘導の特性から phenobarbital (PB) 型と 3-methylcholanthrene (MC) 型とに大別される。当教室では PCB 異性体のうち MC 型の異性体のみ、その肝ミクロゾームの benzo (a) pyrene 3-hydroxylase 活性、あるいは肝可溶性画分の DT-diaphorase 活性の誘導の強さに相関して高い毒性を示すことを明らかにした。しかしながら、DT-diaphorase 以外の肝可溶性酵素への PCB

の影響についてはほとんど明らかにされていない。そこで PCB 異性体中で最強の MC 型酵素誘導能を有する 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (PenCB) と、代表的な PB 型である 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (HCB) を用い、ラット肝可溶性酵素並びに過酸化脂質への影響について検討した。その結果、PenCB は aldehyde dehydrogenase を強く誘導し、glutathione (GSH) S-transferase, glucose-6-phosphate dehydrogenase も誘導することが明らかとなった。また HCB 処理によっても上記の肝可溶性酵素が誘導されたが、PenCB と比較するとその程度は小さかった。一方肝中過酸化脂質濃度は、いずれの PCB 処理によっても変動せず、その防御酵素である GSH peroxidase は HCB によってのみ、わずかに減少した。

#### 文 献

- 1) Baars, A. J., Jansen, M. and Breimer, D. D.: The influence of phenobarbital, 3-methylcholanthrene and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on glutathione S-transferase activity of rat liver cytosol. *Biochem. Pharmacol.* 27: 2487-2494, 1978.
- 2) Deitrich, R. A., Bludeau, P., Roper, M. and Schmuck, J.: Induction of aldehyde dehydrogenases. *Biochem. Pharmacol.* 27: 2343-2347, 1978.
- 3) 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.
- 4) Deitrich, R. A., Collins, A. C. and Erwin, V. G.: Genetic influence upon phenobarbital-induced increase in rat liver supernatant aldehyde dehydrogenase activity. *J. Biol. Chem.* 247: 7232-7236, 1972.
- 5) Felton, J. S., Ketley, J. N., Jakoby, W. B., Aitio, A., Bend, J. R. and Nebert, D. W.: Hepatic glutathione transferase activity induced by polycyclic aromatic compounds. Lack of correlation with the murine Ah locus. *Mol. Pharmacol.* 18: 559-564, 1980.
- 6) Goldstein, J. A., Hickman, P., Bergman, H., McKinney, J. D. and Walker, M. P.: Separation of pure polychlorinated biphenyl isomers into two types of inducers on the basis of induction of cytochrome P-450 or P-448. *Chem.-Biol. Interact.* 17: 69-87, 1977.
- 7) Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B.: Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139, 1974.
- 8) Innami, S., Nakamura, A., Kato, K. and Miyazaki, M.: Polychlorinated biphenyls toxicity and nutrition IV. PCBs toxicity and vitamin A(3). *Fukuoka Acta Med.* 66: 579-584, 1975.
- 9) Jakoby, W. B., Ketterer, B. and Mannervik, B.: Glutathione transferases. Nomenclature. *Biochem. Pharmacol.* 33: 2539-2540, 1984.
- 10) Langdon, R. G.: Glucose 6-phosphate dehydrogenase from erythrocytes. *Methods in Enzymology IX.* pp. 126-131, New York, Academic Press 1966.
- 11) Lawrence, R. A. and Burk, R. F.: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71: 952-958, 1976.
- 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) Matsubara, T., Koike, M., Touchi, A., Tochino, Y. and Sugeno, K.: Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. *Anal. Biochem.* 75: 596-603, 1976.
- 14) Moffa, D. J., Lotspeich, F. J. and Krause, R. F.: Preparation and properties of retinal-oxidizing enzymes from rat intestinal mucosa. *J. Biol. Chem.* 245: 439-447, 1970.
- 15) Nakagawa, Y., Hiraga, K. and Suga, T.: Effects of butylated hydroxytoluene (BHT) on the level of glutathione and the activity of glutathione-S-transferase in rat liver. *J. Pharmacobiodyn.* 4: 823-826, 1981.
- 16) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358, 1979.
- 17) 佐伯清太郎, 吉原新一, 内野泰治, 吉村英敏: 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl の合成について. *福岡医誌* 70: 85-87, 1979.
- 18) 斎藤衛郎, 池上幸江, 印南 敏, 永山スミ子, 西出英一: PCB 投与ラット肝臓における過酸化脂質の生成と薬物代謝, グルタチオンペーオキシダーゼ, ビタミンEとの関連. *福岡医誌* 72: 142-148, 1981.
- 19) Scott, E. M., Duncan, I. W. and Ekstrand, V.: Purification and properties of glutathione reductase of human erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 238: 3928-3933, 1963.
- 20) Watanabe, A. and Taketa, K.: Actinomycin D-insensitive induction of rat liver glucose-6-phosphate dehydrogenase by carbon tetrachloride injury. *J. Biochem.* 73: 771-779, 1973.
- 21) 吉村英敏, 古賀信幸, 和田郁夫, 外間由美子, 黒木 淳: 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. 福岡医誌 74: 217-221, 1983.

22) Yoshimura, H., Ozawa, N. and Saeki,  
S.: Inductive effect of polychlorinated bipheny-  
ls mixture and individual isomers on the hepatic  
microsomal enzymes. Chem. Pharm. Bull. (To-

kyo) 26: 1215-1221, 1978.

23) 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.

## 3,4,5,3',4'-ペンタクロロビフェニルのニワトリ（ヒナ） に対する急性毒性並びに肝酵素誘導作用

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室

外 間 由美子・永 野 磯 美  
古 賀 信 幸・吉 村 英 敏

### Acute Toxicity and Inductive Effect on Liver Enzyme Activities of 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl in Chickens

Yumiko HOKAMA, Isomi NAGANO, Nobuyuki KOGA  
and Hidetoshi YOSHIMURA

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

We reported previously that PCBs could be classified into 2 groups, phenobarbital (PB)-type and 3-methylcholanthrene (MC)-type, in terms of the induction patterns of the hepatic enzymes. MC-type PCBs exhibited high acute toxicity in parallel with strong induction of cytosolic DT-diaphorase and microsomal benzo(a)pyrene [B(a)P] 3-hydroxylase in rats. In birds, on the other hand, PCBs are also known to cause weight loss, edema, enlargement of the liver and atrophy of the spleen, but their effects on hepatic enzymes have not yet been fully clarified. In the present study, we examined effects of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (PenCB) (MC-type) and 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (HCB) (PB-type) on activities of hepatic enzymes in chickens and determined acute toxicity of these compounds.

As the results, PenCB showed a high acute toxicity and a strong induction of hepatic enzymes. Hydropericardium, enlargement of the liver and atrophy of the spleen could be observed even at a single dose of 5 µg/kg. In the liver, content of cytochrome P-450 and activity of B(a)P 3-hydroxylase were potently increased. The inducibility of these enzymes, but not of DT-diaphorase was well correlated with potency of acute toxicity by PenCB. On the contrary, HCB-treated chickens did not show any significant toxicity and inductive effect on above hepatic enzymes at a single dose of 10 mg/kg.

1968年6月に西日本一帯で発生した油症事件に先だって、同年2月、同じく西日本一帯において養鶏場の約200万羽のニワトリが、水腫を伴う奇病にみまわれ、約40万羽が死亡するという事故が生じた。この原因は、ニワトリ飼料中に添加されたダーク油に混入したPCB類縁化合物によるものであり、油症と同じ原因であることが後に確認された。同様な有機塩素化合物による事故が、1957年、アメリカ中東部でも発生しており、ニワトリは有機塩素化合物に鋭敏に反応し、水腫等の毒性を発現することが、以前より知ら

れていた<sup>2)7)14)15)</sup>。一方、周知のとおり、PCB類縁化合物は、油症の原因物質であるとともに、世界的な環境汚染物質でもある。当教室においては、油症発生以来、油症の毒性発現機構の解明、あるいは環境汚染物質としての毒性評価のため、PCBs及びその類縁化合物の毒性学的検討を種々行ってきた。その一環としてのラット及びマウスを用いた単一PCBの実験より、PCBsはその塩素置換位置により、肝薬物代謝酵素系の誘導の性質が異なる、3-メチルコラントレン(MC)型とフェノバルビタール(PB)型に大別でき

## 3,4,5,3',4'-ペンタクロロビフェニルのニワトリ（ヒナ） に対する急性毒性並びに肝酵素誘導作用

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室

外 間 由美子・永 野 磯 美  
古 賀 信 幸・吉 村 英 敏

### Acute Toxicity and Inductive Effect on Liver Enzyme Activities of 3,4,5,3',4'-Pentachlorobiphenyl in Chickens

Yumiko HOKAMA, Isomi NAGANO, Nobuyuki KOGA  
and Hidetoshi YOSHIMURA

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

We reported previously that PCBs could be classified into 2 groups, phenobarbital (PB)-type and 3-methylcholanthrene (MC)-type, in terms of the induction patterns of the hepatic enzymes. MC-type PCBs exhibited high acute toxicity in parallel with strong induction of cytosolic DT-diaphorase and microsomal benzo(a)pyrene [B(a)P] 3-hydroxylase in rats. In birds, on the other hand, PCBs are also known to cause weight loss, edema, enlargement of the liver and atrophy of the spleen, but their effects on hepatic enzymes have not yet been fully clarified. In the present study, we examined effects of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (PenCB) (MC-type) and 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (HCB) (PB-type) on activities of hepatic enzymes in chickens and determined acute toxicity of these compounds.

As the results, PenCB showed a high acute toxicity and a strong induction of hepatic enzymes. Hydropericardium, enlargement of the liver and atrophy of the spleen could be observed even at a single dose of 5 µg/kg. In the liver, content of cytochrome P-450 and activity of B(a)P 3-hydroxylase were potently increased. The inducibility of these enzymes, but not of DT-diaphorase was well correlated with potency of acute toxicity by PenCB. On the contrary, HCB-treated chickens did not show any significant toxicity and inductive effect on above hepatic enzymes at a single dose of 10 mg/kg.

1968年6月に西日本一帯で発生した油症事件に先だって、同年2月、同じく西日本一帯において養鶏場の約200万羽のニワトリが、水腫を伴う奇病にみまわれ、約40万羽が死亡するという事故が生じた。この原因は、ニワトリ飼料中に添加されたダーク油に混入したPCB類縁化合物によるものであり、油症と同じ原因であることが後に確認された。同様な有機塩素化合物による事故が、1957年、アメリカ中東部でも発生しており、ニワトリは有機塩素化合物に鋭敏に反応し、水腫等の毒性を発現することが、以前より知ら

れていた<sup>2)7)14)15)</sup>。一方、周知のとおり、PCB類縁化合物は、油症の原因物質であるとともに、世界的な環境汚染物質でもある。当教室においては、油症発生以来、油症の毒性発現機構の解明、あるいは環境汚染物質としての毒性評価のため、PCBs及びその類縁化合物の毒性学的検討を種々行ってきた。その一環としてのラット及びマウスを用いた単一PCBの実験より、PCBsはその塩素置換位置により、肝薬物代謝酵素系の誘導の性質が異なる、3-メチルコラントレン(MC)型とフェノバルビタール(PB)型に大別でき

ることを明らかにした<sup>19)</sup>。すなわち, 3, 4, 3', 4', 3, 4, 5, 3', 4', 3, 4, 5, 3', 4', 5', に置換基を有するものに代表されるMC型PCBは, 肝ミクロゾームのチトクローム P-448 により触媒されるベンゾ(a)ピレン水酸化活性や, 可溶性画分の DT-ジアホラーゼの誘導を行い, 他方, 4, 4', 2, 5, 2', 5', 2, 4, 5, 2', 4', 5' に置換基を有するものに代表される PB 型 PCB は, 肝ミクロゾームのチトクローム P-450 (P-450) により触媒されるベンツフェタミン N-脱メチル化活性, 及び NADPH-P-450 還元酵素等の誘導を行うことがわかった。さらに, 体重増加抑制, 肝肥大, 及び脾臓, 胸腺の萎縮等の急性毒性は, これらの PCB のうち MC 型のみに強く発現し, その強度は, 肝で誘導されてくるベンゾ(a)ピレン水酸化活性, 及び DT-ジアホラーゼの誘導の強さと極めてよい相関性を有することも明らかとなった<sup>16) 21)</sup>。このことは, 酵素誘導が毒性発現の一因となり得ることを示唆している。加えて, PCB 類縁化合物は, ラットにおいて, ステロイドの代謝異常を生じ<sup>17)</sup>, 生体内のホルモンの恒常性を乱すことも示唆されている。実際, 油症患者においては, 月経異常, 性欲減退等の症状が認められている。

また, すでに報告<sup>20)</sup> したように, 哺乳動物中, PCB に最も高い感受性を示すモルモットにおいては, MC 型の PCB である 3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニル (PenCB) により, 強い毒性を示すものの, ベンゾ(a)ピレン水酸化活性, DT-ジアホラーゼ活性は, ほとんど増加せず, 毒性の強さと酵素誘導能との関連は, 認められなかった。

すでに述べたように, 鳥類は PCB の毒性に鋭敏に反応するので, この酵素誘導能との関連を明らかにすることは極めて興味深いことである。そこで今回著者らは, PCB の毒性発現解明の一助として, また, 毒性に鋭敏な鳥類が, 環境汚染物質としての PCB の毒性のモニターとなり得ることも考慮し, ニワトリ(ヒナ)における PCB の毒性と酵素誘導作用について検討した。なお, PCB 異性体としては, ラットで最も強い毒性と MC 型酵素誘導を示す PenCB と, 毒性は弱い, 強い PB 型の誘導を示す 2, 4, 5, 2', 4', 5'-ヘキサクロロビフェニル (HCB) を代表として用い検討を行った。

## 実験方法

### 1. 実験材料

3, 4, 5, 3', 4'-ペンタクロロビフェニルは, 佐伯らの

方法<sup>12)</sup> に従って合成した。2, 4, 5, 2', 4', 5'-ヘキサクロロビフェニルは, ガスクロ工業より購入した。3-ヒドロキシベンゾ(a)ピレンは, 九州大学医療技術短期大学部木下洋夫教授, またベンツフェタミン塩酸塩は, Vanderbilt 大学 R. A. Neal 教授によりそれぞれ供与されたものを用いた。NADPH, NADP, グルコース-6-リン酸脱水素酵素とグルコース-6-リン酸(ナトリウム塩)は, Sigma Chemical Company (米国, St. Louis) より, 2, 6-ジクロロフェノールインドフェノール (DCPIP) は, Merck AG (西ドイツ, Darmstadt) より, ジクマロールは, 和光純薬(株)よりそれぞれ購入した。

### 2. 実験動物及び薬物投与

9日令の White Leghorn 種雄性ニワトリ, 体重約 60 g を用いた。PCB の用量変化の実験では, 1群 5~11羽として, 対照群, PenCB (実験 1: 5, 20, 50 µg/kg), (実験 2: 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/kg) 投与群, HCB (0.1, 1.0, 10.0 mg/kg) 投与群に分けて使用した。また, 経日変化の実験では, 1群 3~4羽として, 対照群, 0.5 mg/kg 投与群の2群に分けて使用した。

PCB は, それぞれの用量をサラダ油 (1 ml/kg) に溶かし, 腹腔内に1回投与した。なお, 対照群には, サラダ油のみを投与した。

### 3. 肝 9000×g 上清の調製法

ニワトリは, PCB 投与後, 水, 餌は自由に与え, 屠殺前12時間を絶食させた。用量変化の実験では15日目に, 経日変化の実験では, 1, 3, 6, 10, 15日目に屠殺した。

屠殺後, 解剖して水腫の発現等を観察した後, 肝臓, 脾臓を摘出し秤量した。肝臓は, 生理食塩水にて灌流後細片にして, 氷冷した 0.25 M ショ糖-0.1 mM EDTA-10 mM Tris-HCl (pH 7.5) 溶液中で, テフロンホモジナイザーを用いてホモジナイズし, 25% ホモネートとした。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. 酵素活性等の測定

P-450 含量<sup>9)</sup> の測定は, 常法に従って行った。ベンゾ(a)ピレン 3-水酸化活性<sup>10)</sup>, ベンツフェタミン N-脱メチル化活性<sup>21)</sup> は, それぞれ 3-ヒドロキシベンゾ(a)ピレン, ホルムアルデヒドの生成量を測定し, DT-ジアホラーゼ活性<sup>4)</sup> は, DCPIP の還元量を求める常法に従った。肝総脂質量は, Folch らの方法<sup>5)</sup> により求め, 肝中残留 PCB 量は, 抽出した総脂質の n-ヘキサン溶液を試料とし, 電子捕獲型検出

器付ガスクロマトグラフを用いて定量した。タンパク質の定量は、Lowry らの方法<sup>8)</sup>によった。

## 結 果

### 1. ニワトリに及ぼす PenCB 投与量の影響

#### 1) 急性毒性

Fig. 1 に、15 日間の体重増加量の変化を示す。対照群に比較して、PenCB 投与群は、20, 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  投与群で、ともに8日目から有意な体重増加の抑制が認められた。データは示していないが、実験2のヒナにおいても、PenCB の用量の増加に依存して、体重増加抑制が確認された。

Table 1 に、ヒナの死亡及び解剖時に認められた心嚢水腫、腹水、腎の浮腫性肥大に起因する白色化の発現数と発現率を示した。実験1では、50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群で5羽中2羽が、実験2では、500, 1000, 5000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  群の11羽中、それぞれ1, 1, 6羽が、15日間で死亡した。5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で心嚢水腫、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  で腎の白色化が観察でき、100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  より腹水も認められ、それらは、用量依存的に発現率が上昇し、程度も悪化した。

Table 2 には、100 g 体重当りの肝と脾の重量を示した。有意な肝肥大、及び脾臓の萎縮がそれぞれ5, 及び20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  より認められ、用量に依存して悪化し

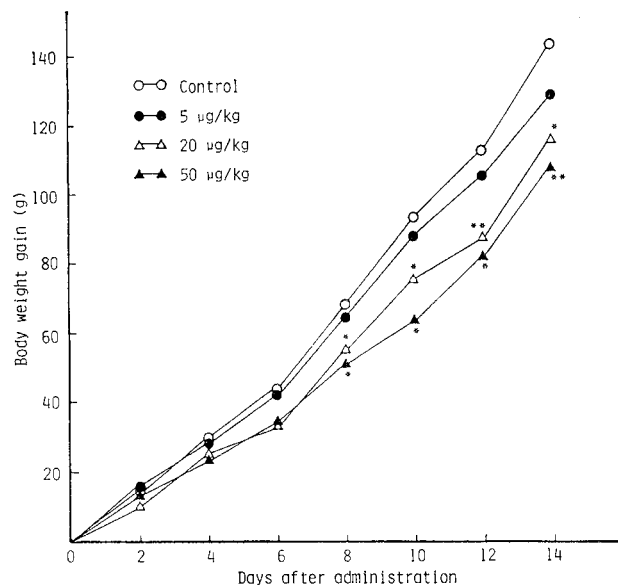


Fig. 1. Effect of PenCB Dose on Body Weight Gain of Chickens (Experiment (1))

Each point represents the mean value of body weight gain of survival chickens, ( $n=3-6$ ).

\*( $p<0.05$ ), \*\*( $p<0.01$ ).

た。なお、データには示していないが、肝の総脂質量は、投与群と対照群の間に何ら差は認められなかった。

#### 2) 肝酵素誘導作用

Fig. 2 に各酵素活性を、対照群との相対活性で示した。これから明らかなように、5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の微量の投

Table 1. Effect of PenCB Dose on Pathologic Observation in Chickens

| Dose( $\mu\text{g/kg}$ ) | No. of death /no. of treated | Hydropericardium |               |        | Abdominal edema |               |        | Paleness of kidney |               |        |
|--------------------------|------------------------------|------------------|---------------|--------|-----------------|---------------|--------|--------------------|---------------|--------|
|                          |                              | Dead chickens    | Live chickens | (%)    | Dead chickens   | Live chickens | (%)    | Dead chickens      | Live chickens | (%)    |
| Experiment (1)           |                              |                  |               |        |                 |               |        |                    |               |        |
| 0                        | 0/ 6                         | —                | 0             | ( 0 )  | —               | 0             | ( 0 )  | —                  | 0             | ( 0 )  |
| 5                        | 0/ 6                         | —                | 1             | (16.7) | —               | 0             | ( 0 )  | —                  | 0             | ( 0 )  |
| 20                       | 0/ 6                         | —                | 3             | (50.0) | —               | 0             | ( 0 )  | —                  | 2             | (33.3) |
| 50                       | 2/ 5                         | 2                | 2             | (80.0) | 0               | 0             | ( 0 )  | 2                  | 1             | (60.0) |
| Experiment (2)           |                              |                  |               |        |                 |               |        |                    |               |        |
| 0                        | 0/11                         | —                | 0             | ( 0 )  | —               | 0             | ( 0 )  | —                  | 0             | ( 0 )  |
| 50                       | 0/11                         | —                | 8             | (72.7) | —               | 0             | ( 0 )  | —                  | 2             | (18.2) |
| 100                      | 0/11                         | —                | 8             | (72.7) | —               | 1             | ( 9.1) | —                  | 5             | (45.5) |
| 500                      | 1/11                         | 1                | 10            | (100 ) | 1               | 3             | (36.4) | 1                  | 9             | (90.9) |
| 1000                     | 1/11                         | 1                | 10            | (100 ) | 0               | 4             | (36.4) | 1                  | 9             | (90.9) |
| 5000                     | 6/11                         | 6                | 5             | (100 ) | 3               | 2             | (45.5) | 6                  | 5             | (100 ) |

**Table 2.** Effect of PenCB Dose on Organ Weights of Chickens

| Dose<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) | No. | Organ weight (g/100 g of body weight) |        |                      |        |
|------------------------------|-----|---------------------------------------|--------|----------------------|--------|
|                              |     | Liver                                 |        | Spleen               |        |
| Experiment (1)               |     |                                       |        |                      |        |
| 0                            | 6   | 2.45 $\pm$ 0.128                      | (1.00) | 0.145 $\pm$ 0.014    | (1.00) |
| 5                            | 6   | 2.66 $\pm$ 0.152*                     | (1.09) | 0.120 $\pm$ 0.040    | (0.83) |
| 20                           | 6   | 3.01 $\pm$ 0.296**                    | (1.23) | 0.085 $\pm$ 0.042*   | (0.59) |
| 50                           | 3   | 3.14 $\pm$ 0.086***                   | (1.28) | 0.082 $\pm$ 0.004*** | (0.57) |
| Experiment (2)               |     |                                       |        |                      |        |
| 0                            | 11  | 3.35 $\pm$ 0.301                      | (1.00) | 0.126 $\pm$ 0.012    | (1.00) |
| 50                           | 11  | 3.78 $\pm$ 0.152*                     | (1.13) | 0.082 $\pm$ 0.017**  | (0.65) |
| 100                          | 11  | 3.79 $\pm$ 0.206*                     | (1.13) | 0.075 $\pm$ 0.014*** | (0.60) |
| 500                          | 10  | 4.33 $\pm$ 0.350**                    | (1.30) | 0.079 $\pm$ 0.014*** | (0.62) |
| 1000                         | 10  | 4.34 $\pm$ 0.331**                    | (1.30) | 0.065 $\pm$ 0.018*** | (0.52) |
| 5000                         | 5   | 4.47 $\pm$ 0.462**                    | (1.33) | 0.067 $\pm$ 0.005*** | (0.53) |

Each value is expressed as the mean $\pm$ S. D. of chickens, and those in parentheses are relative ratio to control.

\*( $p < 0.05$ ), \*\*( $p < 0.01$ ), \*\*\*( $p < 0.001$ ).

**Table 3.** Time Course of Pathologic Observation in Chickens after Treatment with 0.5 mg/kg PenCB.

| Days after administration | No. | Death |      | Hydro-pericardium |       | Abdominal edema |      | Paleness of kidney |       |
|---------------------------|-----|-------|------|-------------------|-------|-----------------|------|--------------------|-------|
|                           |     | No.   | (%)  | No.               | (%)   | No.             | (%)  | No.                | (%)   |
| 1                         | 4   | 0     | (0)  | 0                 | (0)   | 0               | (0)  | 0                  | (0)   |
| 3                         | 4   | 0     | (0)  | 2                 | (50)  | 0               | (0)  | 0                  | (0)   |
| 6                         | 4   | 0     | (0)  | 3                 | (75)  | 0               | (0)  | 3                  | (75)  |
| 10                        | 4   | 0     | (0)  | 4                 | (100) | 0               | (0)  | 4                  | (100) |
| 15                        | 4   | 2     | (50) | 4                 | (100) | 2               | (50) | 4                  | (100) |
| Control                   | 15  | 0     | (0)  | 0                 | (0)   | 0               | (0)  | 0                  | (0)   |

与群ですでに、すべての活性が有意な増加を示した。特に、P-450 含量及びベンゾ(a)ピレン水酸化活性は、用量の増加に伴い著しく上昇した。それらは、500  $\mu\text{g/kg}$  で最大に達し、それぞれ対照群の 12.7, 8.7 倍に誘導された。5000  $\mu\text{g/kg}$  投与群では、すべての酵素活性が低下しているが、これは強い毒性のため肝機能の低下を招いたものと思われる。また、対照群と各投与群のマイクロゾームの SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った結果、用量の増加とともに、P-450 であろうと推察される分子量 56,000 のバンドが増加していることも判明した。

## 2. PenCB の二ワトリに及ぼす経日的な影響

### 1) 急性毒性

PenCB 0.5 mg/kg 1 回腹腔内に投与したヒナで

は、体重の有意な増加抑制が、4 日目より認められ、15 日目に投与群の 2 羽が死亡した。

投与後、1, 3, 6, 10, 15 日目の解剖所見を Table 3 に、100 g 重量当りの肝、脾臓重量の変化を Table 4 に示した。投与後、3 日目には、心嚢水腫が、6 日目には腎の白色化や肝肥大が、また 15 日目には脾臓の萎縮が認められた。それらの程度は、経日的に悪化し、死亡した 2 羽には、腹水も観察された。なお、肝総脂質量の変化は 15 日目まで認められなかった。

### 2) 肝酵素誘導作用

投与後 1 日目ですでに、P-450 含量、ベンゾ(a)ピレン水酸化活性、ベンツフェタミン N-脱メチル化活性、DT-ジアホラーゼ活性は、それぞれ対照群の 4.2, 4.2, 2.4, 1.5 倍と有意な上昇が認められた。

その後、P-450 含量、及びベンゾ(a)ピレン水酸化活性は、ほぼ経日的に上昇を続け、15日目にはそれぞれ 18.6, 10.3 倍まで誘導された。これに対し、ペンツフェタミン N-脱メチル化活性、DT-ジアホラーゼ活性は、1日目以降は顕著な誘導を受けなかった (Fig. 3)。

### 3. HCB のニワトリに及ぼす影響

HCB 0.1, 1.0, 及び 10.0 mg/kg の 1 回腹腔内投与後の 15 日間に、対照群と投与群の体重増加には特に差は認められなかった。また、解剖時に、心臓水腫などの水腫も認められなかった。

Table 5 に示すように、肝重量に変化はないが、脾臓では、0.1, 1.0 mg/kg 投与群で萎縮がみられた。また、Table 6 に示すように、PB型 PCB で誘導されるペンツフェタミン N-脱メチル化活性ですら、検討した用量では全く変化が認められなかった。

### 4. 肝中 PCB 残存率

Table 7 に、投与後 15 日目における PenCB, HCB の肝中残存率を、Table 8 に、肝中 PenCB 残存率の経日変化を示した。肝に残存する PenCB は、いずれの用量あるいは、経過日数においても、3~7% で大きな相違はみられず、ラットの 5 日目の肝残存率が約 80% にも上昇する<sup>18)</sup> のに比べ、極めて低い値であったし、HCB の残存率は、さらに低く PenCB の約 1/10 であった。一方、ラットにおける HCB の残存率は、PenCB の約 1/20 程度であり、PenCB との比較でいえば、ラットと同様な傾向を示していると考えられた。

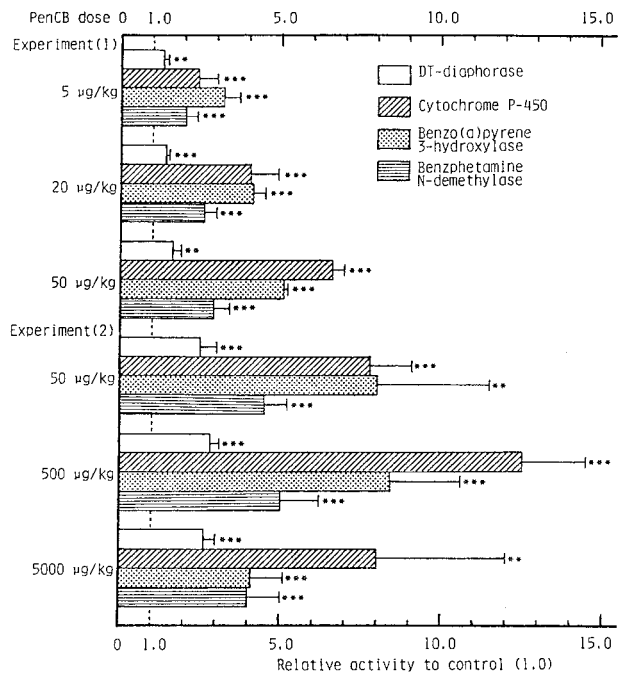


Fig. 2. Effect of PenCB Pretreatment on Liver Enzyme Activities of Chickens

The enzyme activities in the controls of Experiment (1) and Experiment (2) were given, respectively, as follows (mean  $\pm$  S.D.): DT-diaphorase  $0.155 \pm 0.018$  and  $0.154 \pm 0.029$   $\mu$ mol DCPIP reduced/min/mg protein; cytochrome P-450  $0.021 \pm 0.003$  and  $0.019 \pm 0.004$  nmol/mg protein; benzo (a) pyrene 3-hydroxylase  $33.05 \pm 5.68$  and  $76.22 \pm 45.99$  pmol 3-hydroxybenzo (a) pyrene formed/min/mg protein; benphetamine N-demethylase  $0.488 \pm 0.095$  and  $0.290 \pm 0.116$  nmol HCHO formed/min/mg protein.

\*\* ( $p < 0.01$ ), \*\*\* ( $p < 0.001$ ).

PenCB 残存率の経日変化では、15日目においても残存率はわずかしき低下しておらず、その強い肝残存性が示された。

Table 4. Time Course of Organ Weights of Chickens after Treatment with 0.5 mg/kg PenCB

| Days after administration | Liver (g/100 g body weight) |                         | Spleen (g/100 g body weight) |                          |
|---------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------------|--------------------------|
|                           | Control                     | PenCB                   | Control                      | PenCB                    |
| 1                         | $4.06 \pm 0.890(1.00)$      | $3.75 \pm 0.253(0.92)$  | $0.067 \pm 0.004(1.00)$      | $0.074 \pm 0.012(1.10)$  |
| 3                         | $3.76 \pm 0.040(1.00)$      | $4.32 \pm 0.577(1.15)$  | $0.085 \pm 0.006(1.00)$      | $0.071 \pm 0.012(0.83)$  |
| 6                         | $3.19 \pm 0.135(1.00)$      | $4.24 \pm 0.375*(1.33)$ | $0.098 \pm 0.023(1.00)$      | $0.081 \pm 0.004(0.82)$  |
| 10                        | $3.11 \pm 0.303(1.00)$      | $3.96 \pm 0.348*(1.27)$ | $0.110 \pm 0.010(1.00)$      | $0.081 \pm 0.023(0.74)$  |
| 15                        | $3.33 \pm 0.196(1.00)$      | $4.43 \pm 0.524*(1.33)$ | $0.142 \pm 0.034(1.00)$      | $0.086 \pm 0.010*(0.61)$ |

Each value is expressed as the mean  $\pm$  S.D. of chickens, and those in parentheses are relative ratio to control. \* ( $p < 0.05$ ).

Table 5. Effect of HCB Dose on Organ Weights of Chickens

| Dose (mg/kg) | Organ weight (g/100 g of body weight) |                      |
|--------------|---------------------------------------|----------------------|
|              | Liver                                 | Spleen               |
| 0            | 2.52±0.110 (1.00)                     | 0.133±0.014 (1.00)   |
| 0.1          | 2.66±0.196 (1.06)                     | 0.099±0.028* (0.74)  |
| 1.0          | 2.56±0.160 (1.02)                     | 0.089±0.014** (0.67) |
| 10.0         | 2.46±0.061 (0.98)                     | 0.126±0.010 (0.95)   |

Each value is expressed as the mean±S.D. of 6 chickens, and those in parentheses are relative ratio to control.

Table 6. Effect of HCB Pretreatment on Liver Enzyme Activities of Chickens

| Dose (mg/kg) | DT-diaphorase <sup>1)</sup> | Cytochrome P-450 <sup>2)</sup> | Benzo(a)pyrene 3-hydroxylase <sup>3)</sup> | Benzphetamine N-demethylase <sup>4)</sup> |
|--------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------|
| 0            | 0.266±0.029(1.00)           | 30.94±7.24(1.00)               | 82.09±22.80(1.00)                          | 0.553±0.090(1.00)                         |
| 0.1          | 0.276±0.025(1.04)           | 34.33±7.89(1.11)               | 70.69±22.46(0.86)                          | 0.478±0.161(0.86)                         |
| 1.0          | 0.270±0.014(1.02)           | 33.68±4.22(1.09)               | 65.71±20.47(0.80)                          | 0.500±0.081(0.90)                         |
| 10.0         | 0.289±0.040(1.09)           | 34.72±11.41(1.12)              | 95.27±21.24(1.16)                          | 0.599±0.237(1.08)                         |

1)  $\mu\text{mol}$  DCPIP reduced/min/mg protein. 2) nmol/mg protein. 3) pmol 3-hydroxybenzo(a)-pyrene formed/min/mg protein. 4) nmol HCHO formed/min/mg protein. Each value is expressed as the mean±S.D. of 6 chickens, and those in parentheses are relative ratio to control.

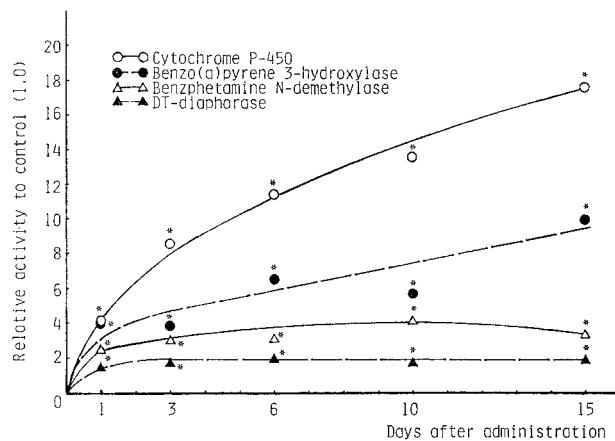


Fig. 3. Time Course of Liver Enzyme Activities of Chickens after Treatment with 0.5 mg/kg PenCB

The enzyme activities in the controls (15 chickens) were given, respectively, as follows (mean±S.D.): DT-diaphorase  $0.164\pm0.021$   $\mu\text{mol}$  DCPIP reduced/min/mg protein; cytochrome P-450  $0.013\pm0.005$  nmol/mg protein; benzo (a) pyrene 3-hydroxylase  $44.32\pm20.11$  pmol 3-hydroxybenzo (a) pyrene formed/min/mg protein; benzphetamine N-demethylase  $0.344\pm0.104$  nmol HCHO formed/min/mg protein.

\* ( $p<0.001$ ).

## 考 察

PenCB のヒナに対する急性毒性は、すでに知られているような体重増加抑制、水腫、肝肥大、脾臓の萎縮等が用量依存的に、あるいは経的に強く認められることが明らかとなった。特に、心嚢水腫の発現は特徴的で、 $5\mu\text{g/kg}$  (15日目) という低用量からも認められた。一方、肝臓の総脂質の定量も行ったが、ラットにおけるような顕著な脂肪肝の生成はみられず、対照群と投与群の間には、全く差が認められなかった。

また、PenCB の酵素誘導作用は、 $5\mu\text{g/kg}$  (15日目) の低用量でも、また1日目 ( $0.5\text{ mg/kg}$ ) という早い時期においても、今回調べたすべての酵素活性が、対照群に比べ有意な上昇を示しており、極めて強力なものであることが判明した。しかし、ラットやマウスで、毒性の強さとよい相関を示した DT-ジアホラーゼ活性は、ヒナにおいては、2～3 倍の誘導しか認められな

Table 7. Quantitative Analysis for PCBs Remaining in the Chicken Liver at 15 Days after the Administration

| Dose (mg/kg) |      | % of Dose |
|--------------|------|-----------|
| PenCB        | 0.05 | 6.58±3.14 |
|              | 0.5  | 3.46±0.32 |
|              | 5.0  | 3.68±3.33 |
| HCB          | 0.1  | 0.35±0.30 |
|              | 1.0  | 0.40±0.05 |
|              | 10.0 | 0.18±0.05 |

Each value is expressed as the mean±S.D. of 5 or 6 chickens.

かった。このことは、DT-ジアホラーゼが毒性発現と関与しないとも考えられるが、Benson ら<sup>11)</sup>、及び Schor ら<sup>12)</sup> が主張するように、DT-ジアホラーゼが誘導され、細胞毒性への解毒機能を果すとすれば、本酵素がほとんど誘導されないヒナやモルモットにおいて、毒性が強く発現するということは、興味深い知見であると考えられた。また、ラットで PB 型 PCB に特徴的に誘導されるベンツフェタミン N-脱メチル化活性は、MC 型 PCB では抑制されることが知られているが、ヒナにおいては、PenCB で 2～5 倍程度の誘導を受けることが明らかとなった。

一方、P-450 含量及びベンゾ (a) ピレン 3-水酸化活性は、PenCB で最高 10～15 倍に誘導された。PenCB による毒性の強度と、それらの酵素誘導の強さは、用量依存的にも、また、経日的には酵素誘導がやや先行するものの、よい相関を示すことが判明した。さらに、P-450 含量の上昇率から考えると、今回測定を行った基質以外に、誘導された P-450 種により特有の基質があることが示唆された。近年、Rif-kind ら<sup>13)</sup> は、3,4,3',4'-テトラクロロビフェニル (5nmol/egg) で、鶏卵肝中の 7-エトキシレゾルフィン O-脱エチル化活性が 50 倍に上昇すること、また、Ehrich ら<sup>3)</sup> の若鶏 (20～40 週令) に Aroclor 1254 (500 mg/kg, i.p., 8 日目) を投与した実験では、p-ニトロアニソール O-脱メチル化活性及びアニリン水酸化活性が約 2.5 倍上昇することなどを報告している。

他方、ラットで顕著な PB 型の誘導を示す HCB では、ヒナにおいては 10 mg/kg 投与群でも、ベンツフェタミン N-脱メチル化活性をはじめとするすべての酵素活性の誘導は、認められなかった。また、ラットと同様、毒性の発現はみられなかった。

Table 8. Time Course of PenCB Levels in Chicken Liver after Treatment with 0.5 mg/kg PenCB

| Days after administration | % of Dose |
|---------------------------|-----------|
| 1                         | 5.7 ± 0.6 |
| 3                         | 6.9 ± 1.7 |
| 6                         | 4.4 ± 1.8 |
| 10                        | 4.9 ± 1.5 |
| 15                        | 3.8 ± 0.8 |

Each value is expressed as the mean±S.D. of 4 chickens.

肝中 PCB の残存率は、PenCB, HCB とともに投与量にあまり関係なく、それぞれ投与量の約 4%, 及び 0.4% であった。PenCB はラットに比べかなり肝貯留性が低いとはいえ、HCB の約 10 倍高い肝貯留性を示している。なお、HCB については、ラット同様、肝臓よりも、脂肪組織に貯留しやすいことが、近年 Hansen ら<sup>6)</sup> によって報告されている。また、ラットに比べ約 1/15～1/20 のレベルではあるが、PenCB の肝貯留量は 15 日間に亘ってわずかに減少するのみで、その強い肝残留性はラットと同様といえる。

以上、ヒナにおいては、PCB 各異性体は、ラットでみられたのとはやや異なり、P-450 含量及びベンゾ (a) ピレン水酸化活性の著しい誘導に並行して、毒性を増加させることを明らかにした。これらは、PCB の毒性発現の指標となり得ることに加えて、P-450 分子種の強力な誘導により、様々な内因性基質の代謝異常が生じ、生体内の恒常性が乱されている可能性が示唆された。

## 総 括

ラット及びマウスにおいては、単一 PCB のうち MC 型の PCB のみ、強い急性毒性を示し、その強さと相関して、肝ミクロゾームのベンゾ (a) ピレン水酸化酵素及び可溶性画分の DT-ジアホラーゼが誘導されることが知られている。一方、鳥類では PCB により、水腫等の毒性が発現することが知られているが、肝酵素誘導作用については不明な点が多い。そこで今回、MC 型 PCB である 3,4,5,3',4'-ペンタクロロビフェニル (PenCB)、及び PB 型 PCB の 2,4,5,2',4',5'-ヘキサクロロビフェニル (HCB) を用いて、毒性と肝酵素誘導作用について検討した。その結果、PenCB はヒナにおいてラットのような

DT-ジアホラーゼの強い誘導は行わず、その代りP-450 量及びベンゾ(a)ピレン水酸化活性の著しい増加を示した。また、その誘導の強さに並行して、強い毒性が発現した。一方、PB型のHCBは、極めて毒性が弱く、また、10 mg/kg投与群においても、何ら肝酵素活性の変化を示さなかった。

# 文 献

- 1) Benson, A. H., Hunkeler, M. J. and Talaly, P.: Increase of NAD(P)H: quinone reductase by dietary antioxidants: Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77: 5216-5200, 1980.
- 2) Cecil, H. C., Bitman, J., Lillile, R. J., Freis, G. F. and Verrett, J.: Embryotoxic and teratogenic effects in unhatched fertile eggs from hens fed polychlorinated biphenyls(PCBs). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 11: 489-494, 1974.
- 3) Ehrich, M. and Larsen, C.: Drug metabolism in adult White Leghorn hens-Response to enzyme inducers. *Comp. Biochem. Physiol.* 74: 383-386, 1983.
- 4) 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.
- 5) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S.: Isolation and purification of total lipids from tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509, 1957.
- 6) Hansen, L. G., Tuinstra, L. G. M. T., Kan, C. A., Strik, J. J. T. W. A. and Koeman, J. H.: Accumulation of chlorobiphenyls in chicken fat and liver after feeding Aroclor 1254 directly or fat from swine fed Aroclor 1254. *J. Agric. Food Chem.* 31: 254-260, 1983.
- 7) 五島応安, 坂口謙徳, 小川清文: 油症患者使用ライスオイルならびにカネクロール400の鶏における毒性試験. *福岡医誌* 60: 533-538, 1969.
- 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) Matsubara, T., Koike, M., Touchi, A., Tochino, Y. and Sugeno, K.: Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate. *Anal. Biochem.* 75: 596-603, 1976.
- 10) Nebert, D. W. and Gelboin, H. V.: Substrate inducible microsomal aryl hydroxylase in mammalian cell culture. *J. Biol. Chem.* 243: 6242-6249, 1968.
- 11) Rifkind, A. B., Firpo, J. A. and Alonso, D. R.: Coordinate induction of cytochrome P-448 mediated mixed function oxidases and histopathologic changes produced acutely in chick embryo liver by polychlorinated biphenyl congeners. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 72: 343-353, 1984.
- 12) 佐伯清太郎, 吉原新一, 内野泰治, 吉村英敏: 3, 4, 5, 3', 4'-pentachlorobiphenylの合成について. *福岡医誌* 70: 85-87, 1979.
- 13) Schor, N. A., Boh, E. and Burke, V. T.: Carcinogens and dicoumarol: Opposite effects of rat liver NAD(P)H dehydrogenation. *Enzyme* 23: 217-224, 1978.
- 14) Sinclair, P. R. and Grainck, S.: Uroporphyrin formation induced by chlorinated hydrocarbons. Requirements for endogenous iron, protein synthesis and drug-metabolizing activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 61: 124-133, 1974.
- 15) Vos, J. G. and Koeman, J. H.: Comparative toxicologic study with polychlorinated biphenyl in chickens with special reference to porphyria, edema formation, liver necrosis, and tissue residues. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17: 656-668, 1970.
- 16) 吉原新一, 永田 清, 和田郁夫, 古賀信幸: 3-Methylcholanthrene型PCBによる肝酵素誘導作用と毒性発現について. *福岡医誌* 74: 209-216, 1983.
- 17) 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. Pharmacobio-Dyn.* 5: 994-1004, 1982.
- 18) Yoshihara, S., Nagata, K. and Yoshimura, H.: Different responsiveness of hepatic and pulmonary microsomal mixed function oxidases to phenobarbital-type and 3-methylcholanthrene-type polychlorinated biphenyls in rats. *J. Pharmacobio-Dyn.* 6: 954-962, 1983.
- 19) Yoshimura, H., Ozawa, N. and Saeki, S.: Inductive effect of polychlorinated biphenyls mixture and individual isomers on the hepatic microsomal enzymes. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 26: 1215-1221, 1978.
- 20) 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.
- 21) 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.

## Effects of Chlorinated Dibenzofuran and Dioxin on Concentration and Pattern of Chlorobiphenyls and Activity of Benzo(a)pyrene Hydroxylation in Mice

Junya NAGAYAMA, Chikako KIYOHARA

*Department of Public Health (Director: Prof. Tomio Hirohata),  
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Sumio HANDA,

*Laboratory of Animal Experiments, Faculty of Medicine,  
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Yoshito MASUDA

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

and

Masanori KURATSUNE

*Department of Food and Nutrition, Nakamura Gakuen College,  
Fukuoka 814, Japan*

**ABSTRACT** To experimentally assess whether one of characteristic polychlorinated biphenyls (PCBs) patterns in tissues of Yusho patients is caused with the treatment of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), mice were treated i.p. for 6 consecutive days with Kanechlor (KC)-400 (1.2 mg/kg) alone or KC-400 (1.2 mg/kg) plus 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF, 0.3~30 µg/kg) or KC-400 (1.2 mg/kg) plus 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD, 0.3~30 µg/kg), and 30 days after the last treatment, the animals were killed. Hepatic aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH), one of the representative drug metabolizing enzymes, activity and concentrations of total PCBs, 2,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl (2,4,5,3',4'-PenCB) and 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (2,4,5,2',4',5'-HCB) in the liver, adipose tissue and lungs were determined. A ratio of 2,4,5,3',4'-PenCB to 2,4,5,2',4',5'-HCB in concentration was calculated in the tissues, as this PCB ratio in Yusho patients is characteristically low as compared with that in normal persons. Hepatic AHH activity increased in parallel with the increase in doses of PenCDF or TCDD, and the ratio in every tissue generally showed an increasing tendency in rough proportion to the increase in the enzyme activity, so we failed to experimentally reproduce one of the characteristic PCB patterns of Yusho patients. The result, however, may be explained by genetic polymorphisms of drug metabolism. The time at which samples are analyzed for PCBs after the exposure to PenCDF or TCDD may be also an important factor to detect some peculiar PCB patterns. We also observed decreased concentration of total PCBs in the liver and increased concentration of those in the lung of mice treated with KC-400 plus PenCDF or KC-400 plus TCDD compared with the concentrations in both organs of mice treated with KC-400 alone. At the present time, biological and/or toxicological meanings of the observation is unclear.

### Introduction

It has been reported that gas chromatogram (GC) patterns of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the tissues of Yusho patients are divided into three types, namely, A: peculiar to Yusho patients,

B: resembling to A, and C: similar to PCBs in ordinary persons<sup>6)7)16)</sup>. The majority of the patients (85-95 %) showed the types A or B<sup>7)16)</sup>. Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) as well as PCBs have been determined in the rice oils used by the patients<sup>10)13)</sup> and their several tis-

sues<sup>4),14)</sup>. Since PCDFs showed about 10,000 times greater drug metabolizing enzyme inducing activity than PCBs<sup>12)</sup>, some of PCB isomers ingested by the patients were considered to be easily metabolized by the enzymes induced with the PCDFs and excreted. Consequently, Yusho patients seemed to show the characteristic PCB pattern. We designed to assess whether this characteristic PCB pattern was caused by the treatment of PCDFs. This paper reports main results of such investigation.

## Methods

### 1. Chemicals

2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF) was synthesized and purified as previously described<sup>4)</sup>, and the purity was higher than 99% by GC-mass spectrometry. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) was synthesized by chlorination of dibenzo-*p*-dioxin and the purity was 95% by GC. Kanechlor-400 (KC-400) and KC-500, commercial brands of PCBs of Japanese make, were respectively supplied by the Ministry of Health and Welfare in 1972 and Kanegafuchi Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan in 1968. Benzo (a) pyrene (BP) was purchased from the Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA and purified by recrystallization, according to the method described previously<sup>12)</sup>. 3-Hydroxybenzo (a) pyrene (3-OHBP) was kindly provided by Prof. N. Kinoshita, School of Health Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan. NADPH was obtained from Wako Pure Chemical Ind., Ltd., Osaka, Japan. All other chemicals and reagents used were of the highest quality commercially available.

### 2. Treatment of animals

One inbred strain of male mice, C3H/HeN, was obtained from Institute of Ex-

perimental Animals, Kyushu University, housed in disposable animal cages (five or six mice/cage) with planed-chip bedding and kept in a temperature and humidity controlled room ( $22\pm1^{\circ}\text{C}$  and  $55\pm5\%$ , respectively). The animals were maintained on a diurnal cycle of 12h light/12h darkness and permitted unlimited water and food (CE-2, CLEA Japan, Inc., Tokyo, Japan). At 7 weeks of age, the animals were divided into 8 groups (Table 1). KC-400 alone, KC-400 and PenCDF or KC-400 and TCDD dissolved in olive oil were given i.p. (0.2 ml/25 g of body weight) at daily doses shown in Table 1 for 6 consecutive days. Then the treated mice were maintained on the standard laboratory chow for 30 days. Control mice (Group 1) were given the vehicle alone in a similar volume and on the same time schedules as the experimental animals.

### 3. Enzyme assay

At the end of the experiment, the animals were killed and the livers, lungs and dissectable adipose tissues were washed in ice-cold 0.15 M KCl solution containing 0.02 M N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulphonic acid (HEPES), pH 7.4, and weighed.

For aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) assay, 0.5 g of the livers was minced, and homogenized (Potter-Elvehjem homogenizer with a Teflon pestle) with nine times volumes of ice-cold 0.15 M KCl plus 0.02 M HEPES (pH 7.4). These homogenates were centrifuged at 9,000 g and  $4^{\circ}\text{C}$  for 15 min; the supernatants were used for the AHH assay. AHH activity was determined by the method described previously<sup>12)</sup>. Protein concentration was determined according to the method of Lowry et al<sup>13)</sup>, using bovine serum albumin as a standard.

For chemical analysis of the PCBs,

PenCDF and TCDD, those tissues were stored in a freezer ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) until they were prepared for the analysis.

#### 4. Analytical procedure

The general method of cleaning up samples for gas chromatographic determination was essentially the same as that described in the previous paper.<sup>14)</sup> Samples of adipose tissue (ca. 0.2 g), lung (ca. 0.2 g) and liver (ca. 1.5 g) were first saponified with 1 N-KOH-ethanol solution (50 ml). The n-hexane extract of the KOH-ethanol solution was concentrated and then chromatographed on a column of silica gel (2 g) eluting with n-hexane (150 ml). The n-hexane eluate was concentrated and determined for PCBs by the following gas chromatography. When it was necessary to separate PCBs from PenCDF and TCDD, the concentrated eluate was further fractionated on a column of activated basic alumina (Woelm Pharma, Activity grade I) 1 g, eluting with n-hexane-methylene chloride (99: 1) 20 ml and n-hexane-methylene chloride (4: 1) 20 ml successively. PCBs were expected to be contained in the former eluate and PenCDF or TCDD in the latter. These eluates were concentrated and subjected to the following gas chromatography.

A gas chromatograph GC-4BM (Shimadzu Corp.) was fitted with an electron-capture detector and a glass column (3 mm  $\times$  2 m) containing Chromosorb W AW DMCS (60-80 mesh) coated with 5% SE-30. The temperatures of inlet, column and detector were maintained at 250, 200 and  $250^{\circ}\text{C}$ , respectively. The carrier gas used was 99.999% pure nitrogen at a flow rate of 40 ml/min. Individual PCBs were quantified by the calculation method of Ugawa et al.<sup>17)</sup> by the use of KC-500 as a standard. PenCDF and TCDD were quantitatively determined by comparing the peak areas of their gas chromato-

grams with those of authentic PenCDF and TCDD, respectively. Chromatopac C-RIA (Shimadzu Corp.) was used for determination of the gas chromatographic peak heights and peak areas and calculation of the concentrations.

Statistical differences among AHH values and the levels of the organochlorine compounds were determined using Student's *t*-test.

### Results

#### 1. Induction of hepatic AHH activity by the treatment with KC-400, KC-400+PenCDF and KC-400+TCDD

Thirty days after the last treatment of the organochlorine compounds, hepatic AHH activity was assayed and the results are summarized in Table 1. KC-400 at a daily dose of 1.2 mg/kg (Group 2) and KC-400 (1.2 mg/kg) plus PenCDF (0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Group 3) slightly induced the activity and induction ratios (induced/control) were 1.7 and 2.0, respectively ( $P < 0.05$ ). On the other hand, KC-400 (1.2 mg/kg) plus TCDD (0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Group 6) significantly elicited and retained very high AHH activity (induction ratio; 15.0,  $P < 0.001$ ). According as the dose of PenCDF or TCDD increased (0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  to 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), the activity and the induction ratio went up. Although doses of PenCDF were 10 times higher than those of TCDD, induced AHH activities and induction ratios were almost the same between Groups 4 and 6 or between Groups 5 and 7. Group 8 (KC-400 plus 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of TCDD) showed the highest AHH activity (3612 pmol/min/mg) and the highest induction ratio (66.9).

#### 2. Changes in total PCBs concentration in the liver, adipose tissue and lungs.

Total PCBs concentrations in the liver, adipose tissue and lungs of mice 30 days after the treatments were determined and

**Table 1.** Inducing effects of KC-400, KC-400+PenCDF and KC-400+TCDD on hepatic AHH activity.

| Group | Treatment <sup>a</sup>    | No. of animals | AHH activity <sup>b</sup><br>(pmol/min/mg protein) | Induction ratio<br>(I/C <sup>c</sup> ) |
|-------|---------------------------|----------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1     | Control                   | 5              | 54 ± 2                                             | —                                      |
| 2     | KC-400 <sup>d</sup>       | 5              | 90 ± 8                                             | 1.7                                    |
| 3     | KC-400+PenCDF (0.3 µg/kg) | 5              | 109 ± 12                                           | 2.0                                    |
| 4     | KC-400+PenCDF (3.0 µg/kg) | 5              | 938 ± 30*                                          | 17.4                                   |
| 5     | KC-400+PenCDF (30 µg/kg)  | 6              | 2651 ± 134*                                        | 49.1                                   |
| 6     | KC-400+TCDD (0.3 µg/kg)   | 5              | 809 ± 84*                                          | 15.0                                   |
| 7     | KC-400+TCDD (3.0 µg/kg)   | 5              | 2500 ± 118*                                        | 46.3                                   |
| 8     | KC-400+TCDD (30 µg/kg)    | 4 <sup>e</sup> | 3612 ± 204*                                        | 66.9                                   |

a : Each treatment was done daily for 6 days and 30 days after the last treatment, hepatic AHH activity and concentration of the organochlorine compounds in mouse tissues were determined.

b : Mean ± S. E.

c : I=KC-400, KC-400+PenCDF or KC-400+TCDD-induced; C=control

d : 1.2 mg/kg

e : Two of six mice died before sacrifice.

\*: Significantly different from control (Group 1),  $p < 0.001$ .

**Table 2.** Total PCBs concentration (ppb) in the tissues of mice 30 days after the treatment with KC-400, KC-400+PenCDF, or KC-400+TCDD

| Group | Treatment <sup>a</sup>    | Liver                         | Adipose tissue | Lung          |
|-------|---------------------------|-------------------------------|----------------|---------------|
| 1     |                           | 13 ± 18 (5)                   | 83 ± 89(5)     | 15 ± 21 (5)   |
| 2     | KC-400                    | 350 ± 98 (3)                  | 3190 ± 1290(5) | 36 ± 17 (5)   |
| 3     | KC-400+PenCDF (0.3 µg/kg) | 100 ± 9*** (5)<br>[4.8 ± 0.6] | 1970 ± 430(5)  | 59 ± 30 (5)   |
| 4     | KC-400+PenCDF (3.0 µg/kg) | 67 ± 14*** (5)<br>[72 ± 16]   | 2330 ± 140(5)  | 76 ± 13**(4)  |
| 5     | KC-400+PenCDF (30 µg/kg)  | 166 ± 220 (5)<br>[1030 ± 61]  | 2260 ± 230(6)  | 138 ± 56**(6) |
| 6     | KC-400+TCDD (0.3 µg/kg)   | 73 ± 13** (3)<br>[12 ± 4.3]   | 2770 ± 150(3)  | 116 ± 53* (3) |
| 7     | KC-400+TCDD (3.0 µg/kg)   | 106 ± 42* (3)<br>[55 ± 12]    | 2040 ± 290(3)  | 130 ± 81* (3) |
| 8     | KC-400+TCDD (30 µg/kg)    | 204 ± 33 (3)<br>[315 ± 19]    | 3160 ± 800(3)  | 81 ± 35* (3)  |

Figures in brackets indicate concentrations (ppb) of PenCDF or TCDD (mean ± SD).

Figures in parentheses indicate number of tissues analyzed.

a : Procedure of the treatment is the same as described in legend of Table 1.

\*: Significantly different from Group 2,  $p < 0.05$

\*\* : Significantly different from Group 2,  $p < 0.01$

\*\*\*: Significantly different from Group 2,  $p < 0.001$

results are summarized in Table 2. Concentrations of PenCDF and TCDD in the liver are also shown in Table 2. In the liver, the PCBs concentrations of Groups 3 and 4 respectively treated with KC-400+PenCDF (total: 1.8 µg/kg) and KC-400+PenCDF (total: 18 µg/kg) and

those of Groups 6 and 7 treated with KC-400+TCDD (total: 1.8 µg/kg) and KC-400+TCDD (total: 18 µg/kg), respectively, were significantly lower than that of Group 2 treated with KC-400 alone. Groups 5 and 8, which were treated respectively with KC-400 plus PenCDF

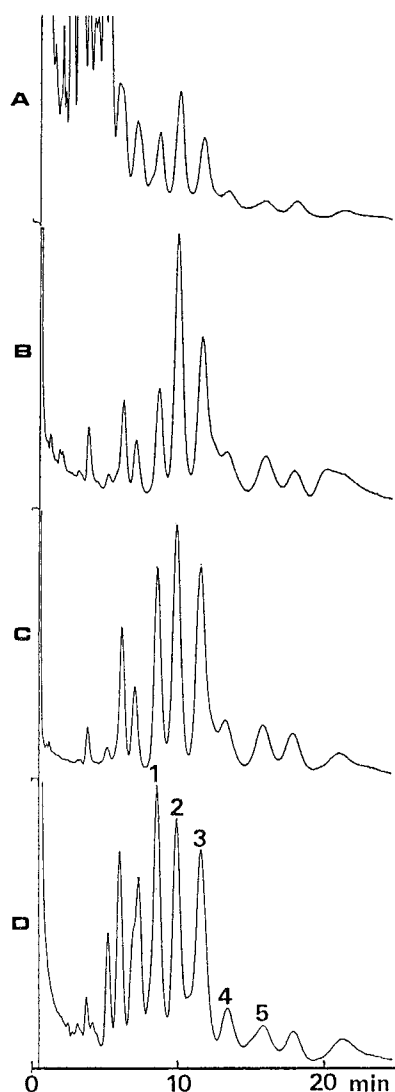


Fig. 1. Gas chromatograms of PCBs from the liver of mice.

A: KC-400 (total: 7.2 mg/kg) alone, B: KC-400 (total: 7.2 mg/kg) + PenCDF (total: 18  $\mu$ g/kg), C: KC-400 (total: 7.2 mg/kg) + TCDD (total: 18  $\mu$ g/kg), D: KC-500 (reference standard). Peaks 1, 2 and 3 correspond to 2, 4, 5, 3', 4'-PenCB, 2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB and 2, 3, 4, 5, 3', 4'-HCB, respectively.

(total: 180  $\mu$ g/kg) and KC-400 plus TCDD (total: 180  $\mu$ g/kg), also showed the decreased PCB concentration in the liver compared with Group 2. Conversely, in the lungs, PCBs levels of Groups 4, 5, 6,

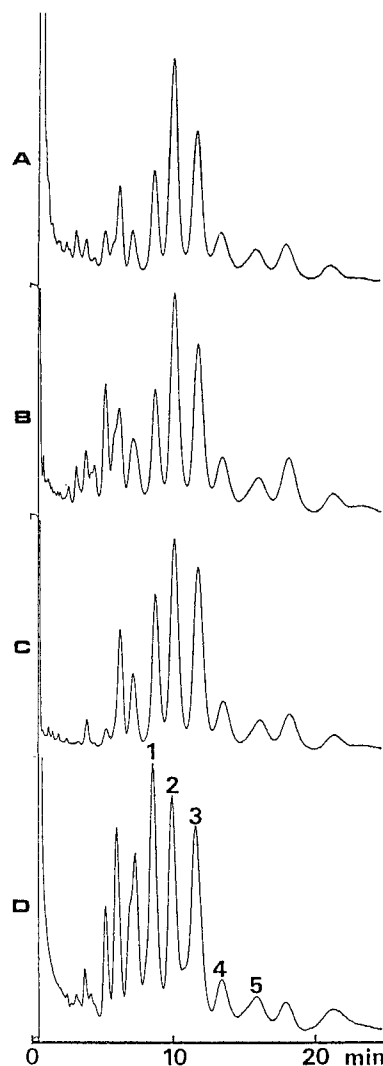


Fig. 2. Gas chromatograms of PCBs from the adipose tissue of mice.

A: KC-400 (total: 7.2 mg/kg) alone, B: KC-400 (total: 7.2 mg/kg) + PenCDF (total: 18  $\mu$ g/kg), C: KC-400 (total: 7.2 mg/kg) + TCDD (total: 18  $\mu$ g/kg), D: KC-500 (reference standard). Peaks 1, 2 and 3 correspond to 2, 4, 5, 3', 4'-PenCB, 2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB and 2, 3, 4, 5, 3', 4'-HCB, respectively.

7 and 8 were significantly higher than that of Group 2; particularly, those of Groups 3, 4 and 5 had a tendency to increase in proportion to the dose of PenCDF. PCBs levels in the adipose tissue did not show any significant difference

**Table 3.** Concentration (ppb) and ratio (%) of PCBs corresponding to peaks (Pk) 1 and 2 in the tissues of mice 30 days after treatment with KC-400, KC-400+PenCDF, or KC-400+TCDD

| Group | Treatment <sup>a)</sup>          |           | Liver         | Adipose tissue | Lung         |
|-------|----------------------------------|-----------|---------------|----------------|--------------|
| 2     | KC-400                           | Pk 1      | 24.1 ± 5.2    | 325 ± 128      | 3.6 ± 0.6    |
|       |                                  | Pk 2      | 32.0 ± 3.6    | 582 ± 120      | 9.7 ± 1.6    |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 75.1 ± 12     | 54.3 ± 16.4    | 37.0 ± 5.4   |
| 3     | KC-400+<br>PenCDF<br>(0.3 µg/kg) | Pk 1      | 13.1 ± 1.5**  | 309 ± 50       | 5.1 ± 2.3    |
|       |                                  | Pk 2      | 19.1 ± 1.2*** | 457 ± 101      | 15.2 ± 6.0   |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 68.6 ± 4.6    | 68.5 ± 6.4     | 33.4 ± 3.1   |
| 4     | KC-400+<br>PenCDF<br>(3.0 µg/kg) | Pk 1      | 8.9 ± 3.2**   | 361 ± 80       | 4.9 ± 0.8*   |
|       |                                  | Pk 2      | 18.5 ± 2.7*** | 543 ± 74       | 14.1 ± 1.9*  |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 47.4 ± 14.1*  | 66.2 ± 9.6     | 34.9 ± 6.2   |
| 5     | KC-400+<br>PenCDF<br>(30 µg/kg)  | Pk 1      | 24.2 ± 2.3    | 444 ± 43       | 14.9 ± 6.6*  |
|       |                                  | Pk 2      | 71.1 ± 20.1*  | 492 ± 66       | 24.1 ± 10.1* |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 36.8 ± 12.6** | 91.0 ± 10.8**  | 61.6 ± 5.8** |
| 6     | KC-400+<br>TCDD<br>(0.3 µg/kg)   | Pk 1      | 8.4 ± 2.3**   | 354 ± 91       | 8.1 ± 1.0*** |
|       |                                  | Pk 2      | 17.3 ± 1.7**  | 702 ± 23       | 29.3 ± 18.9  |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 49.4 ± 16.9   | 50.4 ± 13.6    | 35.4 ± 18.6  |
| 7     | KC-400+<br>TCDD<br>(3.0 µg/kg)   | Pk 1      | 23.9 ± 10.0   | 404 ± 43       | 12.1 ± 5.1*  |
|       |                                  | Pk 2      | 23.1 ± 9.3    | 451 ± 40       | 24.7 ± 11.6* |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 103 ± 5.1*    | 89.7 ± 6.0*    | 50.8 ± 12.8  |
| 8     | KC-400+<br>TCDD<br>(30 µg/kg)    | Pk 1      | 40.3 ± 3.8*   | 613 ± 174      | 9.3 ± 2.4**  |
|       |                                  | Pk 2      | 37.2 ± 6.8    | 544 ± 139      | 15.7 ± 6.4   |
|       |                                  | Pk 1/Pk 2 | 110 ± 11.8*   | 112 ± 3.2**    | 61.6 ± 8.1   |

Values are mean ± S.D.

a : Procedure of the treatment is the same as shown in legend of Table 1.

\*: Significantly different from Group 2,  $p < 0.05$

\*\*: Significantly different from Group 2,  $p < 0.01$

\*\*\*: Significantly different from Group 2,  $p < 0.001$

among the Groups, excepting Group 1 (olive oil control).

### 3. Changes in concentration and ratio of PCB isomers corresponding to peaks 1 and 2

Figures 1 and 2 respectively show typical GC of PCBs extracted from the liver and adipose tissue of mice 30 days after the daily treatment with KC-400 (1.2 mg/kg), KC-400 (1.2 mg/kg) + PenCDF (3 µg/kg) or KC-400 (1.2 mg/kg) + TCDD (3 µg/kg) for 6 days. In the figures, peaks 1 and 2 correspond to 2, 4, 5, 3', 4'-pentachlorobiphenyl (2, 4, 5, 3', 4'-Pen-CB) and 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl (2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB), respectively. Concentration of 2, 4, 5, 3', 4'-PenCB

(peak 1) in Yusho patients was about 60 % of that in normal person and that of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB (peak 2) in Yusho patients was about 3.5 times higher than that in normal persons<sup>9)</sup>. Consequently, ratio of peak 1 to peak 2 in Yusho patients was about 1/6 smaller than that in normal persons. To calculate the ratio (%) in every experimental group, concentrations of peaks 1 and 2 were determined in the liver, adipose tissue, and lungs and are shown in Table 3.

In the liver, concentrations of peaks 1 and 2 in Groups 3, 4 and 6 were significantly lower than those in Group 2, while concentration of peak 2 in Group 5 and that of peak 1 in Group 8 were signifi-

cantly higher than those in Group 2. The ratio (%) in the liver of Groups 6, 7 and 8 increased in parallel with the increase in doses of TCDD, whereas that in the liver of Groups 3, 4 and 5 had a tendency to decrease in inverse proportion to doses of PenCDF.

Concentrations of peaks 1 and 2, and the ratio of Groups 3, 4, 5, 6, 7 and 8 showed increased levels compared with those of Group 2 in the lungs: some of them showed significant increase and others not.

In the adipose tissue, concentrations of peaks 1 and 2 of Groups 3, 4, 5, 6, 7 and 8 were not significantly different from those of peaks 1 and 2, respectively, of Group 2. The ratios of Groups 5, 7 and 8, however, showed significant increase in the adipose tissue, as compared with that of Group 2: the ratios of Groups 6, 7 and 8 increased in parallel with the increase in doses of TCDD.

Other peaks such as peaks 3, 4 and 5 shown in Figures 1 and 2 did not show any particular change in concentration and on GC in every group.

### Discussion

It was reported that male ICR strain of mice orally treated with both PCBs and PCDFs showed a very similar GC pattern of PCBs in the liver and adipose tissue 35 days after the treatment to that of PCBs in tissues of Yusho patients, but the mice orally treated with both PCBs and PCDFs did not show the similarity one day after the treatment and the mice orally treated with PCBs alone did not show the similarity either 35 days after the treatment<sup>3)</sup>. This observation probably suggests that highly induced drug metabolizing enzymes with PCDFs metabolize some of PCB isomers and most of the PCB isomers metabolized are excreted from the body, and as

a result, the characteristic PCBs pattern of Yusho patients is produced. They also pointed out that the level of 2, 4, 5, 3', 4'-PenCB (peak 1) decreased more rapidly in the liver and adipose tissue of mice treated with both PCBs and PCDFs than in the tissues of mice treated with PCBs alone with time after the treatment, and that the level of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB (peak 2) did not show significant difference between both the treatments. Consequently, the ratio of the peak 1 to the peak 2 markedly decreased in the tissues of mice treated with PCDFs plus PCBs, compared with that in the tissues of mice treated with PCBs alone. Contrary to the expectations, the ratio in every tissue showed an increasing tendency in rough proportion to the increase in hepatic AHH activity with the exception of that in the liver of Groups 4 and 5 (Tables 1 and 3): the ratio in the liver of Groups 3, 4 and 5 decreased in inverse proportion to the increase of the AHH activity, and the decrease seemed to be due to the very high concentration of peak 2 in Group 5, so we could not experimentally reproduce one of the characteristic PCBs patterns of Yusho patients. Since genetic polymorphisms of drug metabolism have been reported in both animals<sup>11) 15)</sup> and humans<sup>11) 2) 9) 15)</sup>, PCB isomers which are metabolized and excreted may be different from species to species or from strain to strain in the same species, and probably from person to person in humans. The discrepancy in results between the investigation reported before<sup>3)</sup> and our present study may be explained by the genetic polymorphisms of the enzymes of detoxication. Since it is probably considered to take a long time to produce some specific PCB patterns after the exposure to PCDFs or TCDD, the time at which samples are analyzed for PCBs also seems to be very

important.

Decreased total PCBs concentrations in the liver and increased those in the lungs of mice treated with KC-400+PenCDF or KC-400+TCDD were observed, as compared with the concentrations in both organs of mice treated with KC-400 alone (Table 2). To understand biological and/or toxicological meanings of the finding in detail, further investigations are required.

#### Acknowledgements

We thank M. Ikeda and K. Nagae for their assistance in statistical analysis, M. Hirai for her excellent technical assistance, and K. Taniguchi for her assistance in preparation of this manuscript.

#### References

- 1) Cohen, G. M., Mehta, R. and Meredith-Brown, M.: Large interindividual variations in metabolism of benzo (a) pyrene by peripheral lung tissue from lung cancer patients. *Int. J. Cancer* 24: 129-133, 1979.
- 2) Erström, G., von Bahr, C., Glaumann, H. and Ingelman-Sundberg, M.: Interindividual variation in benzo (a) pyrene metabolism and composition of isoenzymes of cytochrome P-450 as revealed by SDS-gel electrophoresis of human liver microsomal fractions. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 50: 251-260, 1982.
- 3) Hori, S., Miyata, H., Maeda, K., Murakami, Y. and Kashimoto, T.: Studies on the characteristic patterns of PCB residues in "Yusho" patients. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 20: 166-172, 1979.
- 4) Kuroki, H. and Masuda, Y.: Determination of polychlorinated dibenzofuran isomers retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 7: 771-777, 1978.
- 5) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275, 1951.
- 6) Masuda, Y., Kagawa, R. and Kuratsune, M.: Polychlorinated biphenyls in Yusho patients and ordinary persons. *Fukuoka Acta Med.* 65: 17-24, 1974.
- 7) Masuda, Y., Kagawa, R., Shimamura, K., Takada, M. and Kuratsune, M.: Polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients and ordinary persons. *Fukuoka Acta Med.* 65: 25-27, 1974.
- 8) Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Toxic compounds in the rice oil which caused Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 70: 229-237, 1979.
- 9) Nagayama, J., Kiyohara, C., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Genetically mediated induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in human lymphoblastoid cells by polychlorinated dibenzofuran isomers and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Arch. Toxicol.* (In press).
- 10) Nagayama, J., Kuratsune, M. and Masuda, Y.: Determination of chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and "Yusho oil". *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 9-13, 1976.
- 11) Nagayama, J., Kuroki, H., Masuda, Y., Handa, S. and Kuratsune, M.: Genetically mediated induction of aryl hydrocarbon hydroxylase activity in mice by polychlorinated dibenzofuran isomers and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Arch. Toxicol.* (In press).
- 12) Nagayama, J., Kuroki, H., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: A comparative study of polychlorinated dibenzofurans, polychlorinated biphenyls and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on aryl hydrocarbon hydroxylase inducing potency in rats. *Arch. Toxicol.* 53: 177-184, 1983.
- 13) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 66: 593-599, 1975.
- 14) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'Yusho'. *Food Cosmet. Toxicol.* 15: 195-198, 1977.
- 15) Nebert, D. W.: Human genetic variation in the enzymes of detoxication. *Enzymatic Basis of Detoxication* 1: 25-68, 1980.
- 16) Takamatsu, M., Inoue, Y. and Abe, S.: Diagnostic meaning of the blood PCB. *Fukuoka Acta Med.* 65: 28-31, 1974.
- 17) Ugawa, M., Nakamura, A. and Kashimoto, T.: Studies on a calculation method for polychlorinated biphenyl (PCB) isomers. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 14: 415-425, 1973.

(和文抄録)

マウスにおける塩化ビフェニールの濃度とパターンおよび  
ベンツピレン水酸化活性に及ぼす塩化ジベンゾフラン  
およびダイオキシンの影響

九川大学医学部公衆衛生学講座

長 山 淳 哉・清 原 千香子

九州大学医学部附属動物実験施設

半 田 純 雄

第一薬科大学物理分析学教室

増 田 義 人

中村学園大学食物栄養学科

倉 恒 匡 徳

油症患者では組織（臓器）中ポリ塩化ビフェニール（PCB）は一般人とは異なる特有のパターンをガスクロマトグラムの上で示すことが報告されている。つまり、油症患者特有の PCB パターンは A タイプ、B タイプは A タイプに近似しており、C タイプは一般人の PCB パターンと類似である。C タイプと比較すると、A タイプの特徴の 1 つは、2, 4, 5, 3', 4'-五塩化ビフェニール（2, 4, 5, 3', 4'-PenCB）のピークが低下し、反対に 2, 4, 5, 2', 4', 5'-六塩化ビフェニール（2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB）のピークが上昇しており、両ピークの比（2, 4, 5, 3', 4'-PenCB/2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB）が顕著に低下していることである。このような特徴的な PCB パターンは、油症患者が PCB と同時に、強力な薬物代謝酵素誘導性物質であるポリ塩化ジベンゾフラン（PCDF）を摂取したことが原因となって生じていると考えられている。実験的に、このことを再現する目的で本研究が行われた。

マウスにカネクロール-400（KC-400, 1.2 mg/kg）のみ、あるいは KC-400（1.2 mg/kg）と同時に 2, 3, 4, 7, 8-五塩化ジベンゾフラン（PenCDF, 0.3~30 µg/kg）あるいは、2, 3, 7, 8-四塩化ダイベンゾダイオキシン（TCDD, 0.3~30 µg/kg）を 6 日間連続

して、腹腔内投与した。投与後 30 日目に、肝臓の芳香族炭化水素水酸化酵素（AHH）——代表的な薬物代謝酵素の 1 つ——活性を測定し、また肝臓、脂肪組織、肺臓中の全 PCB 濃度、2, 4, 5, 3', 4'-PenCB 濃度および 2, 4, 5, 2', 4', 5'-HCB 濃度を測定した。そして、両ピークの比も算出した。肝 AHH 活性は、PenCDF あるいは TCDD の投与量に比例して上昇し、両ピークの比もほぼ同様の傾向を示して高くなった。このことは、はじめに予想したものとまったく反対の結果であって、A タイプの特徴を実験的に再現することはできなかった。この結果は、多分、薬物代謝酵素系の遺伝的多様性によって説明されると思われる。また、PenCDF あるいは TCDD に曝露後 どのくらいたってから PCB について試料が分析されるかということも、PCB パターンを見る上で重要な因子であると考えられる。

KC-400 のみを投与されたマウスと比較して、KC-400 と同時に PenCDF あるいは TCDD を投与されたマウスでは、肝臓の全 PCB 濃度の減少および、肺臓の全 PCB 濃度の増加が観察された。現在のところ、この生物学的あるいは中毒学的意義は不明である。

## 高毒性 2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF) のラット糞中排泄に及ぼすスクアランの効果

九州大学薬学部衛生化学・裁判化学教室  
吉村 英敏・神村 英利・小栗 一太  
九州大学薬学部薬化学教室  
佐伯清太郎

### Stimulating Effect of Squalane on Fecal Excretion of a High Toxic 2, 3, 4, 7, 8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF) in Rats

Hidetoshi YOSHIMURA, Hidetoshi KAMIMURA  
and Kazuta OGURI

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

Seitaro SAEKI

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

In the previous paper, we reported that 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) was regarded as the most important etiologic agent for Yusho among various PCB and PCDF congeners found in the causal rice oil, because this PenCDF possessed a strong and long-lasting induction ability of 3-methylcholanthrene-type in the rat liver and revealed a high toxicity. The present study has been undertaken to learn whether or not squalane (2, 6, 10, 15, 19, 23-hexamethyltetracosane) could stimulate fecal excretion and decrease toxicity of PenCDF. As the results, squalane did not show any significant effect on food consumption and growth of rats during the treatment for 21 days. However, both enlargement of liver and atrophy of thymus caused by PenCDF were suppressed by squalane-treatment. Moreover, fecal excretion of PenCDF was stimulated about 3-fold, and the content of PenCDF in the liver showed a tendency to decrease by squalane-treatment.

Polychlorobiphenyl (PCB), Polychlorodibenzofuran (PCDF) および Polychlorodibenzo-*p*-dioxin (PCDD) で代表されるハロゲン化芳香族炭化水素は、世界的環境汚染物質として知られている。また近年、上記一連の有機ハロゲン化合物に関する事故がアメリカあるいはヨーロッパ諸国で多発している。昭和43年、わが国においても、PCB 製品であるカネクロール400 (KC-400) で高濃度に汚染されたライスオイルの摂取によって、いわゆる油症事件が発生した<sup>6)</sup>。それ以来、今日に至るまで精力的な研究が行われてきたにもかかわらず、その発症機構には不明な点が多

く、未だ油症の全貌を解明するには至っていない。

よく知られているように、PCB は肝における諸酵素、特にモノオキシゲナーゼの強力な誘導剤であり、塩素置換の数や位置によって誘導型式を異にするフェノバルビタール(PB)型、3-メチルコラントレン(MC)型およびそれらの中間型とに大別されている<sup>4)17)</sup>。さらに、ラット<sup>20)</sup>、マウス<sup>15)</sup>について、MC型の誘導能の強いPCB程、高い急性毒性を示すことが見い出されている。典型的な原因ライスオイル中には大量のPCBのほか微量のPCDFの混在が明らかにされている<sup>10)11)</sup>、このPCDFはその毒性の強さから、

むしろ PCB 以上に注目されており、PCB の場合と同様に、MC 型の誘導能と毒性との間により相関性が見い出されている<sup>10)</sup>。たとえば多くの PCDF 異性体のうち、2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF) と 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) は最高の MC 型誘導能を示し、かつラットにおける急性毒性も最も強い<sup>10)</sup>。しかし、TCDF はラットに投与すると、容易に代謝されて<sup>12)</sup>、速やかに排泄される<sup>9)</sup>のに対し、PenCDF はラットやサルで肝臓に長期に亘って貯留することが明らかにされている<sup>9)</sup>。また、発症後9年を経過した時点で死亡した油症患者の肝臓中には TCDF よりも PenCDF が遙かに高濃度に貯留し<sup>9)</sup>、その強い貯留性と高毒性からこの PenCDF は現在、油症原因物質として最も注目されている<sup>9)</sup>。

上記の PCB および PCDF によるモノオキシゲナーゼの誘導現象は、生体異物のみならず、ステロイドホルモン、脂肪酸、脂溶性ビタミンなど、生体にとって重要な役割を持つ脂質の代謝をも促進することが考えられる。もし、このような物質の代謝亢進が長期間持続するとすれば、生体への弊害も危惧される。

これまでの油症患者の治療に関しては、主として対症療法が行われており、いずれも根本的な治療には至っていない。以前、筆者らは、原因物質 (PCB, PCDF) の体外への排泄促進を求めて、サルについて流動パラフィンおよびコレステラミンによる検討を行ったが、サルの大きな個体差のため、明確な結論を得ないままであった<sup>21)</sup>。しかし、体内に蓄積する難代謝性の脂溶性有機塩素化合物は微量ながら小腸壁を通して腸管腔に排出されているという知見<sup>19)</sup>から考えると、この腸管腔への排出 PCB, PCDF を溶解し、再吸収を阻止して効率よく糞中への排泄を促す薬剤があるとすれば、最も根本的な治療薬となる可能性がある。

最近、Richter らは PCB の排泄促進についてラットを用いて、流動パラフィン<sup>13)</sup>とともに、スクアラン<sup>14)</sup>の効果を検討し、いずれにも排泄促進剤としての有効性を認め、特に後者でより好結果を得ている。このスクアランは、サメ肝油をはじめ、コレステロール生合成における中間体として動、植物に広く分布するスクアレン<sup>5)</sup>を接触還元して得られる炭素数30の脂肪族飽和炭化水素である。このものは生体に吸収されにくく<sup>11,14)</sup>、従って安全性の高い化合物と考えられている。一方、彼らが上記検討に用いた PCB 異性体は、いずれも PB 型で低毒性の 2,4,6,2',4'-penta-chlorobiphenyl<sup>13)</sup> や 2,4,5,2',4',5'-hexachlobi-

phenyl<sup>14)</sup>で、排泄促進による PCB の毒性軽減に対する評価はなされていない。

そこで今回筆者らは、低毒性 PCB 異性体の代わりに高毒性で、未だに患者体内に残存する PenCDF を用い、ラットについてスクアランによる排泄促進と毒性軽減の両面からの検討を行った。

## 実験方法

### 1. 実験材料

2,3,4,7,8-PenCDF は前報<sup>9)</sup>に従い、2-アミノ-4,5,2',3',4'-ペンタクロロジフェニルエーテルの閉環反応により合成した。スクアランおよび PCB 分析用のシリカゲル (Wako-gel S-1)、ガスクロマトグラフ用充填剤の 1.5% OV-17 Chromosorb W AW DMCS は、いずれも和光純薬 (大阪) より購入した。飼育期間中にラットに摂食させた餌は、ラット、マウス、ハムスター用飼育繁殖粉末飼料 (CE-2) で、日本クレア株式会社 (東京) より購入した。

### 2. 薬物投与

Wistar 系雄ラット (5週令, 体重 120~130 g) を 1群4匹として4群 (A~D群) に分けて使用した。B, C群には PenCDF を 1 mg/ml になるようにサラダ油に溶かしたものを、1 mg/kg あて1回経口投与した。一方、A, D群にはサラダ油を 1 ml/kg あて1回投与した。粉末飼料および水は自由に与え、24時間毎に、体重、食餌摂取量、糞および尿量を測定した。また、C, D群のみは、8日目からスクアランを 8w/w% 含む餌を摂食させた。29日目に屠殺して各種の臓器の湿重量を測定した。Fig. 1 にその概要を一括して示す。

また PenCDF の糞中排泄量を下記の方法により経日的に測定し、屠殺後に PenCDF の臓器分布量を測定した。なお、糞および臓器は測定に供するまで -20 °C で凍結し保存した。

### 3. 糞および臓器中 PenCDF の測定法

糞および肝臓はおおよそ 1 g, 他の臓器は全部を 1N-水酸化ナトリウムのエタノール溶液 20 ml に入れ (臓器は 1N-水酸化ナトリウムのエタノール溶液でホモジネートにした)、沸騰水浴中で2時間煮沸し、ケン化した。煮沸後 n-ヘキサンを加えて不ケン化物を抽出した。この不ケン化物分画を芒硝で脱水した後、おおよそ 5 ml に濃縮して、シリカゲルカラムに添加し、n-ヘキサン 40 ml で PenCDF を溶出させた。この溶出液を、1, 2日目の糞、および肝臓の検体については 30.0 ml, 他の糞および臓器の検体については 3.0

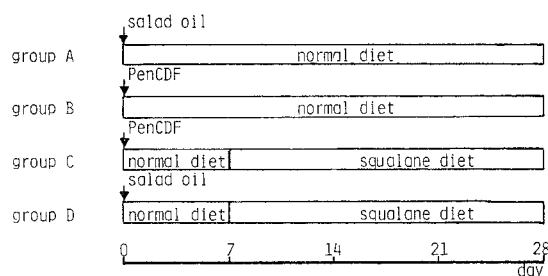


Fig. 1. Treatment of 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF and squalane diet.

ml にそれぞれ濃縮し、ECD-ガスクロマトグラフィーに付した。各検体中の PenCDF 量は、得られたガスクロマトグラムのピーク面積より算出した。このときの定量限界は 10 pg であった。Fig. 2 に上記の測定法およびガスクロマトグラフィーの条件を示す。

## 結 果

### 1. 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF およびスクアランのラッ

ト体重、食餌摂取量、臓器重量に及ぼす影響

Table 1 に示すように、PenCDF の投与により B、C 群で顕著な体重増加抑制、並びに食餌摂取量の減少が観察されたが、スクアランを投与した 8 日目以降では、体重、食餌摂取量について、A と D 群、B と C 群の間にそれぞれ有意な差は認められなかった。つまり、3 週間の処置ではラット体重、食餌摂取量にスクアランは特に影響しないと結論された。なお、B と C でそれぞれ 26、21 日目に 1 匹ずつ死亡した。

PenCDF 投与による各種の臓器重量への影響を Table 2 に示す。B 群では、PenCDF の毒性の指標<sup>19)</sup>として用いられる肝肥大、胸腺および脾臓の萎縮のうち、前 2 者は観察されたが、脾臓の萎縮は認められなかった。一方、スクアラン投与の C 群では、B 群における肝肥大と胸腺萎縮のいずれにおいても改善が認められた。また、B、C 群とも肺と腎は肥大傾向であった。さらに D 群では僅かながら肝の萎縮がみられた。

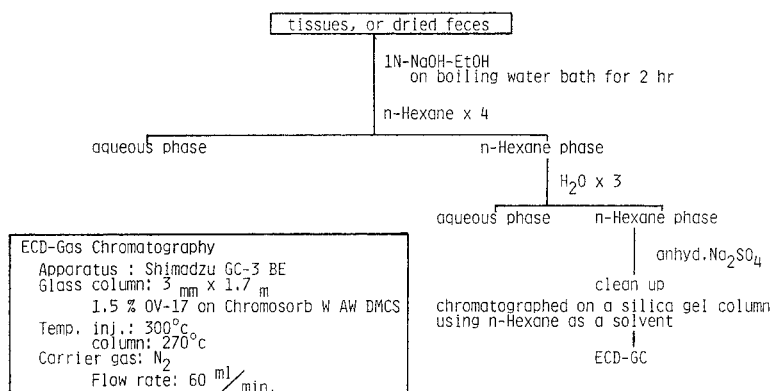


Fig. 2. Analytical method for the content of PenCDF from tissues or dried feces.

Table 1. Effect of squalane on body weight gain and food consumption in rats administered 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF

|                      | A<br>salad oil<br>normal diet | B<br>PenCDF<br>normal diet | C<br>PenCDF<br>squalane diet | D<br>salad oil<br>squalane diet |
|----------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Body weight gain (g) |                               |                            |                              |                                 |
| from 1 to 7 days     | 51.5 ± 3.7(100)               | 26.3 ± 7.2*(51)            | 27.0 ± 5.8*(52)              | 49.5 ± 1.9( 96)                 |
| from 8 to 28 days    | 131.5 ± 2.7(100)              | 89.3 ± 16.6*(68)           | 84.3 ± 19.2*(64)             | 131.8 ± 6.3(100)                |
| Food consumption (g) |                               |                            |                              |                                 |
| from 1 to 7 days     | 124.6 ± 11.2(100)             | 96.6 ± 11.2*(78)           | 94.5 ± 11.2*(76)             | 112.7 ± 9.1( 91)                |
| from 8 to 28 days    | 529.2 ± 27.3(100)             | 331.8 ± 39.9*(63)          | 405.3 ± 31.5 (77)            | 556.5 ± 33.6(105)               |

Each value represents the mean ± S.E. of 3 or 4 rats and percentage to group A in parentheses.

\* Significantly different from group A ( $p < 0.05$ )

2. PenCDF の糞中排泄に及ぼすスクアランの効果  
PenCDF の糞中排泄状況を Table 3 および Fig. 3 に示す。B, C群で明かなように, PenCDF を 1 mg/kg あて 1 回経口投与すると, 1 日目に投与量のおよそ 29% 前後, 2 日目におよそ 4.5% 前後が糞中に排泄された。この多量の排泄は, 経口投与したことによる未吸収分と思われる。そして B, C群とも, 5 日目以降の排泄量は 1 日当たり約 0.15% でほぼ一定となり, 7 日間の総排泄量は約 36% であった。一方, C群では, 8 日目に 8% スクアラン餌に代えると同時に排泄量の有意な増加が認められた。その排泄量の 1

日当たりの平均値は投与量の 0.43% となり, ほぼ一定した排泄を示した。8 日目から 28 日目までの間の総排泄量は, B群で  $3.17 \pm 0.32\%$ , C群で  $9.07 \pm 0.80\%$  と, C群では約 3 倍の排泄増加が認められた。なお, PenCDF のラットにおける尿中排泄は, これまでも観察されていない<sup>18)</sup>が, 今回スクアラン餌を摂食させた時の尿についても検出されなかった。

### 3. PenCDF の臓器分布に及ぼすスクアランの効果

Table 4 に PenCDF の臓器および血液中への分布量を示す。なお, 全血液量は, 体重  $\times 0.08$  で換算した<sup>2)</sup>。PenCDF は一般の PCB と異なり, 肝にその大部分が蓄積され, 脂肪組織へは僅かであった。C群では腎を除いて, 他の臓器および血液中の PenCDF 分布量は, B群に比べて減少傾向を示した。

### 考 察

Table 1 に示すように, スクアラン餌は体重および食餌摂取量に著明な変化を示さなかった。スクアランの摂取によって, 必須脂肪酸や脂溶性ビタミンの吸収抑制が懸念されたが, 体重と食餌摂取量でみる限り, 8% という含量で 3 週間の飼育期間では, スクアランはラットの発育に特に影響を与えないことが結論された。

Table 2 で, PenCDF を投与した B, C群で, 肺の肥大傾向が認められた。これは PenCDF の作用により水腫が生じていたためと思われる。一方, D群では肝萎縮が観察されたが, この現象については, 今

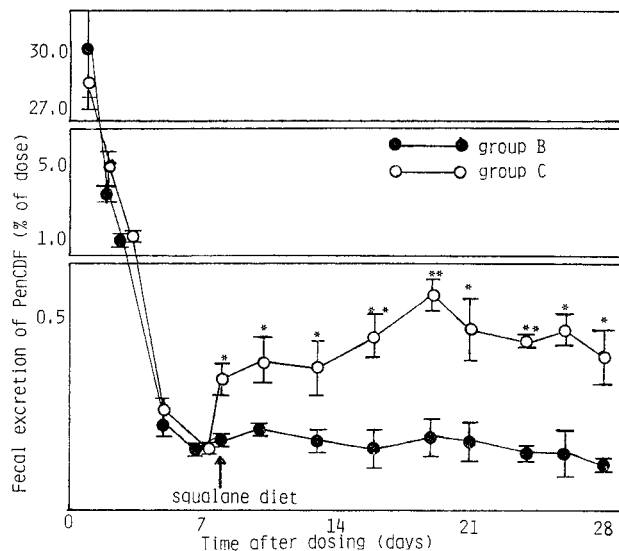


Fig. 3. Effect of squalane diet on fecal excretion of 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF

\* Significantly different from group B ( $p < 0.05$ ) \*\* ( $p < 0.01$ )

Table 2. Effect of squalane diet on relative tissue weight in rats administered 2, 3, 4, 7, 8-PenCDF

|                | A<br>salad oil<br>normal diet | B<br>PenCDF<br>normal diet | C<br>PenCDF<br>squalane diet | D<br>salad oil<br>squalane diet |
|----------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| liver          | $5.234 \pm 0.073$             | $7.301 \pm 0.081^*$        | $6.469 \pm 0.282^{*++}$      | $4.700 \pm 0.091^*$             |
| spleen         | $0.252 \pm 0.014$             | $0.244 \pm 0.028$          | $0.343 \pm 0.053$            | $0.254 \pm 0.007$               |
| thymus         | $0.257 \pm 0.021$             | $0.068 \pm 0.033^*$        | $0.168 \pm 0.015^{*+}$       | $0.318 \pm 0.015$               |
| lung           | $0.441 \pm 0.014$             | $0.486 \pm 0.024$          | $0.687 \pm 0.078^{*++}$      | $0.438 \pm 0.020$               |
| kidney         | $0.826 \pm 0.013$             | $1.002 \pm 0.100$          | $0.988 \pm 0.055^*$          | $0.855 \pm 0.014$               |
| adipose tissue | $1.019 \pm 0.099$             | $0.857 \pm 0.059$          | $0.951 \pm 0.166$            | $1.256 \pm 0.086$               |

Each value represents the mean of relative tissue weight (g/100 g body weight)  $\pm$  S. E. of 3 or 4 rats.

\* Significantly different from group A ( $p < 0.05$ )

+ Significantly different from group B ( $p < 0.05$ ) ++ ( $p < 0.1$ )

Table 3. Effect of squalane diet on fecal excretion of 2,3,4,7,8-PenCDF in rats

|                   | A<br>salad oil<br>normal diet | B<br>PenCDF<br>normal diet | C<br>PenCDF<br>squalane diet | D<br>salad oil<br>squalane diet |
|-------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| from 1 to 7 days  | N. D.                         | 35.79±2.26                 | 35.59±0.90                   | N. D.                           |
| from 8 to 28 days | N. D.                         | 3.17±0.32<br>(0.15±0.01)   | 9.07±0.80*<br>(0.43±0.03)**  | N. D.                           |

Each value represents the mean of percent of dose excreted during the indicated days, and one day in parentheses±S.E. of rats.

\* Significantly different from group B ( $p<0.05$ ) \*\*( $p<0.01$ )

Table 4. Effect of squalane diet on distribution of 2,3,4,7,8-PenCDF in tissues of rats

|                | A<br>salad oil<br>normal diet | B<br>PenCDF<br>normal diet | C<br>PenCDF<br>squalane diet | D<br>salad oil<br>squalane diet |
|----------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| liver          | N. D.                         | 47.09±3.80                 | 40.70±2.81                   | N. D.                           |
| spleen         | N. D.                         | 0.02±0.01                  | 0.01±0.003                   | N. D.                           |
| thymus         | N. D.                         | N. D.                      | N. D.                        | N. D.                           |
| lung           | N. D.                         | N. D.                      | N. D.                        | N. D.                           |
| kidney         | N. D.                         | 0.03±0.01                  | 0.04±0.01                    | N. D.                           |
| adipose tissue | N. D.                         | 0.39±0.02                  | 0.35±0.07                    | N. D.                           |
| blood          | N. D.                         | 0.31±0.02                  | 0.22±0.05                    | N. D.                           |

Each value represents the mean of percent of dose±S.E. of 3 or 4 rats.

N. D., not detected

のところ説明できない。ただ、肝重量比がD群/A群で0.898に対してC群/B群で0.886となり、PenCDF投与の有無にかかわらず、スクアラン処理によってほぼ同程度の萎縮がみられること、さらに Richter らは、Wistar 系雄ラットに8%スクアラン餌を4週間摂食させた実験で、摂取したスクアランの約1%が吸収されて肝に蓄積したと報告している<sup>10)</sup>ので、吸収されたスクアランの何らかの作用によるのかもしれない。

Fig. 3 に示したように、PenCDFを1 mg/kg あて1回経口投与すると、5日目あたりから糞中排泄量は1日当り投与量の0.15%となり、ほぼ一定になる。この排泄量は、小腸壁を通して腸管腔に排出され、再吸収を受けなかった PenCDF 量と推定される。一方、スクアラン餌を摂食させると、糞中排泄量は有意に増加する。この排泄量は1日当り0.43%とほぼ一定であること、さらに摂取したスクアランの大部分が吸収されないこと<sup>11)</sup>を合わせ考えると、この排泄促進は腸管腔に排出された PenCDF をスクアランが溶解し、その再吸収を阻止したことに由来していると考えられる。

今回のスクアラン投与の実験期間は3週間に過ぎず、糞中への排泄増加が臓器中分布量の有意な低下に

つながらなかったが、期間を延長すれば、さらに明確な結論が得られるものと期待される。

## 総 括

8%スクアラン餌は、①体重、食餌摂取量でみる限り、ラットの発育に特に影響を与えなかった。②PenCDFの毒性による肝肥大、胸線萎縮を改善させた。③PenCDFの糞中排泄量を約3倍に促進させた。④PenCDFの臓器分布、特に肝のそれを大むね減少させる傾向を示した。以上の結果から、ラットにおいて、スクアランは PenCDF に対する排泄促進効果、並びに毒性軽減効果を有するものと結論された。このことより、長期連用した場合の安全性については今後、さらに検討を要するものの、スクアランは難代謝性かつ脂溶性の有機塩素化合物の排泄促進剤として有望と判定される。

## 文 献

- 1) Albro, P. W. and Fishbein, L.: Absorption of aliphatic hydrocarbons by rats. Biochim. Biophys. Acta 219: 437-446, 1970.
- 2) 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.

3) 深作 昇, 長谷川賢, 黒木広明, 増田義人, 古賀 信幸, 吉村 英敏:  $^{14}\text{C}$ -2, 3, 4, 7, 8-pentachlorodibenzofuran の合成. 福岡医誌 74: 202-205, 1983.

4) Goldstein, J. A., Hickman, P., Bergman, H., McKinney, J. D. and Walker, M. P.: Separation of pure polychlorinated biphenyl isomers into two types of inducers on the basis of induction of cytochrome P-450 or P-448. Chem.-Biol. Interact. 17: 69-87, 1977.

5) Goodman, D. S.: Squalene in human and rat blood plasma. J. Clin. Invest. 43: 1480-1485, 1964.

6) 勝木司馬之助: 序 福岡医誌 60: 403-407, 1969.

7) Kuroki, H. and Masuda, Y.: Determination of polychlorinated dibenzofuran isomers retained in patients with Yusho. Chemosphere 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) Masuda, Y. and Yoshimura, H.: Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance: A Review. Am. J. Ind. Med. 5: 31-44, 1984.

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

11) Nagayama, J., Masuda, Y. and Kuratsune, M.: Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oil used by patients with Yusho. Fukuoka Acta Med. 66: 593-599, 1975.

12) Poiger, H., Buser, H. R. and Schlatter, Ch.: The metabolism of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran in the rat. Chemosphere 13: 351-

357, 1984.

13) Richter, E., Lay, L. P., Klein, W. and Korte, F.: Paraffin-stimulated excretion of 2, 4, 6, 2', 4'-pentachlorobi [ $^{14}\text{C}$ ] phenyl by rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 50: 17-23, 1979.

14) Richter, E., Schäfer, S. G. and Fichtl, B.: Stimulation of the faecal excretion of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl in rats by squalene. Xenobiotica 13: 337-343, 1983.

15) 吉原新一, 永田 清, 和田郁夫, 古賀信幸, 吉村英敏: 3-methylcholanthrene 型 PCB による肝酵素誘導と毒性発現機構について. 福岡医誌 74: 209-216, 1983.

16) 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.

17) Yoshimura, H., Ozawa, N. and Saeki, S.: Inductive effect of polychlorinated biphenyls mixture and individual isomers on the hepatic microsomal enzymes. Chem. Pharm. Bull. 26: 1215-1221, 1978.

18) Yoshimura, H., Kuroki, J., Koga, N., Kuroki, H., Masuda, Y., Fukasaku, N. and Hasegawa, M.: High accumulation of 2, 3, 4, 7, 8-pentachlorodibenzofuran to hepatic microsomes of rats. J. Pharmacobio-Dyn. 7: 414-419, 1984.

19) Yoshimura, H. and Yamamoto, H.: A novel route of excretion of 2, 4, 3', 4'-tetrachlorobiphenyl in rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 13: 681-688, 1975.

20) 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.

21) 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.

## PCDFs 中毒サルに対する 13-cis Retinoic Acid 及びスクアランの治療に関する研究

大阪府立公衆衛生研究所

樫本 隆・堀 伸二郎・尾花 裕孝

### Studies on Therapeutic Effect of 13-cis Retinoic Acid and Squalane on Symptoms of PCDFs Poisoning in Monkeys

Takashi KASHIMOTO, Shinjiro HORI  
and Hirotaka OBANA

*Osaka Prefectural Institute of Public Health,  
Higashinari-ku, Osaka 537, Japan*

Monkeys were administered polychlorinated dibenzofurans (PCDF), 20 µg/monkey/day, 3 times a week for 3 weeks, observed for Yusho symptoms for the following 2 weeks and then treated with 13-cis retinoic acid (13-CRA), 5 mg/monkey/day, or squalane, 8 g/monkey/day, for up to 20 weeks for observation of its therapeutic effect.

1) There were decreases in body weight, edema of the eyelid, loss of fingernails, immunosuppression and increases of triglyceride in the blood in the monkeys fed PCDFs.

2) Effect of 13-CRA and squalane on ocular manifestations of PCDFs poisoning were not definitive.

3) Improvement of decreases in body weight and increases of triglyceride in blood were observed in only the monkeys treated with squalane.

4) The amount of PCDFs in livers on the monkeys treated with 13-CRA and squalane were 79 % and 80 %, respectively, of those of the monkeys treated with PCDFs alone.

#### はじめに

油症が発生して以来、著者らは油症原因油中に存在する PCBs, PCQs 及び PCDFs を分取し、これらをラット及びサルに投与し、その毒性効果を比較検討してきた<sup>1)2)3)6)7)</sup>。その結果、PCDFs は最も強い毒性を示すとともにサルに油症症状を発現させることに成功した<sup>3)6)7)</sup>。そこで、PCDFs、中毒サルを用いて油症の治療法の検討を試みた。今回治療薬として検討したのは、13-cis retinoic acid 及びスクアランである。すなわち、13-cis retinoic acid は合成ビタミンAの一種で重症の座瘡に効果をもたらすことが知られている<sup>10)</sup>。一方、スクアランは生体中の2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl の排泄を有意に促進させると言われているものである<sup>11)</sup>。

#### 実験方法

##### 実験動物

雌のフィリピン産カニクイザル9匹(体重、2.7～2.9 kg)を空調を施した飼育室で別々のケージに入れ3カ月間餌付、検疫を行なった後実験に供した。飼育飼料としてバナナ又はリンゴ、特製の蒸しパン(50 g/day)、市販のサル用固型飼料(70 g/day)を与えた。なお、水は自由に摂取させた。

##### 試料及び試薬

PCDFs: 使用溶熱媒体(KC-400)より宮田<sup>9)</sup>らの方法で分離精製した。

13-cis retinoic acid (13-CRA): 日本ロシュ研究所より供与された。

スクアラン(2, 6, 10, 15, 19, 23-hexamethyl-

tetracosane): 和光純薬より入手した。

アルミナ: メルク社製, 中性, 活性 I, を含水率 0.8% に調製したもの。

#### 投与試料の調製

PCDFs 20  $\mu$ g/50  $\mu$ l, 13-CRA 5 mg/200  $\mu$ l になるようにそれぞれオリーブ油で調製した。スクアランはスクアラン 8 g を含む蒸しパン (50 g) を実験室で作製した。

#### 投与方法

9 匹のサル (No. 1~No. 9) に PCDFs 20  $\mu$ g/monkey/day を週 3 回, 3 週間をバナナ又はリンゴに注入して投与した。次に, PCDFs の最終投与日から 2 週間後より 13-CRA (5 mg/monkey/day) はバナナ又はリンゴに注入して, スクアラン (8 g/monkey/day) はスクアラン入り蒸しパンでそれぞれ表 1 に示す期間投与した後解剖した。なお, 血液生化学的及び免疫機能を見るため PCDFs 投与開始前 2 回, 開始後 1 カ月毎に大腿部動脈より採血した。

#### ヒッジ赤血球 (SRBC) による免疫

生理食塩水で洗浄した SRBC を生理食塩水に浮遊 (10%) させ, その 1.5 ml を各採血の 12 日前にサル腹腔内に注射した。抗 SRBC 抗体価の測定は前報<sup>9)</sup>の方法を用いた。

#### 組織中の PCDFs の分析

組織 (2~10 g) に 1 N 水酸化カリウム・エチルアルコール 50 ml を加えて湯浴上で 1 時間 アルカリ 分解を行なった後, 蒸留水 50 ml を加え n-ヘキサン 50 ml で 3 回抽出する。この n-ヘキサン層を蒸留水 50 ml で 3 回水洗した後, 無水硫酸ナトリウムで脱水し, 約 5 ml に濃縮する。

1 cm $\times$ 25 cm のガラスカラムに 0.8% 含水アルミ

ナ 10 g を n-ヘキサンで湿式法でつめる。次に 2 g の無水硫酸ナトリウムを重層する。このカラムに n-ヘキサン 80 ml を展開させカラムを洗浄した後, 上記濃縮液を流した後, 3% 塩化メチレン・n-ヘキサン 70 ml, 次に 20% 塩化メチレン・n-ヘキサン 100 ml で溶出する。この 20% 塩化メチレン・n-ヘキサン分画を濃縮し, ガスクロマトグラフ及び GC-マスキングマトグラフに注入した。なお, PCDFs の定量はマスキングマトグラフ (M/Z=306, 340, 374) でおこなった。装置及び測定条件は前報<sup>9)</sup>に示したとおりである。

#### 組織中のスクアランの分析

上記の PCDFs の抽出及びクリンナップを準用した。すなわち, 上記の 3% 塩化メチレン・n-ヘキサン分画を濃縮して FID-GC に注入した。

GC: 島津 6 AM, カラム: 2% OV-1 (2 mm $\times$ 2 m), キャリヤーガス: N<sub>2</sub> (40 ml/min), カラム温度: 240°C, 検出器: FID。

## 結 果

### 一般的所見

各投与群のサルの体重変化を図 1 に示した。

各投与群とも PCDFs 投与直後から体重の減少が見られた。また, 大部分のサルは PCDFs 投与中止後も体重の減少が観察され, PCDFs 投与中止後 2 週間目の減少率は平均 16% であった。その後, 一部のサルを除いて PCDFs 投与前の体重まで回復した。すなわち, PCDFs 単独投与群は 3 匹中 1 匹 (No 3) だけが元の体重に回復したが, その回復に投与中止後 15 週間も用いた。一方, PCDFs+13-CRA 投与群は 3 匹の内 2 匹が 10~17 週間で, PCDFs+スクアラン

表 1 カニクイザルに対する PCDFs 及び被検薬の投与計画

|              | サル<br>No. | PCDFs       |      |                   | 13-CRA 又はスクアラン |      |            | 実験期間<br>(日) |
|--------------|-----------|-------------|------|-------------------|----------------|------|------------|-------------|
|              |           | 投与期間<br>(日) | 投与回数 | 投与量<br>( $\mu$ g) | 投与期間<br>(日)    | 投与回数 | 投与量<br>(g) |             |
| PCDFs        | 1         | 21          | 9    | 180               | —              | —    | —          | 168         |
|              | 2         | 21          | 9    | 180               | —              | —    | —          | 172         |
|              | 3         | 21          | 9    | 180               | —              | —    | —          | 179         |
| PCDFs+13-CRA | 4         | 21          | 9    | 180               | 140            | 109  | 0.543      | 175         |
|              | 5         | 21          | 9    | 180               | 134            | 104  | 0.520      | 169         |
|              | 6         | 21          | 9    | 180               | 143            | 112  | 0.560      | 178         |
| PCDFs+スクアラン  | 7         | 21          | 9    | 180               | 94             | 76   | 608        | 129         |
|              | 8         | 21          | 6    | 180               | 135            | 105  | 840        | 170         |
|              | 9         | 21          | 9    | 180               | 141            | 110  | 880        | 176         |

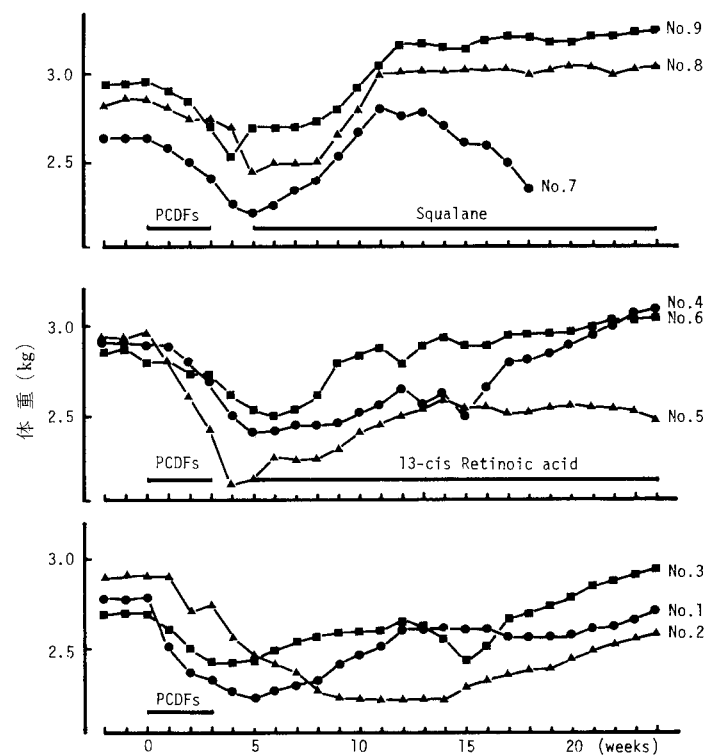


図 1 PCDFs 投与カニクイザルの体重変化  
No. 7 は首の傷による衰弱が著しく屠殺した。



図 2. PCDFs+13-CRA 投与サルの顔面  
PCDF 投与後 3 カ月目のもので眼瞼浮腫が見られる。



図 8 PCDFs 投与カニクイザルの手  
PCDF 投与後 5 カ月目のもので爪の剝離が見られる。

投与群は 3 匹とも 7 週間でそれぞれ元の体重に回復した。なお、No 7 のサル (PCDFs+スクアラン) は 11 週後体重が減少し 18 週目で極度の衰弱が見られたので解剖した。その原因は首の傷が化膿したためであ

る。

眼瞼の浮腫 (図 2) は軽度なものを含めると全投与サルで観察されたが、13-CRA やスクアラン投与による治療効果を判定するに至らなかった。また、爪の



図4 PCDF+スクアラン投与カニクイザルの全身スクアラン2カ月投与。

剥離(図3)も9匹中6匹に観察されたが実験期間を通じて各投与群とも著明な回復はなかった。さらに、何れの群も脱毛などが認められたが一部のサルを除いて軽度であった。なお、スクアラン投与サルの皮フは脂漏様の症状を示した(図4)。

#### 臓器重量

体重当りの臓器重量比は表2に示すとおり、肝臓、心臓、腎臓、脾臓やその他の臓器においても各投与群の間で有意の差は認められず、また、これらの値は正常サルの値と差違を認めなかった。

#### 肝臓中の PCDFs 及びスクアラン量

PCDFs 単独投与群、PCDFs+13-CRA 投与群及

表2 カニクイザルの体重当りの臓器重量比(%)

| 投与群<br>臓器 | PCDFs 単独   | PCDFs<br>+13-CRA | PCDFs<br>+スクアラン |
|-----------|------------|------------------|-----------------|
| 肝臓        | 2.64±0.263 | 2.76±0.517       | 2.86±0.552      |
| 心臓        | 0.33±0.030 | 0.33±0.033       | 0.33±0.049      |
| 腎臓        | 0.57±0.102 | 0.55±0.120       | 0.54±0.112      |
| 脾臓        | 0.15±0.034 | 0.18±0.027       | 0.18±0.036      |

数値は3匹の平均±標準偏差

び PCDFs+スクアラン投与群の肝蓄積 PCDFs 量はそれぞれ 1.36  $\mu$ g, 1.07  $\mu$ g 及び 1.09  $\mu$ g であり、PCDFs+13-CRA 投与群及び PCDFs+スクアラン投与群の肝蓄積 PCDFs 量は PCDFs 単独投与群に比べてそれぞれ 21%及び 20%減少した。

一方、スクアランの肝臓及び血液中の平均濃度はそれぞれ 179.2 ppm 及び 4.93 ppm であった。

#### 血清中のトリグリセライド及びコレステロール値

図5に各投与群の投与前のトリグリセライド(T.G.)値及びコレステロール値を100とした時のT.G.及びコレステロールの相対値の変化を示した。

各投与群とも T.G. 値は PCDFs 投与により上昇し、この傾向は投与後1カ月以上継続した後、正常値

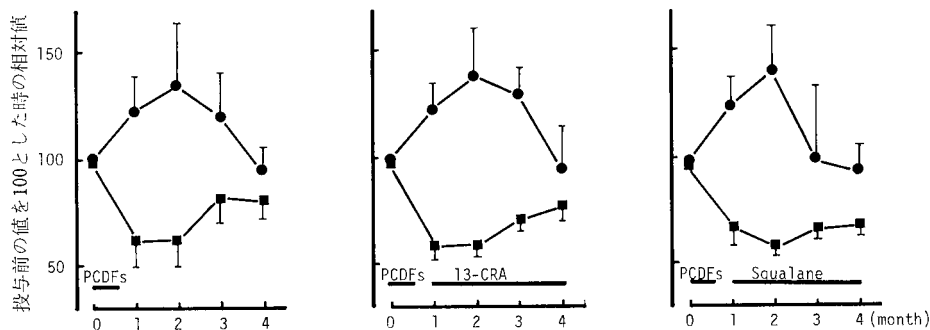


図5 PCDFs 投与カニクイザルの血清トリグリセライド及びコレステロール値に対する13-CRA 及びスクアランの影響

3匹の平均標準偏差

●—● トリグリセライド ■—■ コレステロール

表3 カニクイザル肝臓中の PCDFs 及びスクアランの蓄積量

| 投 与 群        | PCDFs             |                     | ス ク ア ラ ン               |               |
|--------------|-------------------|---------------------|-------------------------|---------------|
|              | 蓄 積 濃 度<br>(ng/g) | 蓄 積 量<br>( $\mu$ g) | 蓄 積 濃 度<br>( $\mu$ g/g) | 蓄 積 量<br>(mg) |
| PCDFs 単 独    | 19.7±1.29         | 1.36±0.127          | —                       | —             |
| PCDFs+13-CRA | 13.9±4.91         | 1.07±0.105          | —                       | —             |
| PCDFs+スクアラン  | 14.4±5.22         | 1.09±0.131          | 179.2±24.01             | 13.4±2.24     |

数値は3匹の平均±標準偏差

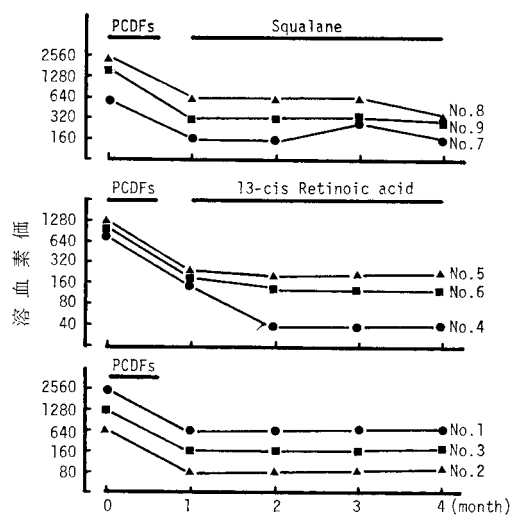


図6 PCDFs 投与カニクザルの抗体産生能におよぼす 13-CRA 及びスクアランの影響

(投与前の値)に向った。図5から明らかな様にスクアランを投与すると T.G. 値は早く正常値に回復する傾向を示した。一方、コレステロール値は、T.G. 値とは逆に PCDFs 投与により減少したが、13-CRA やスクアラン投与はコレステロール値に影響をおよぼさなかった。

#### 免疫機能におよぼす影響

PCDFs 投与前及び投与後に計5回ヒジ赤血球 (SRBC) でサルを免疫し、それぞれ免疫後12日目に採血して得られた血清の溶血素価及び凝集素価を測定した。

図6は溶血素価を示したもので、PCDFs 投与によりサルの抗体産生能は1/2~1/8に減じた。なお、13-CRA やスクアランをサルに投与してもこれらの抗体産生能に実験期間を通じて影響を与えなかった。

#### 考 察

著者らは油症原因油中に存在する PCDFs をサルに投与することにより油症症状の一部を発症させる事に成功した<sup>3)6)7)</sup>。しかし、PCDFs 中毒サルを油症モデルとして採用するには困難ことがある。すなわち、PCDFs の最少発症量と致死量 (100 µg/kg<sup>6)</sup>) が近似しているに加えて、PCDFs は遅延性の毒性を示すために著明な発症を認めるまで PCDFs を投与すると、その後サルは死亡してしまうことである。そこで、今回は PCDFs 20 µg/monkey/day に週3回、3週間だけ投与した。その結果、体重減少、眼瞼の浮

腫、血清トリグリセライド値の上昇、免疫機能抑制、爪の剥離などが認められたが、PCDFs を多量に投与した時に発現する著明な脱毛や顔面のアクネなどは観察されなかった<sup>3)7)8)</sup>。

13-CRA やスクアランによる治療効果を上記の眼瞼浮腫、爪の剥離、体重減少、血清トリグリセライド値の上昇、免疫抑制などを指標にした所、スクアラン投与により体重減少の回復及び血清トリグリセライド値に若干の改善が見られた。しかしながら、今回の報告は中間的なもので、今後薬物代謝酵素や生化学及び病理組織学的検索を行なった後、総合的に判断すべきであろう。

他方、油症治療において体内 PCDFs の排泄促進が重要な課題である。今回用いた 13-CRA 及びスクアランはともに肝臓中の蓄積 PCDFs 量をそれぞれ 21%及び 20%低下させた。また、肝臓に蓄積されている PCDFs 組成は 5 Cl-PCDFs (1, 2, 4, 7, 8- 及び 2, 3, 4, 7, 8-penta-CDF) 及び 6 Cl-PCDFs (1, 2, 3, 4, 7, 8- 及び 1, 2, 3, 6, 7, 8, -hexa-CDF) が主なものである<sup>9)</sup>。次に、これらの組成比 (6 Cl/5 Cl) は PCDFs 単独投与群で 3.2, PCDFs+13-CRA 投与群で 1.7, PCDFs+スクアラン投与群で 1.9 で、PCDFs 単独投与群に比べて 13-CRA やスクアラン投与群では 6 Cl-PCDFs 量が減少した。すなわち、13-CRA やスクアラン投与により減少する PCDFs は主に 6 Cl-PCDFs である。一方、我々は別のサルの実験から胆汁中の PCDFs は他の臓器に比べて極端に 6 Cl-PCDFs が多いことを明らかにした<sup>4)</sup>。さらに、スクアランはラット糞中への 6 Cl-PCB (2, 4, 5, -2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl) 排泄を促進させることが報告されている<sup>10)</sup>。これらの事を考え合えると、13-CRA やスクアランは PCDFs の胆汁からの排泄を促進させるか、胆汁から排泄された PCDFs の腸管からの再吸収を抑制することにより肝臓中の PCDFs 量が減少するものと考えられる。

今回サルケージに問題があり糞の正確な採取が出来ず糞中への PCDFs 排泄が明らかに出来なかったが、今後体内蓄積 PCDFs の排泄に対する 13-CRA 及びスクアランの効果をより正確に把握するために血液及び組織中 PCDFs の詳細な解析を行ないたい。

#### ま と め

PCDFs 中毒サルを用いて 13-cis retinoic acid (13-CRA) 及びスクアランの油症治療効果を検討した。

1) PCDFs 投与でサルで体重減少, 眼瞼浮腫, 爪の剝離, 免疫抑制及び血清トリグリセライド値の上昇が認められた。

2) 眼瞼浮腫や爪の剝離などの一般的所見に対して 13-CRA やスクアランの効果はみられなかった。

3) スクアランは体重減少及び血清トリグリセライド値上昇に若干の効果が認められた。しかし, スクアランの治療効果を判断するには, さらに多くの検索(病理組織学的検索など)を行なった後に判断すべきである。

4) 肝臓中の蓄積 PCDFs 量は  $1.36 \mu\text{g}$  (PCDFs 単独投与群),  $1.07 \mu\text{g}$  (PCDFs+13-CRA 投与群) 及び  $1.09 \mu\text{g}$  (PCDFs+スクアラン投与群) で, 13-CRA 又はスクアラン投与により PCDFs 単独投与群に比べてそれぞれ 21% 及び 20% 減少した。

5) スクアランの肝臓及び血液中の平均濃度はそれぞれ 179.2 ppm 及び 4.93 ppm であった。

稿を終えるにあたり, 熱媒体及び 13-cis retinoic acid を供与していただきました九州大学薬学部吉村英敏教授ならびに日本ロシュ研究所に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) 堀伸二郎, 榎本 隆, 国田信治, 福田芳生: ラットにおける polychlorinated quaterphenyl (PCQ) の生体内分布とその病理組織学的検索. 大阪府公衛研所報 食品衛生編 10: 171-179, 1979.
- 2) 堀伸二郎, 尾花裕孝, 榎本 隆, 国田信治, 福田芳生: ラットにおける polychlorinated quaterphenyl, polychlorinated dibenzofuran の肝ミクロゾーム薬物代謝酵素及び病理組織におよぼす影響. 大阪府公衛研所報 食品衛生編 12: 27-37, 1981.
- 3) Hori, S., Obana, H., Kashimoto, T., Otake, T., Nishimura, H., Ikagami, N., Kunita, N. and Uda, H.: Effect of polychlorinated biphenyls and polychlorinated quaterphenyls in cynomolgus monkey. Toxicology. 24: 123-139, 1982.
- 4) 堀伸二郎, 尾花裕孝, 田中涼一, 榎本 隆, 高松 誠: サルにおける油症 PCDFs の生体内分布とその致死量. 第 11 回 環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム (札幌), 講演要旨集. 122-124, 1984.
- 5) 堀伸二郎, 尾花裕孝, 吉田政晴, 吉田善彦, 榎本 隆, 高松 誠: サルにおける polychlorodibenzofurans (PCDFs) の生体内分布とその致死量. 大阪府公衛研所報 食品衛生編. 15: 69-73, 1984.
- 6) Kunita, N., Hori, S., Obana, H., Otake, T., Nishimura, H., Kashimoto, T. and Ikegami, N.: Biological effect of PCBs, and PCDFs present in the oil causing Yusho and Yu-Chen. Environmental Health Perspectives. 59: in press.
- 7) Kunita, N., Kashimoto, T., Miyata, H., Fukushima, S., Hori, S. and Obana, H.: Causal agents of Yusho. Am. J. Indust. Med. 5: 45-58, 1984.
- 8) McConnell, E. E., Moore, J. A. and Dalgard, D. W.: Toxicity of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Rhesus monkeys following a dose. Toxicol. Appl. Pharmacol. 43: 175-187, 1979.
- 9) Miyata, H. and Kashimoto, T.: Separation and detection of polychlorodibenzofurans on Japanese commercial PCBs and their heated preparation. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 17: 227-230, 1976.
- 10) 日本経済新聞 (朝刊). 5 月 27 日, 1983.
- 11) Richter, E., Schäfer, S. G. and Fichtl, B.: Stimulation of the faecal excretion of 2, 4, 5, 2', 4'5'-hexachlorobiphenyl in rats by squalene. Xenobiotica. 13: 337-343, 1983.

## 油症における呼吸器系ならびに免疫系の障害

### 経過ならびに発病機序について

九州大学医学部胸部疾患研究施設

中 西 洋 一・栗 田 幸 男

鐘ヶ江 秀 明・重 松 信 昭

## Respiratory Involvement and Immune Status in Polychlorinated Biphenyls and Polychlorinated Dibenzofurans Poisoning

Yoichi NAKANISHI, Yukio KURITA, Hideaki KANEGAE  
and Nobuaki SHIGEMATHU

*Research Institute for Diseases of the Chest, Faculty of Medicine,  
Kyushu University Fukuoka 812, Japan*

Respiratory distress and abnormalities of clinical and laboratory investigation of 401 patients with Polychlorinated Biphenyls (PCB) and Polychlorinated Dibenzofurans (PCDF) poisoning have been studied since 1969 to 1983. About a half of the patients were complaining of respiratory distress a/o secondary airway infections at an early stage. Thereafter the respiratory distress occurring in these patients improved gradually for the 10 years following onset of the disease. However, over the next 5 years (from 10 to 15 years after onset) little or no improvement of respiratory symptoms was observed in most cases.

Pathophysiological studies showed that respiratory involvement in Yusho was mainly that of small airways disease and the disease state was mildly improved in 1983.

The effect of PCDF on 1) two T-cell subsets (namely helper and suppressor T-cells), and 2) the response to nonspecific mitogen-PHA was studied in Japanese Yusho patients 14 years after onset. High OKT 4/8 ratio (helper/suppressor T-cell ratio) and lowered responsiveness to PHA were seen. Conversely, Yan-Chin Lü reported a low OKT 4/8 ratio and enhanced responsiveness to PHA in Chinese PCB poisoning patients 3 years after onset.

In order to clarify these discrepancies, and to analyze the effects of PCDF on lung tissue and immune status, animal experiments were done.

1) Male rats of the SD strain were given 0.25 mg of PCDF 6 times within 2 weeks by gastric intubation. Severe necrotic changes of the bronchiolar Clara cells and mild pulmonary edema and vascular congestion were seen. The thymus of rats which were given PCDF decreased in size and thymic microscopic features showed severe atrophy.

2) Female mice of the CH3 strain were given 5 mcg of PCDF by intraperitoneal injection. Analysis of T-cell subsets of mice blood 4 weeks after injection showed lowered anti Thy-1. 2 positive cells (pan T-cells) and low Thy 1/2 ratio (helper/suppressor ratio).

3) Female mice of C57/Black strain were given 5 mcg of PCDF intraperitoneal injection. A statistically significant hyperfunction of white blood cells (predominantly neutrophils) in mice given PCDF was observed by the measurement of chemiluminescence, when compared with those in control mice.

These results suggest that PCDF leads to severe toxicity to bronchiolar Clara cells and thymus, as compared with that of PCB. In addition helper T-cells are selectively damaged in the acute phase of the PCDF poisoning as shown in Chinese patients. Further, the results suggest that in PCDF poisoning the T-cell function is suppressed, while function of neutrophils is activated. It is not clear, however, whether these changes are direct effects or indirect ones of PCDF, but it is suggested from our study that these abnormalities correlate with chronic bronchitis-like symptoms in Yusho patients.

## はじめに

昭和43年以降、福岡県をはじめ西日本各地に多発した油症<sup>5) 6) 8) 12)</sup>罹患者は、発症より16年が経過した現在でも、いまだに皮膚症状や呼吸系の症状を有している。今回までの研究により、その主たる原因物質は Polychlorinated dibenzofuran (PCDF) であることが解明された<sup>7)</sup>。また、近年 PCB および PCDF の長年の体内残留と発癌との関連<sup>4)</sup>や、PCDF 投与動物に認められる著明な胸腺萎縮が注目されており<sup>3)</sup>、油症患者にみられる慢性気管支炎様症状の発症機序と、くり返す気道感染の問題を含めた油症における免疫系の機能異常を再評価する必要があると思われる。

今回、われわれは、油症罹患者における呼吸器障害の転帰評価と免疫学的機能検査を施行し、さらに PCB・PCDF が呼吸器系、免疫系に及ぼす影響につき動物実験を施行したので、その結果を報告する。

## 研究対象ならびに方法

### 1. 臨床的研究

対象は、401名の油症患者で、その臨床症状、胸部レ線像、肺機能検査、喀痰検査、血清免疫グロブリン値につき、経年的に追跡調査を行った。また、昭和58年に当科を受診した患者38名に対し、PHA による末梢血リンパ球幼若化能、および Ortho 社製抗ヒトリンパ球モノクローナル抗体 (OKT<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>8</sub>) を用いて、末梢血 T リンパ球亜群を測定し、免疫機能の評価をした。

### 2. 動物実験

1) 体重約 220 g の SD 系、雄ラットに、①2.5 mg の PCB、②0.25 mg の PCDF を、それぞれ 2 ml の食用油に溶解したもの、および対照として食用油 2 ml を、胃管より隔日計 3 回注入した。さらに各群につき隔日計 6 回投与した。これら各群の気管支肺の光顕像、電顕像を検討した。(実験に用いたカネ

クロール 400, PCDF は、第一薬科大学増田教授より供与をいただいた)。

2) 生後 10 週齢の C3H 系雌マウスに、①0.1 ml の食用油、②50  $\mu$ g の PCB、③0.5  $\mu$ g の PCDF、④5  $\mu$ g の PCDF を、各 1 回腹腔内投与した。②～④群は、それぞれ 0.1 ml の食用油に溶解したものを使用した。各群のマウスは、投与 1 週目、および 4 週目に処置し、各臓器の変化を観察した。

3) 5  $\mu$ g の PCDF を投与したマウス (使用マウス、処置法は 2) に準じた) で、投与 4 週目の血液中リンパ球亜群の変動を比較検討した。マウス血液を心腔内採血後ただちに塩化アンモンにて溶血させ、PBS にて 3 回洗浄して採取した白血球画分を Becton Dickinson 社製 FITC 標識抗マウスモノクローナル抗体 (抗 Thy-1.2, 抗 Lyt-1, 抗 Lyt-2) および抗マウス IgM 抗体に 4°C、45 分間インキュベートした後に、再度 PBS にて 2 回洗浄し、Becton-Dickinson 社製フローサイトメトリー (FACS) によつて、T リンパ球亜群と B リンパ球の比率を測定した。

4) 生後 10 週齢の C57/Black 系、雌マウスに、①0.1 ml の食用油に溶解した PCDF 5  $\mu$ g、②0.1 ml の食用油のみを、それぞれ腹腔内に 1 回投与し、5 日後に顆粒球機能の変化を化学発光 (chemiluminescence) の測定をして評価した。心腔内より採取した 300  $\mu$ l の全血に、PBS 200  $\mu$ l とルミノール 20  $\mu$ l を加え、Phorbol myristate acetate (PMA) にて刺激した後、ルミノメーターにて白血球が発する化学発光を計測した。

## 結 果

### 1. 臨床的研究

#### 1) 呼吸器症状・所見とその経過

油症に伴う呼吸器系の主症状は慢性気管支炎様の症状、すなわち咳嗽と喀痰であり、患者の訴えでは「かたくり色の痰」という表現が特徴的であった。また、しばしば気道感染をくり返す症例もみられた。一方、

**Table 1.** Clinical course of respiratory symptoms (cough and sputa) in 79 cases, which were followed up for 11 years

| Symptoms |              | 1972-1973 | 1974-1975 | 1977-1978 | 1983     |
|----------|--------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| Positive | Exacerbated* | 10 (21%)  | 13 (16%)  | 14 (26%)  | 4 (9%)   |
|          | Unchanged*   | 18 (38%)  | 39 (49%)  | 18 (33%)  | 30 (70%) |
|          | Improved*    | 7 (15%)   | 15 (19%)  | 12 (22%)  | 0        |
| Negative |              | 12 (26%)  | 12 (15%)  | 10 (19%)  | 9 (21%)  |

\* The change of symptoms in the course was compared with those in the late check-up year.

肺の理学的所見は通常の慢性気管支炎患者で認められるものとはかなり異なっていた。すなわち、喫煙者以外の油症罹患者では、大量の喀痰を喀出する者でも湿性ラ音は聴取されず、また、一部の喘鳴を伴う者でも、理学的、免疫学的、レ線学的に気管支喘息や肺気腫に相当する所見は呈さなかった<sup>10)</sup>。

呼吸器症状は、皮膚症状の出現とほぼ同時期ないしやや遅れて出現したといわれているが、発症1年後の実態調査時でも非喫煙者の約40%が喀痰を伴う咳嗽を訴えており<sup>10)</sup>、その後10年間の追跡調査では徐々に軽快傾向を示したものの、最近5年間では大半の症例で改善の兆候は認められていない (Table 1)。特に、血中 PCB 濃度が高値を保っている症例と、慢性気道感染症状を有する症例でその傾向が強かった<sup>10)</sup>。

## 2) 非喫煙者の肺機能検査成績と肺聴診所見

30才から49才までの非喫煙者の肺機能検査の結果は、Table 2に示した通りである。肺活量と一秒率はほとんどの症例で正常域内にあったが、動脈血酸素分圧は8例で低下しており、 $\dot{V}_{50}$  と  $\dot{V}_{25}$  は半数の症例で軽度低下していた。これらの末梢気道の閉塞性パターンを示す症例では、昭和45年から昭和49年にかけては、常時、吸気時と呼気時の乾性ラ音が聴取された<sup>10)</sup>。昭和58年に測定された時点では、機能上軽度の改善が認められ、乾性ラ音は聴取されなかった。

## 3) 免疫学的検査

昭和45年に、初めて免疫グロブリン値が測定された時には、血清 IgA 値と血清 IgM 値の低下と IgG 値の上昇が認められた。昭和47年には、血清 IgA 値の低下が持続した3症例を除き、全例の免疫グロブリン値が正常化した<sup>10)</sup>。IgA 値と臨床症状の間には、統計学上有意味の差は認められなかったが、29例中、IgA 値が100 mg/dl 以下であった5症例は、呼吸器症状を伴っており、残る24症例は同症状を伴っていなかった<sup>10)</sup>。IgM 値は著明な皮膚症状を呈した症例では有意に低下していたが、これらの症例で喀痰中の IgA 値の低

**Table 2.** Pulmonary Function Test in 12 Nonsmoking Patients\* with Reticulo-linear Shadows about 1 Year after Onset of Respiratory Distress and at Follow-up

| Measurement                          | 1970  | 1973<br>-1974 | 1983 |
|--------------------------------------|-------|---------------|------|
| VC/predicted VC(%)                   | > 100 | 5             | 6    |
|                                      | > 90  | 1             | 5    |
|                                      | > 80  |               | 1    |
| FEV <sub>1</sub> /FVC(%)             | > 80  | 3             | 9    |
|                                      | > 75  | 3             | 3    |
| V <sub>max</sub> 50 (liters/sec)     | > 4.0 |               | 6    |
|                                      | > 2.0 |               | 6    |
| V <sub>max</sub> 25 (liters/sec)     | > 1.5 | 5             | 2    |
|                                      | > 1.0 | 5             | 3    |
|                                      | > 0.7 | 2             | 1    |
| P <sub>a</sub> O <sub>2</sub> (mmHg) | > 85  | 3             | 4    |
|                                      | > 70  | 2             | 7    |
|                                      | > 60  | 1             | 1    |

\* Ages were distributed between 30 and 49 years.

下は認められなかった。血清免疫グロブリン値は、昭和55年に再度測定されたが、この時は全例が正常値を示した (Table 3)。

通常、抗ヒトリンパ球モノクローナル抗体 OKT-3 は汎T細胞を、T<sub>4</sub> はヘルパーT細胞を、T<sub>8</sub> はサブプレッサーT細胞を認識するといわれている<sup>10)19)</sup>。今回のわれわれの調査では、油症患者群で、T<sub>4</sub> 陽性細胞 (ヘルパーT細胞) の軽度の増加傾向を、T<sub>8</sub> 陽性細胞 (サブプレッサーT細胞) の軽度の低下傾向を認め、全体として T<sub>4</sub>/T<sub>8</sub> 比の増加傾向を認めた。この傾向は血中 PCB 濃度がより高い群 (>10 A) で著明であった。一方、PHA に対するリンパ球幼若化能は、油症患者、特に高濃度 (>10 A) 群ではより低い傾向を示した (Table 4)。

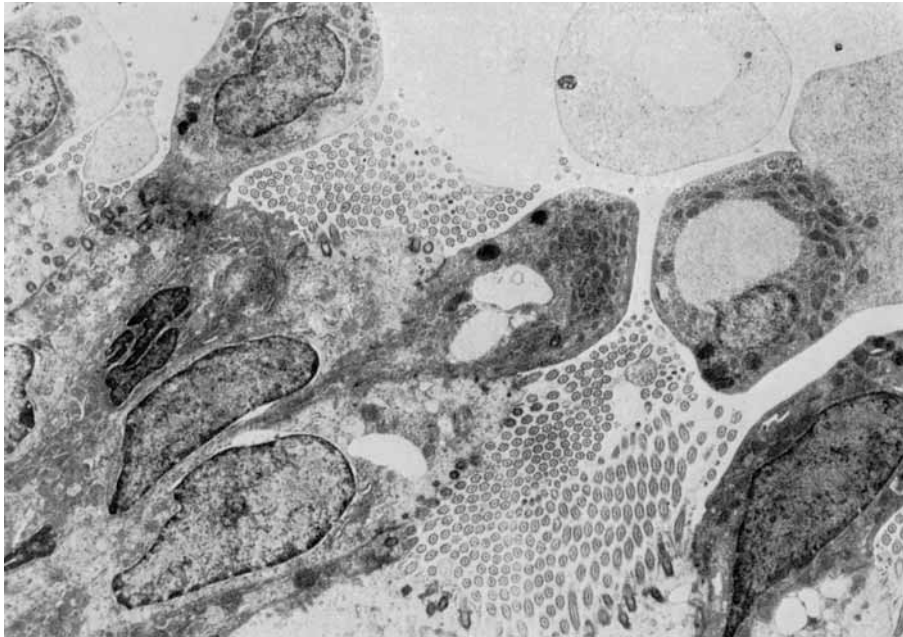


Fig. 1 (A)

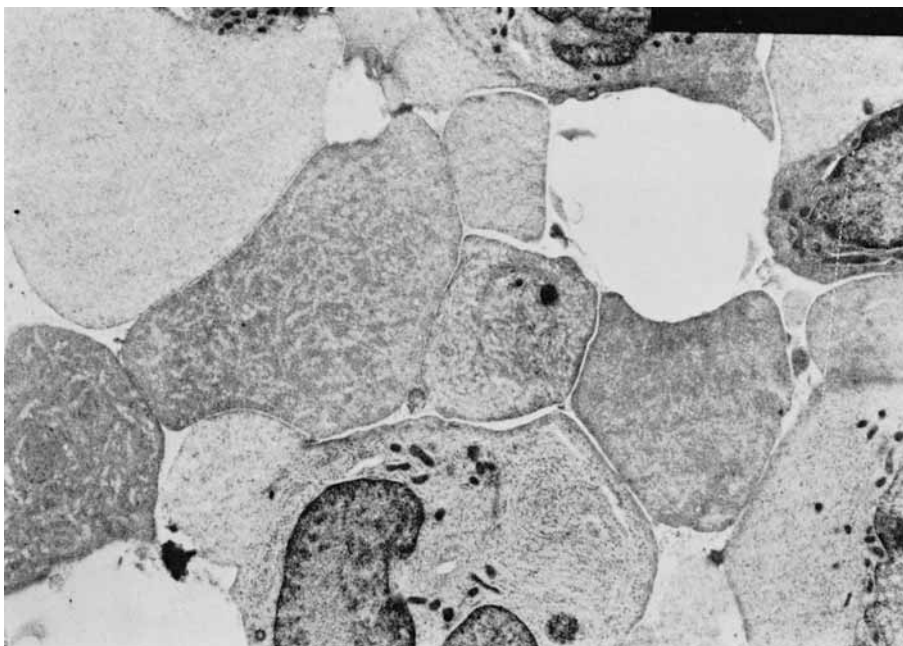


Fig. 1 (B)

Fig. 1. Ultrastructural view of rat lungs given PCDF for 2 weeks.  
(A) Degeneration and necrosis of the Clara cells and (B) Hyperplasia of them are clearly seen ( $\times 2600$ ).

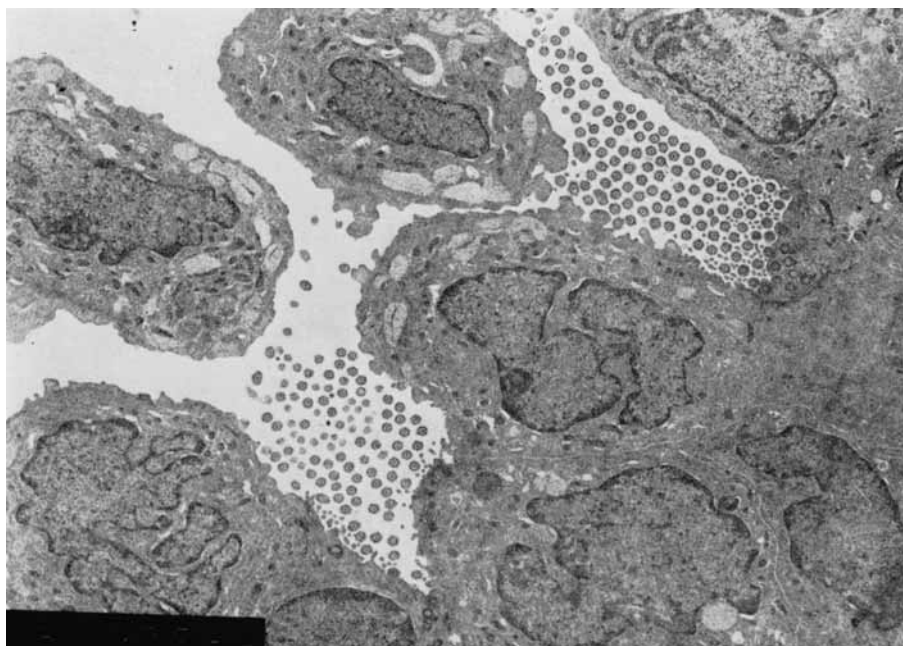


Fig. 2. Ultrastructural view of rat lungs given PCB. A proliferation of agranular endoplasmic reticulum in the cytoplasm is seen, but no necrotic changes are demonstrated ( $\times 2600$ ).

Table 3. Serial Serum Immunoglobulin Levels in Adult Yusho Patients (mg/dl, Mean  $\pm$  S. D.)

| Date of exam.  | Cases | IgG             | IgM            | IgA             |
|----------------|-------|-----------------|----------------|-----------------|
| Mar.-June 1970 | 28    | 1655 $\pm$ 414* | 127 $\pm$ 57** | 151 $\pm$ 77**  |
| July-Oct. 1970 | 27    | 1843 $\pm$ 628* | 186 $\pm$ 92   | 286 $\pm$ 100** |
| Jan.-Mar. 1971 | 9     | 1516 $\pm$ 471* | 225 $\pm$ 103* | 253 $\pm$ 149   |
| June-Aug. 1971 | 13    | 1571 $\pm$ 341* | 185 $\pm$ 65   | 203 $\pm$ 64    |
| Oct.-Dec. 1971 | 24    | 1586 $\pm$ 604* | 172 $\pm$ 88   | 232 $\pm$ 70    |
| Jan.-Mar. 1972 | 29    | 1340 $\pm$ 447  | 166 $\pm$ 91   | 206 $\pm$ 97    |
| Nov.-Dec. 1980 | 15    | 1307 $\pm$ 239  | 153 $\pm$ 61   | 199 $\pm$ 72    |
| Control        | 57    | 1243 $\pm$ 329  | 170 $\pm$ 54   | 207 $\pm$ 96    |

\* Significant increase ( $p < 0.01$ ) compared to control

\*\* Significant decrease ( $p < 0.01$ ) compared to control

Table 4. Lymphocyte Subsets and Function by OKT-series and PHA in Patients with Yusho

| Subjects          | OKT 3          | 4              | 8              | 4/8             | PHA          |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|--------------|
| Control           | 68.3 $\pm$ 8.6 | 41.2 $\pm$ 5.7 | 26.0 $\pm$ 5.0 | 1.63 $\pm$ 0.45 | 303 $\pm$ 70 |
| Yusho (n=38)      | 63.8 $\pm$ 8.0 | 42.7 $\pm$ 8.1 | 22.8 $\pm$ 6.2 | 1.98 $\pm$ 0.82 | 268 $\pm$ 96 |
| <10A (n=28)       | 63.1 $\pm$ 9.1 | 42.0 $\pm$ 8.8 | 23.5 $\pm$ 5.5 | 1.84 $\pm$ 0.74 | 286 $\pm$ 58 |
| $\geq 10A$ (n=10) | 65.6 $\pm$ 6.1 | 44.7 $\pm$ 6.3 | 21.0 $\pm$ 7.3 | 2.44 $\pm$ 0.93 | 248 $\pm$ 97 |

<10A,  $\geq 10A$  indicate PCB concentration in the blood.

## 2. 油症中毒物質の呼吸器系・免疫系に与える障害に関する実験

### 1) ラットを用いた実験

PCDF 投与ラット肺組織 (Fig. 1 (A) (B)) では, PCB 投与ラット (Fig. 2) に比し細気管支のクララ細胞の膨化, 変性が著明で, 一部壊死に陥っており, 大量投与群では壊死がより著明で, その大半は剥脱していた. 別の部位では, 肺胞隔の浮腫状変化と肺胞内への軽度のフィブリンの析出がみられた. これらの変化は PCB 投与群では軽度であった.

肺以外の臓器では, PCDF 投与群では胸腺の萎縮がきわめて著明であったが, PCB 投与群では変化は軽度であった<sup>12)</sup>.

### 2) マウスを用いた実験

C3H 系マウスへの PCB・PCDF 投与群では, 腹腔内投与後より 4 週後にいたるまでの成長曲線に差はなかった. 各臓器の病理組織学的変化でも, ラットにみられたような著明な変化はみられなかったものの, 高濃度 PCDF 投与群の胸腺重量は有意に低下しており, 構造の破壊と細胞の脱落が認められた.

PCDF 投与 C3H マウスの血液中リンパ球亜群は, 対照群と比較して, 抗 Thy-1 陽性細胞と抗 Lyt-1 陽性細胞の比率の低下がみられ, 抗 Lyt-2 陽性細胞の比率には差がみられなかった. これらのリンパ球亜群は, それぞれ汎 T 細胞, ヘルパー T 細胞, サプレッサー T 細胞を認識するといわれており<sup>7)</sup>, われわれの実験系では, PCDF 投与により T 細胞比率の減少がおこるが, それは特にヘルパー T 細胞比率の減少に起因することが示唆された (Fig. 3).

PMA 刺激による C 57/Black 系マウスの化学発光はヒト白血球のものに比べて, かなり低いレベルのものであった. Fig. 4 に示すように, PCDF 投与群のものは対照群に比較して有意に高く, 白血球 (好中球) 機能の活性化が PCDF 投与により生じていることが認められた.

## 考 察

### 1) 呼吸器系障害の病態とその発症機序について

油症の原因物質は, PCB, PCQ, PCDF であることが証明されているが, Bradt ら<sup>23)</sup>は, 最近のマウスを用いた実験で, 気管支粘膜への PCB の蓄積を示し, それは投与量や PCB の構造に依存することを述

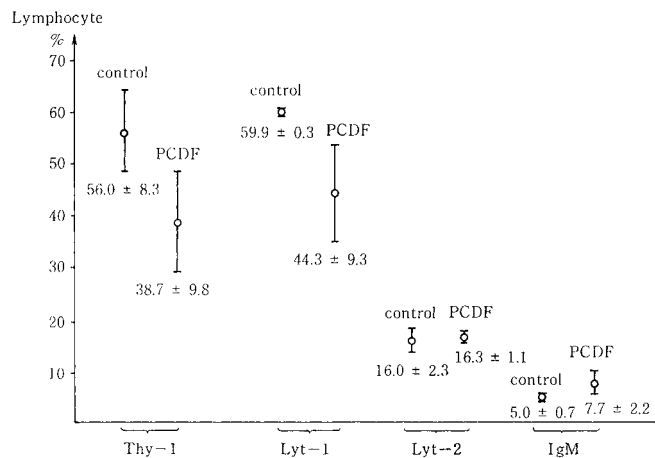


Fig. 3 T. B cell subpopulation and T cell subset

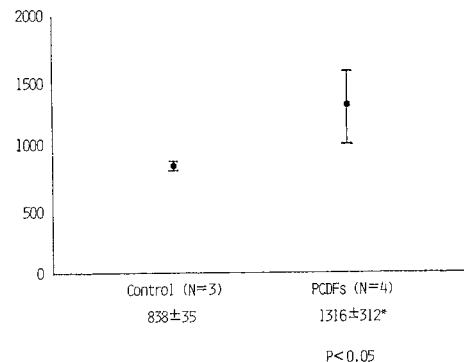


Fig. 4. Chemiluminescence.

べている. 油症発生早期にみられた大量の喀痰は, これらの事実由来するものかもしれない. しかし, 油症患者の X 線像, 病理像および肺生理学的検査所見は, 油症による呼吸器系の障害は主として末梢気道のもの, すなわち細気管支上皮細胞障害および感染の併発によって引き起こされることを示している. この点について最近明らかになったのは次のようなことである. ①油症の主たる原因物質は PCDF であること<sup>7)</sup>. ②Furan 誘導体 (4-ipomeanol) は細気管支クララ細胞の壊死をひきおこすが, 同物質による細胞障害は, 作用早期においてきわめて選択的であること, ③それに引き続いて生じる肺組織の障害としては, 肺水腫, 胸水貯留, 肺うつ血と出血がおこること<sup>1)</sup>. われわれの PCDF 投与ラット肺でも, 4-ipomeanol によって生じたものと類似した病理組織学的変化が認められた.

呼吸器症状はウィルス感染や細菌感染により, しばしば急性増悪がみられた. 細菌感染併発例では, グラ

△陰性桿菌が検出されることが多く、検索した症例の半数では持続的に菌が検出された<sup>17)</sup>。

## 2) 免疫系障害とその発症機序について

日本の油症患者と台湾の油症患者の免疫系の異常を比較してみると、体液性免疫についてはほとんど同じような結果であった<sup>9)</sup>。すなわち、発症より2年後では、血清 IgA 値と IgM 値は共に低下しており、3年目以降は正常化した。

Li<sup>9)</sup> は、発症3年目の台湾での油症患者で OKT<sub>4</sub>/T<sub>8</sub> 比 (ヘルパー/サプレッサー T 細胞比) の低下と、PHA に対する反応性の上昇を示している。これに反して、発症より14年目にわれわれが検討した日本の油症患者では、逆に T<sub>4</sub>/T<sub>8</sub> 比の上昇と PHA に対する反応性の低下が認められた。

われわれのマウスを用いた PCDF 投与実験でも、投与後4週目の T 細胞亜群は、抗 Lyt-1 陽性細胞すなわちヘルパー T 細胞の比率低下が認められ、発症早期にはヘルパー T 細胞が選択的に障害されることが示唆された。このような T 細胞の異常と胸腺萎縮の間には、何らかの関係があるとは思われるが、PCDF が直接的に T 細胞を障害するのか、胸腺を介して障害を与えるのか、あるいは PCDF 投与後の T 細胞亜群の変動は体内への PCDF の残留度と共にどのような経過をたどるのかといった問題については今後の検討が必要と思われる。

最近、化学発光による好中球の機能検査により慢性感染症患者で好中球機能が活性化されていること、急性増悪によりその活性がより高まることが示されている。われわれの成績では PCDF 投与によりマウス好中球機能は活性化されており、油症患者における易感染性には、好中球の機能低下は直接関与しない可能性が推察される。

PCB が免疫系に及ぼす影響についての研究は少ないが、非妊娠齧歯類で、ガンマグロブリン値の低下がみられる報告や<sup>11)18)20)</sup>、油症患者はストレプトキナーゼとストレプトドルナーゼに対する遅延型過敏反応の低下がみられるという報告<sup>9)</sup>がある。油症発生以来、すでに16年が経過しているが、長期にわたる PCB の体内残留、発癌の問題、慢性気道感染の問題など油症治療に加えて解決すべき諸問題は多く、その一端としての免疫系の異常について今後とも検討を重ねる必要があると思われる。

## ま と め

昭和46年以来油症における呼吸器系と免疫系の臨床

的並びに実験的研究を報告してきた。今回は昭和55～58年に行った油症患者の両系における異常所見の経過を検討したので、そのまとめを行うと共に、実験的には両系における最近の研究手法の進歩を用いて、それらの異常所見の発症機序を再検討した。

1) 呼吸器症状は最近5年間は殆ど不変である。特に血中 PCB 濃度が高値を続ける例と慢性気道感染症状を有する例でその傾向が強い。また、末梢気道の閉塞性パターンは前回調査に比し軽快の傾向がみられた。

2) 免疫グロブリン値は正常で、Tリンパ球の subset の検討ではヘルパー T 細胞の軽度の増加とサプレッサー T 細胞の軽度低下傾向を認め、この傾向は血中 PCB 濃度がより高い群で著明であった。

3) 使用動物と毒物の量により障害度は異なるが、傾向として、PCDF は細気管支のクララ細胞の選択的な変性、更に壊死および増生が認められた。

4) PCDF 投与は胸腺の萎縮を来すと共に、ヘルパー T リンパ球の減少と PHA に対する芽球化反応の低下を来した。

## 文 献

- 1) Boyd, R. M.: Metabolic activation of pulmonary toxins, In: Mechanisms in respiratory toxicology, Vol. 2. CRC Press, Inc.: pp. 85-112, 1982.
- 2) Bradt, I.: The distribution of 2, 2', 3, 4, 4', 6' and 2, 3, 4, 4', 5, 6-hexachlorobiphenyl in mice studied by autoradiography. Toxicology. 4: 275-287, 1975.
- 3) Bradt, I., Bergman, A. and Wachtmeister, A.: Distribution of polychlorinated biphenyls.: structural requirements for accumulation in the mouse bronchial mucosa. Experientia. 32: 497-498, 1976.
- 4) Chang, K. J., Hsieh, K. H., Tung, S. Y. and Tung, T. C.: Immunologic evaluation of patients with polychlorinated biphenyl poisoning: evaluation of delayed-type skin hypersensitive response and its relation to clinical studies. J. Toxicol. Environ. Health 9: 217-223, 1982.
- 5) 五島応安ほか: 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, 1969.
- 6) 平山千里ほか: 油症患者肝臓の形態学的所見. 福岡医誌 60: 455, 1969.
- 7) Kunita, N., Hori, S., Obana, H. et al.: Biochemical effect of PCBs, PCQs and PCDFs present in the causal oil, Japan-U. S. Seminar on toxicity of PCBs, PCDFs and Di-

benzodioxins and related compounds, *Environ. Health Perspect.* 59: 79-84, 1985.

8) 倉恒匡徳ほか: 油症の疫学的研究. 福岡医誌 60: 513, 1969.

9) Lü, Y.-C. Wu, Y.-C.: Clinical findings and immunological abnormalities in Yu-Cheng patients. Japan-U. S. Seminar on toxicology of PCBs, PCDFs and Dibenzodioxins and related compounds *Environ. Health Perspect.* 59: 17-29, 1985.

10) Ledbetter, J. A., Rouse, R. V., Micklem, H. S. and Herzenberg, H. A.: T-cell subsets defined by expression of Lyt-1, 2, 3 and Thy-1 antigens. *J. Exp. Med.* 152: 280-288, 1980.

11) Loose, L. D., Pittman, K. A. and Silkworth, J. B.: Polychlorinated biphenyl and hexachlorobenzene induced humoral immunosuppression. *J. Reticuloendothel. Soc.* 22: 3253-3258, 1977.

12) Nakanishi, Y., Shigematsu, N., Kurita, Y. et al.: Respiratory involvement and immune status in Yusho patients, Japan-U. S. seminar on toxicology of PCBs, PCDFs and Dibenzodioxins and related compounds. *Environ. Health Perspect.* 59: 31-36, 1985.

13) 奥村 恂ほか: 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. 福岡医誌 60: 440, 1969.

14) Reinhelg, E. L., Kung, P. C., Goldstein,

G. and Schlossman, S. F.: Further characterization of the human inducer subset defined by monoclonal antibody. *J. Immunol.* 123: 2894-2896, 1979.

15) 重松信昭, 乗松克政, 石橋凡雄ほか: 油症における呼吸器障害の臨床的ならびに実験的研究. 福岡医誌 62: 150-156, 1971.

16) 重松信昭, 石丸秀三, 池田東吾ほか: 油症における呼吸器障害と血中ならびに喀痰中の PCB 濃度との関係. 福岡医誌 68: 133-138, 1977.

17) Shigematsu, N., Ishimaru, S. Saito, R. et al.: Respiratory involvement in polychlorinated biphenyls poisoning. *Environ. Res.* 16: 92-100, 1978.

18) Street, J. C. and Sharma, R. P.: Alteration of induced cellular and hormonal immune responses by pesticides and chemicals of environmental concern. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 32: 587-602, 1975.

19) Thomas, Y., Sosman, J., Irigoyen, O. et al.: Functional analysis of human T-cell subsets defined by monoclonal antibodies. *J. Immunol.* 125: 2402-2408, 1980.

20) Vos, J. G. and DeRoij, T. H.: Immunosuppressive activity of a polychlorinated biphenyl preparation on the humoral immune response in guinea pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 21: 549-555, 1972.

## Effect of PCBs on DMH-induced Colon Tumorigenesis in Rats

Masahiro NISHIZUMI

*Department of Community Health Science  
Saga Medical School, Saga, Japan*

**ABSTRACT** In order to examine the effect of PCBs on DMH-induced colon tumorigenesis, KC 500 was administered to rats before or after DMH administration. Although DMH-induced colonic tumors showed slight increase in number in the rats given KC 500 sequentially, size of colonic tumors at 28 weeks was significantly larger in the rats given KC 500 before or after DMH administration than those given DMH alone. Translocation of colonic tumors to distal section was also seen in the rats given KC 500 followed by DMH. Thus, colon tumorigenesis was promotionally affected by administration of PCBs.

### Introduction

Studies have been done on hepatocarcinogenicity and hepatic tumor-enhancing activity of polychlorinated biphenyls (PCBs)<sup>(1)~(9) (12) (14) (16)~(18)</sup>. However, there are no reports concerning with the effects of PCBs on chemical carcinogenesis produced in the organ other than the liver. It is important to know the presence or not of organ specificity as a tumor enhancer, as well as to gain more information on a tumor-enhancing effect of PCBs, which are contaminants distributed widely in our environment. This paper reports the effect of PCBs on colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH), which is a colon-specific carcinogen in rodents, with sequential exposure.

### Materials and Methods

Eighty Wistar strain male rats were randomly divided into four groups as follows; group 1—treatment with DMH alone for 10 weeks, group 2—treatment with DMH for 10 weeks followed by PCBs for 3 weeks, group 3—treatment with PCBs for 3 weeks followed by DMH

for 10 weeks, and group 4—treatment with PCBs alone for 3 weeks. Experiments were started at 8 weeks old in the rats of groups 1 and 2, and at 5 weeks old in the rats of groups 3 and 4. Consequently, treatment with DMH was started at 8 weeks old in all rats of groups 1, 2 and 3. Thirty milligrams/kilogram of DMH (Aldrich Chemical Co., Inc., Milwaukee, WI.) dissolved in sterile saline solution just before use was administered by subcutaneous injection once a week for 10 weeks. One hundred milligrams/kilogram of Kanechlor 500 (Kanebafuchi Chemical Co., Osaka) dissolved in olive oil was administered by gastric intubation twice a week for 3 weeks. All animals were fed a pelleted diet (CE-2, Clea Japan Co., Inc., Tokyo) and given normal tap water freely. Animals were weighed every week for 16 weeks and then every 2 weeks for the duration of the study. Six to eight rats in each group were sacrificed at 18, 24 and 28 weeks after start of DMH treatment. The entire digestive tract was opened and washed with physiological saline. Grossly visible or suspected tumors were recorded as to location, size and macroscopic morphology.

**Table I.** Numbers of Intestinal Tumors ( $\geq 2$  mm) in Rats Given DMH Alone, DMH Followed by PCBs, or PCBs Followed by DMH at 24 and 28 Weeks after Start of DMH Administration

| Group No. | Duodenal tumors            |                             | Colonic tumors             |                             |
|-----------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
|           | 24 weeks                   | 28 weeks                    | 24 weeks                   | 28 weeks                    |
| 1         | $0.5 \pm 2$<br>(3, 3, 6)   | $0.9 \pm 0.1$<br>(6, 6, 7)  | $0.5 \pm 0.3$<br>(3, 2, 6) | $1.1 \pm 0.4$<br>(8, 5, 7)  |
| 2         | $0.3 \pm 0.2$<br>(2, 2, 6) | $1.2 \pm 0.3$<br>(7, 5, 6)  | $0.3 \pm 0.2$<br>(2, 2, 6) | $1.2 \pm 0.3$<br>(7, 5, 6)  |
| 3         | $1.2 \pm 0.3$<br>(7, 5, 6) | $1.6 \pm 0.4$<br>(14, 7, 8) | $0.8 \pm 0.3$<br>(5, 4, 6) | $2.3 \pm 0.6$<br>(21, 8, 8) |
| 4         | 0<br>(0, 0, 6)             | 0<br>(0, 0, 6)              | 0<br>(0, 0, 6)             | 0<br>(0, 0, 6)              |

The data are expressed as means  $\pm$  SE. Numbers in parentheses indicate the total number of tumors per group, the number of rats bearing tumors, and the number of rats sacrificed in that order.

The liver was weighed. Other organs routinely examined were the kidney, liver, spleen, lung and zymbal's gland. Observed tumors and other organs were fixed with neutral buffered formaldehyde solution and processed for histological examination when necessary. Results were evaluated for statistical significant differences by the t-test.

### Results

Less weight gain in the rats of groups 2, 3 and 4 was observed in the period of treatment with PCBs, but not in the period of treatment with DMH. At the time of the first sacrifice (18 weeks after start of treatment with DMH), mean body weights of the rats in groups 1, 2, 3 and 4 were  $468 \pm 6$  g,  $429 \pm 9$  g,  $425 \pm 7$  g and  $435 \pm 11$  g respectively. As these figures indicate, mean body weights in groups 2, 3 and 4 were significantly lighter ( $p < 0.05$ ) than that in group 1, which was treated with DMH alone. Mean liver to body weight ratios,  $5.1 \pm 0.2$  for group 2,  $4.8 \pm 0.1$  for group 3,  $4.8 \pm 0.3$  for group 4 were significantly increased ( $p < 0.01$ ),

**Table II.** Distribution and Size of Intestinal Tumors in Rats Given DMH Alone, DMH Followed by PCBs, or PCBs Followed by DMH at 28 Weeks after Start of DMH Administration

| Group No. | Duodenal tumors             |                         | Colonic tumors              |                           |
|-----------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------|
|           | Loca- <sup>a)</sup><br>tion | Size <sup>b)</sup>      | Loca- <sup>c)</sup><br>tion | Size <sup>b)</sup>        |
| 1         | $3.3 \pm 2.2$<br>(0.5-12)   | $5.8 \pm 1.2$<br>(3-10) | $10.2 \pm 2.0$<br>(4.5-15)  | $3.1 \pm 0.3$<br>(2-5)    |
| 2         | $7.7 \pm 3.2$<br>(0.5-20)   | $5.4 \pm 1.0$<br>(3-10) | $7.9 \pm 1.3$<br>(2-11)     | $6.6 \pm 1.4^*$<br>(2-12) |
| 3         | $3.1 \pm 0.8$<br>(0.5-13)   | $6.4 \pm 0.7$<br>(3-12) | $6.4 \pm 0.8^*$<br>(1-13)   | $5.2 \pm 0.5^*$<br>(1-10) |

a) Mean distance from pyloric junction (cm; range).

b) Mean diameter (mm; range).

c) Mean distance from anorectal junction (cm; range).

\* Significant difference from the group 1 ( $p < 0.05$ ).

compared with the value of  $3.6 \pm 0.2$  for group 1. In three of 14 rats in group 3, tumors in the zymbal's gland of the ear appeared at 21 to 22 weeks, and grew rapidly up to 2 cm in diameter for 5 to 6 weeks. The similar type of tumor appeared in one of another 11 rats in group 3 at 24 weeks, and in one of 7 rats in group 1 at 28 weeks. At the first sacrifice of 18 weeks, colonic tumors were not observed except 2 rats in group 3, which appeared as small polypoid growths. The number of tumors by site observed in 24 and 28 weeks after start of DMH exposure is given in Table I. In both of duodenal and colonic tumor, number of tumors, which are larger than 2 mm in diameter, tended to increase from 24 to 28 weeks. At the corresponding period, the number of tumors in group 3 is more than that in group 1, but not significant. No histological differences of tumors were observed among group 1, 2 and 3.

As indicated in Table II, colonic tumors in rats of groups 2 and 3 were occurred in more distal section of the colon compared with those in group 1. The difference

is significant ( $p < 0.05$ ) between group 1 and 3. The size of colonic tumors occurred in the rats of groups 2 and 3 is significantly greater ( $p < 0.05$ ) than that in group 1. However, no significant differences in location and size are observed in duodenal tumors. No intestinal tumors were seen in the rats given PCBs alone throughout the experiment.

### Discussion

Dimethylhydrazine is known to be a potent carcinogen with a specific organotropism for the colon since the report of Druckrey et al<sup>20</sup>. This was also shown by the fact of nearly 90 % intestinal tumor incidence at 28 weeks in this experimental condition. In addition, sequential exposure to PCBs has also exhibited a promotional effect of significant increase in the size of DMH-induced colonic tumors, and a significant translocation of tumor site to distal section of the colon. It is also interesting that promotional effect of PCBs on zymbal's gland tumor was seen. The mechanism by which these occurs is not known and needs further experimentation. So far, animal studies has presented the potentiating effect of bile acids on colon carcinogenesis<sup>11) 11) 15)</sup>. Possible change of bile acid metabolism induced by PCBs exposure<sup>3)</sup> would be one of factors enhancing colonic tumor development. It is another possible factor that PCBs may also have an effect on the metabolism of DMH to methylazoxymethanol, which is a proximate carcinogen.

No inhibitory effect on colon carcinogenesis was observed by exposure of PCBs prior to DMH administration, while PCBs exposure prior to diethylnitrosamine administration induced inhibitory effect on hepatocarcinogenesis<sup>10) 13)</sup>. The reason why this difference had occurred, couldn't be definitely explained at this moment.

However, it may be considered that the alteration of carcinogenesis by PCBs is dependent upon the carcinogen involved.

In summary, the present study demonstrates that PCBs has a promotional effect in colon carcinogenesis, especially in distal colon carcinogenesis. Considering the ubiquitous nature of PCBs and of certain environmental carcinogens, further studies will be required for such interactions.

### References

- 1) Campbell, R. L., Singh, D. V. and Nigro, N. D.: Importance of the fecal stream in the induction of colon tumors by azoxymethane in rats. *Cancer Res.* 35: 1369-1371, 1975.
- 2) Druckrey, H., Preussmann, R., Matzkies, F. und Ivankovic, S.: Selektive Erzeugung von Darmkrebs bei Ratten durch 1,2-Dimethylhydrazine. *Naturwissenschaften* 54: 285-286, 1967.
- 3) Hirayama, C., Okumura, M., Nagai, J. and Masuda, Y.: Hypobilirubinemia in patients with polychlorinated biphenyls poisoning. *Clin. Chim. Acta* 55: 97-100, 1974.
- 4) Ito, N., Nagasaki, H., Arai, M., Makiura, S., Sugihara, S. and Hirao, K.: Histopathologic studies on liver tumorigenesis induced in mice by technical polychlorinated biphenyls and its promoting effect on liver tumors induced by benzene hexachloride. *J. Natl. Cancer Inst.* 51: 1637-1646, 1973.
- 5) Ito, N., Nagasaki, H., Makiura, S. and Arai, M.: Histopathological studies on liver tumorigenesis in rats treated with polychlorinated biphenyls. *Gann* 65: 545-549, 1974.
- 6) Kimbrough, R. D. and Linder, R. E.: Induction of adenofibrosis and hepatomas of the liver in BALB/cJ mice by polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254). *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 547-552, 1974.
- 7) Kimbrough, R. D., Squire, R. A., Linder, R. E., Strandberg, J. D., Montali, R. J. and Burse, V. W.: Induction of liver tumors in Sherman strain female rats by polychlorinated biphenyl Aroclor 1260. *J. Natl. Cancer Inst.* 55: 1453-1459, 1975.
- 8) Kimura, N. T. and Baba, T.: Neoplastic changes in the rat liver induced by polychlorinated biphenyl. *Gann* 64: 105-108, 1973.
- 9) Kimura, N. T., Kanematsu, T. and Baba, T.: Polychlorinated biphenyl(s) as a promoter in experimental hepatocarcinogenesis in

rats. *Z. Krebsforsch.* 87: 257-266, 1976.

10) Makiura, S., Aoe, H., Sugihara, S., Hirao, K., Arai, M. and Ito, N.: Inhibitory effect of polychlorinated biphenyls on liver tumorigenesis in rats treated with 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene, N-2-fluorenylacetamide, and diethylnitrosamine. *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 1253-1257, 1974.

11) Narisawa, T., Magadia, N. E., Weisburger, J. H. and Wynder, E. L.: Promoting effect of bile acid on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 53: 1093-1097, 1974.

12) Nishizumi, M.: Enhancement of diethylnitrosamine hepatocarcinogenesis in rats by exposure to polychlorinated biphenyls or phenobarbital. *Cancer Letters* 2: 11-16, 1976.

13) Nishizumi, M.: Reduction of diethylnitrosamine-induced hepatoma in rats exposed to polychlorinated biphenyls through their dams. *Gann* 71: 910-912, 1980.

14) Preston, B. D., Van Miller, J. P., Moore, R. W. and Allen, J. R.: Promoting effect of

polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) and polychlorinated dibenzofuran-free Aroclor 1254 on diethylnitrosamine-induced tumorigenesis in the rat. *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 509-515, 1981.

15) Reddy, B. S., Watanabe, K., Weisburger, J. H. and Wynder, E. L.: Promoting effect of bile acids in colon carcinogenesis in germfree and conventional F344 rats. *Cancer Res.* 37: 3238-3242, 1977.

16) Schaeffer, E., Greim, H. and Goessner, W.: Pathology of chronic polychlorinated biphenyl feeding in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 75: 278-288, 1984.

17) Shelton, D. W., Hendricks, J. D. and Bailey, G. S.: The hepatocarcinogenicity of diethylnitrosamine to rainbow trout and its enhancement by Aroclors 1242 and 1254. *Toxicology Letters* 22: 27-31, 1984.

18) Tatematsu, M., Nakanishi, K., Murasaki, G., Miyata, Y., Hirose, M. and Ito, N.: Enhancing effect of inducers of liver microsomal enzymes on induction of hyperplastic liver nodules by N-2-fluorenylacetamide in rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 63: 1411-1416, 1979.

(和文抄録)

## 1,2-ジメチルヒドラジンによるラット大腸腫瘍発生への PCBs の影響

佐賀医科大学地域保健科学教室

西 住 昌 裕

PCBs の曝露が 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH) による大腸腫瘍発生にどのような影響を及ぼすかをラットを使った発癌実験により観察した。

Wistar 系の雄ラットに DMH (30 mg/kg を週 1 回皮下注) を 10 週間にわたって投与した場合と DMH 投与に加えて Kanechlor 500 (KC 500) (100 mg/kg を週 2 回胃内注入) を DMH の投与期間前または後に 3 週間にわたって投与した場合の大腸腫瘍の発生状況を DMH 投与開始後 18, 24, 28 週後

に屠殺して比較した。

KC 500 を 3 週間投与後 DMH を 10 週間投与した場合、DMH 単独投与に比べ大腸腫瘍の大きさの増大、より遠位側への発生が認められた。腫瘍数の増加傾向もみられたが有意のものではなかった。大腸腫瘍の大きさの増大は KC 500 を DMH の後に投与した場合にも確認された。

このことから PCBs の大腸発癌の際に働らく作用機作は不明であるが、肝発癌に働らく場合とは異なるものと考えられた。

## 多塩素化芳香族化合物, 及びその類似物質の Methylcholanthrene induced Mouse Skin Cancer の発生に及ぼす影響について

長崎大学医学部皮膚科教室 (主任: 吉田彦太郎教授)

堀 真・藤田 和夫・山城 一 純

鳥山 史・広瀬 寮二・宿輪 哲生

豊島 弘行・吉田彦太郎

### Influences of Polychlorinated Biphenyl's (PCB) and PCB-like Chemicals on 20-Methylcholanthrene-Induced Mouse Skin Carcinogenesis

Makoto HORI, Kazuo FUJITA, Kazuyoshi YAMASHIRO,  
Fumi TORIYAMA, Ryoji HIROSE, Tetsuo SHUKUWA,  
Hiroyuki TOYOSHIMA and Hikotaro YOSHIDA

*Department of Dermatology (Director: H. Yoshida), Nagasaki University  
School of Medicine, Nagasaki, 852, Japan*

Influences of polychlorinated biphenyl's (PCB), hexachlorobenzene (HCB), biphenyl and terphenyl on 20-methylcholanthrene-induced mouse skin carcinogenesis were investigated. Four hundreds and twenty male d-d strain albino mice of 3 month of age were divided into fourteen groups, 30 each. They were treated with PCB (topical and per oral), HCB (topical), biphenyl (topical) and terphenyl (topical) followed by carcinoma induction using topical MC application. As controls, PCB (topical and oral), HCB (topical), biphenyl (topical) and terphenyl (topical) dissolved in solvents N-hexane (for PCB and HCB), acetone (for biphenyl and MC) and benzene (for terphenyl) were used.

Two groups treated with MC after oral and topical PCB were suppressed markedly the number of mice with MC-induced skin cancer.

All chemicals used as controls in this experiments did not show initiating or promoting activity against MC induced carcinogenesis.

Polychlorinated biphenyls (PCB), benzene hexachloride (BHC), polychlorinated terphenyl (PCT), hexachlorobenzene (HCB). などが, マウスやハムスターの肝に対して腫瘍発生効果をもつことが報告されてきている<sup>1)3)7)8)</sup>. しかし一方, PCB は化学発癌物, methylcholanthrene (MC) によるマウス子宮頸癌の発生に対して 10 ppm, 100 ppm 濃度では promoter としての作用を有しないとの報告もある<sup>12)</sup>. さらに皮膚癌の発生についての報告も極めて少ないが, DiGiovanni ら<sup>4)</sup> は, マウスの dimethylbenzanthracene (DMBA) による皮膚癌誘発実験に

PCB を併用し, PCB に微弱ながらも promoter 作用が認められたと報告している. また Bahn ら<sup>2)</sup> は PCB に汚染された 31 人のうち 2 人に悪性黒色腫の発生がみられたと述べ, 今後の注意を喚起している.

PCB は肝によく蓄積され, 上記のごとき障害をひき起こすが, 皮膚の毛包—脂腺系にも蓄積され, 特有の黒い瘡瘡を形成する. したがって, 肝癌のみでなく, 皮膚癌の形成にも, 何らかの効果を發揮することは十分に考えられるところである.

今回, 著者らは多塩素化芳香族化合物, 及びその化学構造類似物質をマウスの methylcholanthrene

(MC) による皮膚癌作製実験系に併用し、これらの化学物質が MC の発癌にいかなる影響を与えるのかを検討した。

### 実験材料と方法

#### 1. 使用化学物質と使用方法

PCB として、カネクロール・400 の 150 ppm N-ヘキサン溶液を用いた。MC は 0.3% アセトン溶液 hexachlorobenzene (HCB) は 150 ppm N-ヘキサン溶液、biphenyl は 150 ppm アセトン溶液、terphenyl は 150 ppm ベンゼン溶液としていずれも、0.2 ml を腰背部皮膚に週 2 回滴下した。2 種の化学物質を併用した群ではいずれも、PCB, HCB, biphenyl, terphenyl などを滴下し 6 時間後に MC を滴下した。なお 6 時間の間隔をおいた理由は、助発癌物質である croton oil を MC に併用したマウス皮膚発癌実験において croton oil 塗布 6 時間後に MC を外用する方法をとり発癌率の上昇が顕著であつたためである<sup>9)</sup>。PCB の経口投与はマウス飼育用固形飼料である MF-food (オリエンタル酵母工業株式会社) を 150 ppm N-ヘキサン溶液に十分に浸し、乾燥させて飼料とともに摂取させる方法で行なつた。

#### 2. 実験動物

生後 3 カ月の d-d 系雄マウス 420 匹を Table 1 に示した 14 群に分類し、いずれも腰背部皮膚を実験部位とした。

#### 3. 観察方法

各群について、上記処置を週 2 回、16 週まで行い、20 週まで肉眼的に腫瘍の発生状況を観察した。また各群 2 匹ずつ、3 週間隔で、実験部位の生検をおこない、光顕的に検討した。

### 実験結果

#### 1. 発生した腫瘍形と発生状況

腫瘍発生状況は Table 2 に示した。1 匹のマウスに数個の腫瘍が発生することがほとんどであるため、腫瘍発生状況は腫瘍の発生個数よりも発生したマウスの数で表現することにした。また Group 9 から Group 12 に発生した腫瘍は肉眼的、組織学的に 2 型がみられた。Group 13, 14 では、この 2 型の鑑別が困難なものが比較的多くみられたため、両者をあわせて、腫瘍発生マウス数の合計として表わした。

Table 2 にしめした K 型 SCC とは、肉眼的に腫瘍中央部に角栓形成あるいは潰瘍形成が腫瘍発生初期よりみとめられるタイプである。被覆皮膚をもちあげるように増殖し、下部への浸潤もつよい (図 1)。組

Table 1 Methods

| Group | No. of animals | Agent                                                                   | Application |
|-------|----------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1     | 30             | 150 ppm PCB in MF-food                                                  |             |
| 2     | 30             | 0.2 ml. of 150 ppm PCB in N-hexane (T)                                  | 2/week      |
| 3     | 30             | 0.2 ml. of 150 ppm HCB in N-hexane (T)                                  | 2/week      |
| 4     | 30             | 0.2 ml. of 150 ppm Biphenyl in acetone (T)                              | 2/week      |
| 5     | 40             | 0.2 ml. of 150 ppm Terphenyl in benzene (T)                             | 2/week      |
| 6     | 30             | 0.2 ml. of N-hexane (T)                                                 | 2/week      |
| 7     | 30             | 0.2 ml. of acetone (T)                                                  | 2/week      |
| 8     | 30             | 0.2 ml. of benzene (T)                                                  | 2/week      |
| 9     | 30             | 0.2 ml. of 0.3% MC in acetone (T)                                       | 2/week      |
| 10    | 30             | MC painting after PCB application                                       | 2/week      |
| 11    | 30             | MC painting on the skin of mice fed with 150 ppm PCB containing MF-food | 2/week      |
| 12    | 30             | MC painting after HCB application                                       | 2/week      |
| 13    | 30             | MC painting after Biphenyl application                                  | 2/week      |
| 14    | 30             | MC painting after Terphenyl application                                 | 2/week      |

MC: 20 methylcholanthrene

PCB: polychlorinated biphenyl

HCB: Hexachlorobenzene

MF-food: オリエンタル酵母工業株式会社製マウス飼育用固形飼料

T: topical.

Table 2 Results

| Group/Agent                  | K型 SCC 発生<br>マウス数 | Papilloma 発生<br>マウス数 | 腫瘍発生<br>マウス数の合計 | 腫瘍初発週 |
|------------------------------|-------------------|----------------------|-----------------|-------|
| 1/MF-food containing PCB     | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 2/PCB                        | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 3/HCB                        | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 4/Biphenyl                   | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 5/Terphenyl                  | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 6/N-hexane                   | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 7/Acetone                    | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 8/Benzene                    | 0                 | 0                    | 0               |       |
| 9/MC                         | 15                | 22                   | 27              | 7週    |
| 10/PCB/MC                    | 9                 | 12                   | 18              | 7     |
| 11/MF-food containing PCB-MC | 4                 | 10                   | 12              | 12    |
| 12/HCB-MC                    | 12                | 20                   | 24              | 7     |
| 13/Biphenyl-MC               | 17                |                      |                 | 8     |
| 14/Terphenyl-MC              | 15                |                      |                 | 6     |

組織学的にも、表皮から反転し、下床へと浸潤増殖をしめす（図2）。また、trichilemmal keratinization がみられ、核分裂像など異型性が著明である（図3）。以上の所見から、ヒトの皮膚に発生する keratoacanthoma に肉眼的、組織学的に類似するが、自然治癒がなく、また、組織学的にもより異型性がつよいことより keratoacanthoma 型の squamous cell carcinoma すなわち、K型 SCC と、われわれは呼称している。

一方、papilloma は、その初期より粟粒大から半米粒大の乳頭状の腫瘍として発生し、深部への浸潤はない（図4）。組織学的にも表皮から表面に乳頭状の増殖がみられるが、異型性はない（図5）。すなわち良性の腫瘍と考えられる。したがって、この論文においては、K型 SCC についてのみ検討を加えていくことにする。

Table 2 に示したごとく、Group 1 から 8 の MC を使用していないマウスは、20 週までの観察で、全く腫瘍の発生がみられなかった。Group 9 の MC 単独塗布マウスでは、30 匹中 15 匹に K 型 SCC がみられた。一方、Group 10 の PCB 外用に MC 塗布併用したマウスでは、K 型 SCC が、30 匹中 9 匹に発生し、Group 11 の PCB 経口投与マウスでは 4 匹に K 型 SCC の発生がみられた。また、腫瘍初発週が 12 週と大巾な遅延がみられた。Group 12 では MC 単独使用と差がみられず、Group 13, 14 では、K 型 SCC と papilloma の鑑別が困難な腫瘍が多い

Table 3 PCB 経口投与による臓器内濃度。

|          | 4週<br>(ppm) | 8週<br>(ppm) | 16週<br>(ppm) | 20週<br>(ppm) |
|----------|-------------|-------------|--------------|--------------|
| 肝臓       | 2.4         | 1.4         | 7.7          | 2.9          |
| 皮膚       | 14          | 4.1         | 8.1          | 6.3          |
| 臓器（肝を除く） | 1.2         | 1.3         | 3.2          | 4.6          |
| 血液       | 0.18        | 0.11        | 0.47         | 0.22         |
| 腎臓       | —           | 1.9         | —            | 3.7          |
| 腫瘍       | —           | 2.0         | 2.8          | 1.8          |

ため、その合計数で表わしたが、Group 9 の MC 単独塗布群における腫瘍発生マウス数の合計と差がみられなかった。

## 2. PCB 経口投与による各種臓器内濃度

PCB 外用および経口投与で MC による発癌がよく抑制される傾向がみとめられた。経口投与による PCB の各種臓器、血液、腫瘍内濃度は Table 3 に示した。

## 3. Group 2 の PCB 単独外用部のマウス皮膚の肉眼的、組織学的変化

マウス腰背剪毛部皮膚は処置開始後、1 週目ごろより、軽度の皮膚の肥厚がみられるがその後 16 週まで、特に増強することはない。一旦、剪毛した部位に 2 週目ごろより、全匹のマウスに発毛をみとめる。しかし、4 週目ごろより、3 匹では脱毛し、10 週では 8 匹に部分的な脱毛がみられ、16 週から 20 週まで、それが続いた。

組織学的に、正常マウス皮膚は表皮が2から3層（図6）であるが、実験マウスでは毛包上皮および毛包間表皮細胞は5から6層と表皮肥厚がみられ、第16週まで、特に増強することなく持続する。真皮には、軽度のリンパ球浸潤がみられ、第16週まで持続する。図7は第6週の実験部皮膚である。

#### 4. Group 9 の MC 単独使用による肉眼的、組織学的発癌過程

剪毛部は実験開始後2週目ころより、ほとんど全匹に脱毛が起こり、3週になると局所のみでなく、背部全体に拡大してくる。6週ころには皮膚の肥厚が著明となり、7週ころより、図1、図4に示すK型 SCC, papilloma の発生がみられるようになる。

組織学的に、実験開始後3週目の局所の皮膚は軽度の表皮肥厚と炎症細胞の浸潤がみられる（図8）。第6週では、さらに著しい表皮肥厚とともに基底層にクロマチンに富んだ軽度の異型性のある核をもった細胞

の出現がみられる（図9）。その後、図1から図5に示すK型 SCC, papilloma などがみられる。

#### 5. Group 10, 11 の PCB 外用あるいは経口投与と MC の併用による肉眼的、組織学的変化

マウスの脱毛状態は Group 9 の MC 単独使用群と同じく、第2週で発生し7週で背部全体におよび、実験終了時まで続く。発生した腫瘍は Group 9 と同様である。

組織学的には、表皮の肥厚、基底層における軽度の異型性のある細胞の出現など、Group 9 と同様であるが、リンパ球浸潤が9週においても継続して認められる（図10）。



図1. PCB 外用と MC の併用により発生した Keratocanthoma 型 SCC (K型 SCC). 腫瘍巣中央部に角栓形成がみられる。

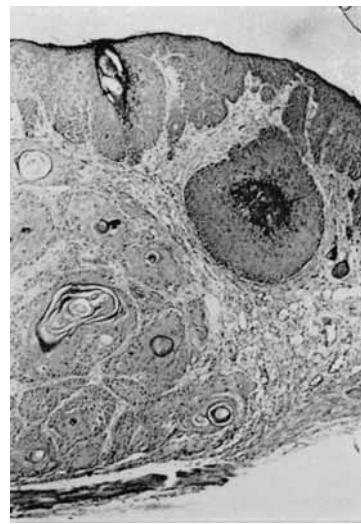


図2. K型 SCC. 真皮に毛包性角化をしめす腫瘍巣がみられる。

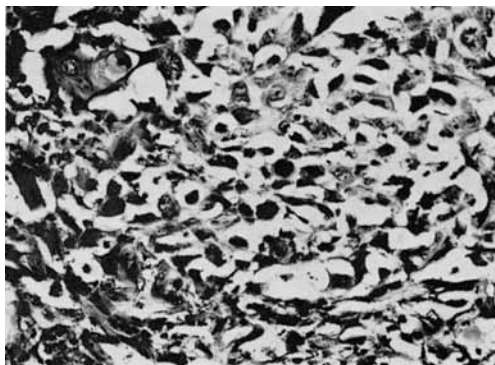


図3. K型 SCC. 腫瘍細胞の大小不同、核の異型性がみられる。



図4. PCB 外用と MC の併用により発生した papilloma. 有基性で、下床への浸潤をみとめない。



図5. Papilloma.  
皮表より外部に凸出して乳頭状に増殖をしめす.

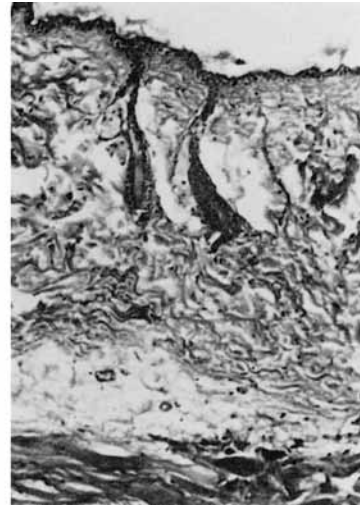


図6. 正常マウス組織.  
表皮は2~3層よりなる.

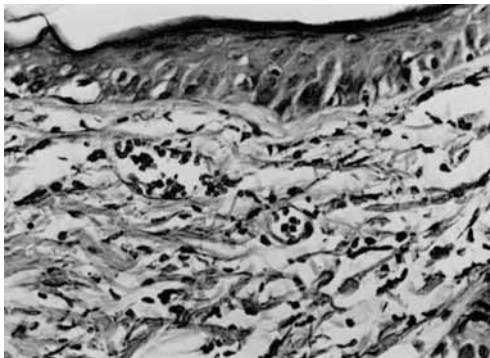


図7. PCB 単独外用, 6週.  
表皮の肥厚. 真皮のリンパ球浸潤.

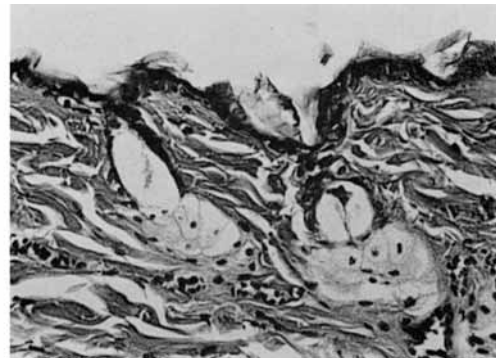


図8. MC 単片外用, 3週.  
表皮の軽度の肥厚とリンパ球, 好中球の浸潤.

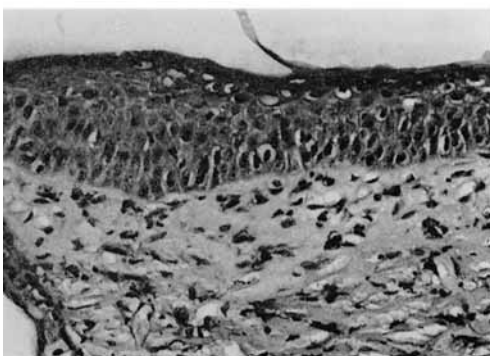


図9. MC 単独外用, 6週.  
表皮の肥厚と基底層のクロマチンに濃染した核をもつ細胞が著明. 真皮には組織球の浸潤がみられる.

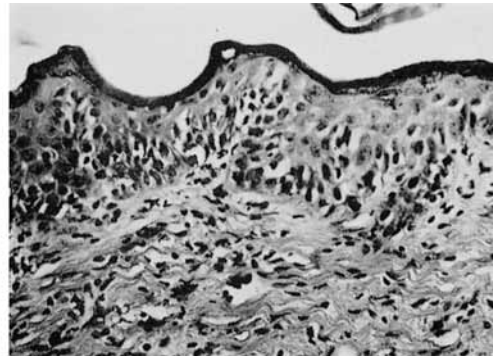


図10. PCB 外用と MC の併用. 9週.  
表皮の肥厚, Spongiosis, 表皮・真皮のつよいリンパ球浸潤をみる.

## 考 察

PCB が動物に肝癌を発生せしめることはすでにいくつかの報告が指摘しているところである<sup>11,12</sup>。しかし皮膚癌の発生に対してどのような影響を与えるかはほとんど検討されていない。今回のわれわれの実験からは PCB のみの外用、経口投与では皮膚腫瘍の発生は全く認められなかった。むしろ MC との併用により MC の発癌作用を抑制する結果が得られたのである。すなわち、K 型 SCC の発生頻度は MC 単独塗布では 30 匹中 15 匹 (50%) であったのに比べ、MC と PCB を併用することにより、30 匹中 9 匹 (30%) に減少し、さらに経口投与では一層著しい抑制効果が認められたのである。また、PCB の経口投与を併用した群では腫瘍初発週が大巾に遅延することが明らかとなった。この所見は Table 3 に示したように、PCB 経口投与後の各臓器内分布において肝よりも皮膚が常に高値を示したと考え合わせ、きわめて興味深い。PCB が皮膚においてなんらかの発癌抑制作用を発揮していることを示唆する所見と考えられる。

一方、HCB に関し、Shirai<sup>13</sup> はマウスの肝癌発生に促進的作用を発揮することを述べ、Cabral<sup>14</sup> はハムスターの肝癌が HCB により誘発される実験では HCB は皮膚癌発生に対して initiator としての作用も promotor としての作用も示さず、さらに、Suppressor としての作用も発揮しなかったのである。HCB は 1 個の benzene 核に 6 個の Cl 基を有し、PCB とは構造上異なる物質であるが、同じ多塩素化芳香化合物に属し、肝に対する carcinogenic な作用は PCB に類似しているとされている。また、biphenyl, terphenyl は Cl 基を全く有さない物質であり、PCB の核となる構造体である。この両者を MC に併用した場合もほとんど発癌抑制効果はみられなかった。したがって PCB の発癌抑制効果は Cl 基によつておこるのでもなく、また、PCB の核構造である biphenyl, あるいは、その類似構造をもつ terphenyl で抑制されるものではないことになる。すなわち biphenyl に Cl 基がついた構造をしめす PCB においてはじめて発揮されることになる。しかし、われわれの使用した PCB はカネクロール 400 であり、この中には polychlorinated quaterphenyls (PCQ) や polychlorinated dibenzofuran (PCDF) なども含まれており、さらに使用する PCB の濃度の問題なども含まれている。例えば、DiGiovanni ら

<sup>15</sup> は 1 回量 100  $\mu$ g の arochlor を dimethylbenzanthracene (DMBA) の皮膚癌作製実験に併用して弱い promoter 作用を認めている。われわれの PCB 濃度は 150 ppm であるので、1 匹あたりの 1 回量は 30  $\mu$ g となり、少量である。したがって、PCB に皮膚癌発生に対する抑制作用があると結論することは危険である。

著者らの実験結果から、PCB を単独で外用した場合と、MC を単独で使用情况の場合の実験部位の皮膚の変化を比較してみると、PCB 単独使用では、軽度ではあるが、比較的長期にわたってリンパ球浸潤がみられる。このリンパ球浸潤は感作源性物質である dinitrochlorobenzene (DNCB) を MC に併用してマウスに抗皮膚発癌効果がみられた実験においても同様であった。

一方、PCB には lysosome labilizer としての作用も認められている<sup>16</sup>。Lysosome labilizer には抗発癌性が認められている<sup>17</sup>。

われわれの実験における PCB の抗皮膚発癌効果の機序はあきらかでないが、PCB のある濃度においては、上記の 2 点、すなわち長く続くリンパ球浸潤と lysosomal labilizer としての作用の両者により皮膚癌の発生が抑制されているのかもしれない。

## 総 括

420 匹の d-d 系マウスを用いて、PCB, HCB, biphenyl, terphenyl などが MC による皮膚発癌の際、initiator, promotor あるいは suppressor として作用するか否かを検討し、以下の結果を得た。

1) PCB は外用、経口投与のいずれによつても MC によるマウスの皮膚発癌を抑制した。この抑制は経口投与において一層著しく、腫瘍初発週の大巾な遅延もみられた。

2) PCB の外用により、皮膚に長期にわたるリンパ球浸潤がみられ、この現象が発癌の抑制に関係する可能性が推察された。

3) HCB, biphenyl, terphenyl などには initiator, promotor, suppressor としての作用は認めなかった。

## 文 献

- 1) Arai, M., Hibino, T., Takino, H., Ouchi, N. and Hirasawa, Y.: Comparative enhancing effects of polychlorinated biphenyls and phenobarbital on dimethylnitrosamine-induced hepatic and renal tumorigenesis in rats. Dev. Toxi-

col. Environ. Sci. 11: 359-362, 1983.

2) Bahn, A. K., Rosenwalke, I., Herrmann, N., Grover, P., Stellman, J. and O'Leary.: Melanoma after exposure to PCB's. N. Engl. J. Med. 19: 450, 1976.

3) Cabral, J. R. P., Shubik, P., Mollner, T. and Raitano, F.: Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. Nature 269: 510-511, 1977.

4) DiGiovanni, J., Viaje, A., Berry, D. L., Slaga, T. J. and Juchau, M. R.: Tumor-initiating ability of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and Arochlor 1254 in the two-stage system of mouse skin carcinogenesis. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18: 552-557, 1977.

5) 堀 真: 化学発癌剤 20-methylcholanthrene 誘発マウス皮膚癌の検討. 日皮会誌 91: 25-31, 1981.

6) Kimura, N. T., Kanematsu, T. and Baba, T.: Polychlorinated biphenyl (s) as a promoter in experimental hepatocarcinogenesis in rats. Z. Krebsforsch. 87: 257, 1976.

7) Nagasaki, H., Tomii, S., Maga, T., Marugami, M. and Ito, N.: Hepatocarcinogenic ef-

fect of  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, and  $\delta$ -isomers of benzene hexachloride in mice. Gann 63: 393, 1972.

8) Nagasaki, H., Tomii, S., Maga, T., Marugami, M. and Ito, N.: Hepatocarcinogenicity of polychlorinated biphenyls in mice. Gann 63: 805, 1972.

9) Shamberger, R. J.: Inhibitory effect of vitamin A on carcinogenesis. J. Natl. Cancer Inst. 47: 667-673, 1971.

10) 重松信昭, 石丸秀三, 広瀬隆士, 池田東吾, 江森浩二, 宮崎信義: 油症における呼吸器障害の臨床的ならびに実験的研究 (続報). 福岡医誌 65: 88-95, 1974.

11) Shirai, T., Miyata, Y., Nakanish, K., Immurasaki, G. and Ito, N.: Hepatocarcinogenicity of polychlorinated terphenyl (PCT) in ICR mice and its enhancement by hexachlorobenzene (HCB). Cancer Letters 4: 271-275, 1978.

12) Uchiyama, M., Chiba, T. and Noda, K.: Co-carcinogenic effect of DDT and PCB feedings on methylcholanthrene-induced chemical carcinogenesis. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 12: 687-693, 1974.

## PCB のポルフィリン代謝に及ぼす影響

低濃度 Griseofulvin 投与マウスに対する  
KC-400, glutathione の影響

長崎大学医学部皮膚科学教室（主任：吉田彦太郎教授）

野 中 薫 雄・大 神 太 郎

山 下 和 徳・吉 田 彦太郎

国立長崎中央病院皮膚科（院長：寺本成美博士）

村 山 史 男

### Effects of KC-400 (Polychlorinated Biphenyls) on Porphyrin Metabolism

The Influence of KC-400 and Glutathione on Mice  
Fed with a Feed Containing a 0.1 % Griseofulvin

Shigeo NONAKA, Taro OHGAMI, Kazunori YAMASHITA  
and Hikotaro YOSHIDA

*Department of Dermatology(Director: Prof. H. Yoshida), Nagasaki  
University School of Medicine, Nagasaki, 852, Japan*

Fumio MURAYAMA

*Division of Dermatology, Nagasaki-Chuo National Hospital,  
Nagasaki, 856, Japan (Director: Dr. S. Teramoto)*

To investigate the effects of PCB on porphyrin metabolism, KC-400, griseofulvin and glutathione were given to the dd-k strain mice respectively or simultaneously. Liver coproporphyrin and protoporphyrin levels were analyzed using the Sano and Granick's method. Delta aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) activities in liver and erythrocytes were assayed by the method of Kondo et al. dd-k strain mice were separated into five groups, and given the chemicals as under, 1) normal group, 2) KC-400 group, 3) KC-400 with glutathione group, 4) KC-400 with 0.1 % griseofulvin group and 5) 0.1 % griseofulvin group. Liver/body weight ratio was elevated in KC-400 groups, and KC-400 with 0.1 % griseofulvin group showed the highest level in the five groups. Coproporphyrin and protoporphyrin levels in the liver were higher in the KC-400 and 0.1 % griseofulvin groups than normal group, especially were the highest in the KC-400 with 0.1 % griseofulvin group. There was an increasing tendency to change in coproporphyrin levels than in protoporphyrin levels of the liver by taking of the KC-400. ALA-D activity in the liver did not show any differences in the five groups. However, ALA-D activity in the erythrocytes showed an increasing tendency in KC-400 groups. Therefore, it is clear that an accumulation of hepatic porphyrin occurred in dd-k strain mice given the KC-400, and its change was accelerated by 0.1 % griseofulvin. However, there was no change in the hepatic ALA-D activity, although the elevation of ALA-D activity was seen in the erythrocytes. From these results, it is suggested that an abnormality of the ALA-D activity in the PCB poisoning seems to occur secondarily following the accumulation of hepatic porphyrins, furthermore an abnormality of porphyrin metabolism due to PCB is accelerated by the addition of 0.1 % griseofulvin.

## はじめに

Polychlorinated biphenyls (以下 PCB と略) がポルフィリン代謝を亢進させることは Vos らが報告して以来<sup>12)13)</sup>, いくつかの報告がみられている. その代謝異常は hexachlorobenzene (以下 HCB と略) に類似しており, 尿中に 8,7-carboxyl porphyrin の大量排泄がみられるという. しかしながら, その代謝異常の詳細に関しては未だ不明の事が多く, 十分に解明されているとは言えない. また PCB は環境汚染物質として知られ, その作用は他の種々の化学物質との複合作用も問題となり, DDT や BHC などと協力し合つて酵素誘導作用が増強されるという報告<sup>1)</sup>もある. ポルフィリン代謝に関しても下山<sup>14)</sup>は低濃度 griseofulvin (以下 GF と略) 投与マウスに PCB を作用させると, それぞれの物質が単独よりも複合作用でさらに増強されることを報告している. 以上のことから, PCB と低濃度 GF の相互作用がポルフィリン代謝系の酵素にどのような影響を与えるかを検討することは有意義であると考えた. 今回, 0.1% GF に PCB や glutathione (以下 GSH と略) を加えることによつて, 肝, 赤血球  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (以下 ALA-D と略) 活性がどのように変動するかを調べ, これらの化学物質が酵素系に影響を及ぼすかどうかについて検討を行なつたので報告する.

## 実験方法

### 1. 使用薬剤

KC-400 は和光純薬工業株式会社, GF は塩野義製薬製の griseofulvin 錠 (1錠 125 mg), GSH は田辺製薬株式会社より提供を受けた原末を用いた. KC-400 の溶媒として, 半井化学薬品の特級ヘキサンを使用した.

### 2. 実験動物

体重 20~30 g の dd-k 系マウスを使用した.

### 3. 飼料および化学物質の投与方法

対照群は正常飼料 (オリエンタル酵母株式会社製マウス, ラット用 MF 型固型飼料) で飼育した. 0.1% GF 含有飼料はオリエンタル酵母株式会社に依頼し, 粉末にした GF 錠を 0.1% の割合に固型飼料に混入したものを作製した. KC-400 含有飼料は PCB 1.0 g をヘキサン 1000 ml に溶解し, その中に正常飼料ならびに 0.1% GF 含有飼料を約 30~40 秒間浸した後, 風乾させて作製した. これらの飼料に含まれる

PCB 含有量は長崎県衛生公害研究所に依頼して測定した結果, 140~150 ppm であった. GSH はその原末を飲料水に溶解し, 経口的に投与し, 毎日約 0.6 mg 程度の経口摂取になるように調節した.

マウスは 5 群に分け, 各群以下のごとき計画で, 飲料水や飼料を投与した. 第 1 群は対照群で正常飼料を, 第 2 群は PCB 投与群で KC-400 含有飼料を, 第 3 群は PCB+GSH 投与群で KC-400 含有飼料と GSH 含有飲料水を, 第 4 群は PCB+GF 群で KC-400 および 0.1% GF 含有飼料を, 第 5 群は GF 投与群で 0.1% GF 含有飼料をそれぞれ投与した. 第 3 群の PCB+GSH 以外は全て正常飲料水を投与した.

### 4. ポルフィリン体測定

実験動物をクロロフォルム麻酔下で屠殺後, 肝を全摘し, 重量を測定した. 肝重量/体重 $\times 100$ (%) で肝体重比を表した. 肝の一部および血液について Sano らの原法を変更した方法<sup>7)</sup>を用いて coproporphyrin (以下 CP と略), protoporphyrin (以下 PP と略) を測定した.

### 5. ALA-D 活性の測定

肝 ALA-D 活性は肝約 0.3 g を試料とし, 赤血球 ALA-D 活性は採取した血液 1 ml を試料として, Kondo らの方法<sup>8)</sup>を用いて測定した.

## 結 果

各群のマウスの肝体重比, 肝 CP および PP, 肝, 赤血球の ALA-D 活性値を Table 1 に示した. また各群の肝, 赤血球 ALA-D 活性値をそれぞれ Fig. 1, Fig. 2 に示した.

### 1. 正常群

12~22 週正常飼料を投与した 29 匹では肝体重比 4.50% (以下平均値を示す), 肝 CP 0.19  $\mu$ g/g wet weight, 肝 PP 0.41  $\mu$ g/g wet weight, 肝 ALA-D 活性値は 23.59 nmolPBG/mg p/h. 血液 ALA-D 活性値は 0.33  $\mu$ mol PBG/ml pcv であった.

### 2. PCB 投与群

13~21 週 KC-400 含有飼料で飼育した 20 匹では, 肝体重比は 7.53% と肝腫大がみられ, 肝 CP, PP はそれぞれ 0.29, 0.67  $\mu$ g/g wet weight と正常群に比べて上昇していた. また 21 匹中 3 匹で PP が 1.00  $\mu$ g/g wet weight 以上の高値を示していた. 肝 ALA-D 活性値は 28.36 nmol PBG/mg p/h であったが, 正常群と比べて差を認めなかった. 赤血球 ALA-D 活性値は 0.50  $\mu$ mol PBG/ml pcv/h と正常群に比べてやや上昇傾向を示していた.

**Tab. 1** Effect of PCB on porphyrin metabolism in the liver and erythrocytes

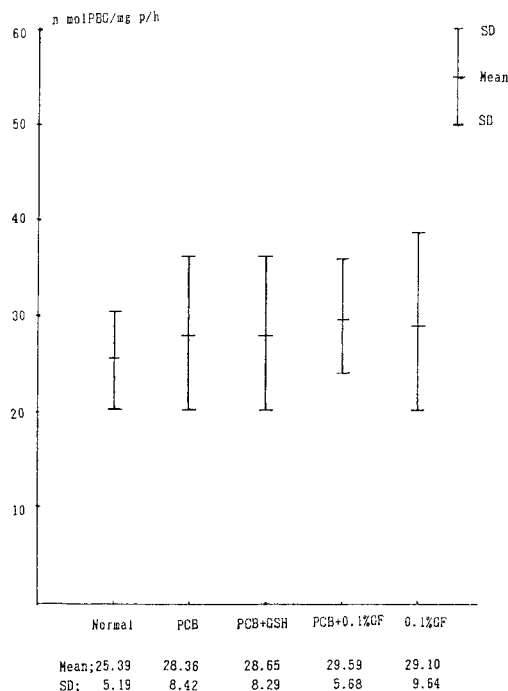
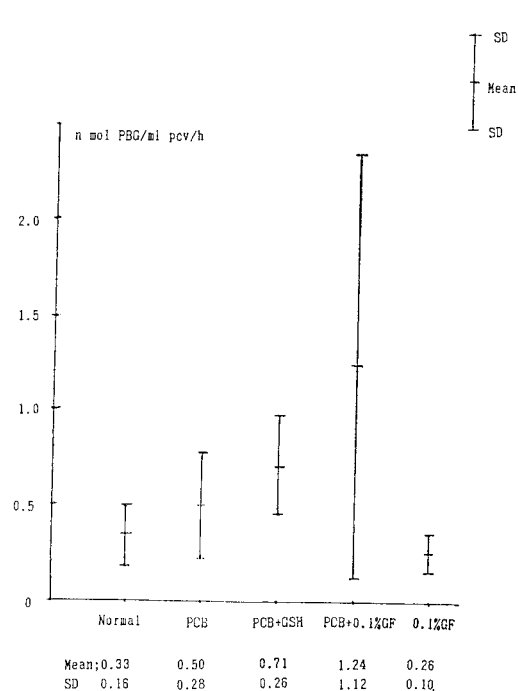
| Feed                                                 | Normal      | P C B                   | PCB+GSH                 | PCB+GF                    | G F                      |
|------------------------------------------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Duration of feeding (weeks)                          | 12-22       | 13-23                   | 25-28                   | 12-23                     | 23-35                    |
| Number of animals                                    | 29          | 20                      | 13                      | 14                        | 26                       |
| Number of animals with abnormal porphyrin metabolism | 0           | 3                       | 2                       | 12                        | 3                        |
| Liver weight/Body weight(%)                          | 4.50(0.52)  | 7.53(2.35) <sup>●</sup> | 7.51(1.36) <sup>●</sup> | 8.32( 1.37) <sup>●</sup>  | 6.00(2.05) <sup>●△</sup> |
| Liver porphyrin (μg/g wet weight)                    |             |                         |                         |                           |                          |
| C P                                                  | 0.19(0.06)  | 0.29(0.09) <sup>●</sup> | 1.37(2.92)              | 1.08( 0.80) <sup>●△</sup> | 0.23(0.05) <sup>△</sup>  |
| P P                                                  | 0.41(0.10)  | 0.67(0.45) <sup>●</sup> | 0.68(0.36) <sup>●</sup> | 31.35(52.80) <sup>●</sup> | 1.59(3.37) <sup>△</sup>  |
| Liver ALA-D (nmol PBG/mg p/h)                        | 23.59(5.19) | 28.36(8.42)             | 28.65(5.68)             | 29.59( 8.29)              | 29.10(9.64)              |
| Erythrocyte ALA-D (μmol PBG/ml pcv/h)                | 0.33(0.16)  | 0.50(0.28)              | 0.71(0.26) <sup>●</sup> | 1.24( 1.12) <sup>●△</sup> | 0.26(0.10) <sup>△△</sup> |

● 正常群に対して有意差 (p&lt;0.01)

( ) 内の数値は S. D.

▲ PCB 群に対して有意差 (p&lt;0.01)

△ PCB+GF 群に対して有意差 (p&lt;0.01)

**Fig. 1** Liver ALA-D activity.**Fig. 2** Erythrocyte ALA-D activity**3. PCB+GSH 投与群**

KC-400 含有飼料および GSH 含有飲料水を 25~28 週投与した 13 匹では、肝体重比 7.51% と正常群に比べて肝腫大を示していたが、PCB 群との差は認められず、同程度の肝腫大を示していた。肝 CP, PP

値はそれぞれ、1.37, 0.68 μg/g wet weight と高値を示していたが、13 匹中 2 匹に異常高値を示し、分散値が大きいため平均値では有意差を認めなかった。しかし、異常高値を示した 2 匹は肝ポルフィリンのうち CP が PP よりも優勢でいわゆる PCT の状態に

近いパターンを示していた。肝 ALA-D 活性値は 28.65 nmol PBG/ml pcv/h と正常群、PCB 群に比べても差は認めなかった。赤血球 ALA-D 活性値は 0.71  $\mu$ mol PBG/ml pcv/h と正常群に比べて高値を示したが、PCB 群に比べて差を認めなかった。

#### 4. PCB+GF 投与群

KC-400 および 0.1% GF 含有飼料にて 12~23 週飼育した 14 匹では、肝体重比が 8.32% と正常群に比べて大きく、肝腫大を示していたが、PCB 投与群、PCB+GSH 投与群との差は認めなかった。肝 CP, PP はそれぞれ 1.08, 31.35  $\mu$ g/g wet weight で 14 匹中 12 匹に異常高値を示し、ことに PP の上昇が著明であった。CP は PCB 群に対しても有意に高値を示していた。肝 ALA-D 活性値は 29.59 nmol PBG/mg p/h と正常群、その他の群に比べて有意差なく、赤血球 ALA-D 活性値は 1.24  $\mu$ mol PBG/ml pcv/h と正常群、PCB 投与群に対して有意に高値を示した。

#### 5. GF 単独投与群

0.1% GF 含有飼料にて 23~35 週間飼育した 26 匹では、肝体重比は 6.00% で、正常群に比べて、肝腫大を示していたが、PCB+GF 投与群に対しては有意に低く、肝腫大が軽度であった。肝 CP, PP はそれぞれ、0.23, 1.59  $\mu$ g/g wet weight で正常群に比べて平均値では有意差がなかった。しかし 26 匹中 3 匹に PP の異常高値をみており、いわゆる GF induced protoporphyria の状態であった。この 3 匹を除くと肝の PP 平均値は 0.49  $\mu$ g/g wet weight となる。肝 ALA-D 活性値は 29.10 nmol PBG/mg p/h で、正常群やその他の群との有意差なく、赤血球 ALA-D 活性値は正常群との有意差は認めなかったが、PCB 投与群や PCB+GSH 投与群、PCB+GF 投与群に対しては有意に低値を示していた。

### か ん が え

PCB がポルフィリン代謝に影響を与えることはすでに報告があるが、今回のわれわれのデータにおいても、KC-400 単独を dd-k マウスに投与しても、肝 CP, PP は明らかに増加していた。しかし、その増加の状態は PCB 単独の場合、正常群よりやや増加している状態で、代謝異常というまでにはいかず、21 匹中 3 匹の肝 PP がやや高値を示しているのみであった。下山<sup>13)</sup>は KC-400 を同じ D-D 系マウスに投与しているが、単独投与では殆んど変化をみていない。

これに対し、ラットでは本多ら<sup>7)</sup>が 2~20 週の KC-400 投与で、肝 CP, PP を測定すると、20 匹中 2 匹に異常を示し、30 週以上の長期投与では 8 匹中 7 匹に異常を示し、その変化は主として CP の異常であったことを報告している。われわれのおこなった実験では PCB に GSH を加えた場合、単独投与と同様の傾向を示し、一部の個体では単独投与するよりも異常状態が著しくなっていた。今回のデータでも、PCB がポルフィリン代謝に影響を与えていることは明らかであるが、PCB の投与量や期間によつて蓄積するポルフィリンが異なってくる可能性がある。PCB 単独では CP がより著しく増加しており、この実験をさらに長期間続けると HCB による変化に類似してくることは十分に考えられる。

下山<sup>13)</sup>は低濃度 GF を用いるとポルフィリン代謝異常の初期変化とその動態観察によいと見え、0.1% GF に PCB やその他いくつかの化学物質を投与して、ポルフィリン代謝に化学物質の複合作用がどのように影響をおよぼすか検討した。彼のデータによれば、PCB によつて 0.1% GF 投与マウスは肝腫大が著しく、12 匹中 8 匹にポルフィリン蓄積を認め、その変化は CP の沈着が著しく、GF 単独投与による変化とは明らかに異なっていたと述べている。今回の実験では PCB と 0.1% GF の複合作用はやはり GF 単独よりも強くあらわれていたが、その変化は CP の沈着よりも PP の沈着が著しく、いわゆる GF-induced protoporphyria の状態であった。この違いをどのように説明すべきか、はつきり述べることは出来ないが、PCB の含有濃度、投与期間、あるいは観察時期の違いによつて、これらの違いが出てくるものかどうか、さらに検討していかねばならないと考える。しかし、PCB 単独投与に比べて、PCB と GF による複合作用はポルフィリン代謝面においても、増強されていることが確認された。問題はこの作用がマウスと同様にヒトにおいても、現われるかどうかであろうが、この点に関しては多くの種類の動物による実験を重ねていかねばならないであろう。

ポルフィリン代謝系における ALA-D の意義は主として公衆衛生領域において、鉛中毒症との関連性が重視され、この分野における ALA-D の意義はよく知られているところである。しかしながら、臨床的には ALA-D 活性の測定など充分におこなわれていないのが現状である。最近、porphyria cutanea tarda (以下 PCT と略) 患者赤血球や肝 ALA-D 活性が低下していることが報告<sup>8)10)</sup>され、次第に臨床

的にも測定がおこなわれるようになってきた。一方、1.0% GF を D-D 系マウスに投与すると肝、赤血球 PP の著増を起こすが、その状態でも肝、赤血球 ALA-D 活性は特に著しい変化を示さなかったという報告<sup>10)</sup>もあり、ALA-D 活性値そのものが代謝異常の状態を表わすものでもない。PCB のポルフィリン代謝に与える影響が HCB に類似しているものとすれば、uroporphyrinogen decarboxylase (以下 URO-D と略) 活性を低下させるものと思われる。URO-D 活性の低下によつて uroporphyrinogen から coproporphyrinogen に至る過程の異常が起こり、8,7-carboxyl porphyrin の蓄積が生ずるものと考えられている<sup>9)</sup>。その他の酵素では、例えば肝 aminolevulinic acid synthetase (以下 ALA-S) 活性を PCB は亢進させる<sup>6)13)</sup>。今回、赤血球 ALA-D 活性値の測定では、PCB 投与群、PCB+GSH 投与群、PCB+0.1% GF 投与群が正常に比べて高値を示していたが、肝 ALA-D 活性値はほとんど影響を受けて居らず、PCB が ALA-D に何らかの影響を与えることは推測されるものの、主な変化はポルフィリン代謝異常の結果生ずる変化の可能性が強い。しかし、GF 投与の場合、肝、赤血球の PP が著増するにもかかわらず、赤血球 ALA-D 活性値は殆んど変化がなかったという<sup>10)</sup>。PCB によるポルフィリン代謝の変化は PCT の変化に近いといわれるが、今回の実験では PCT の状態までの変化は起こっていないようである。しかも PCB に低濃度 GF を加えた場合は PCT というよりも protoporphyria の状態であった。その上、赤血球 ALA-D 活性値は上昇しており、村山<sup>10)</sup>のデータと異なっている。しかし、逆にこのような違いを一つずつ明らかにすることによつて、ポルフィリン体蓄積が、酵素系にどのように影響を与えていくかなど、検討していくことが出来る可能性もある。

GSH などの SH 剤は一般に生体の酸化還元機構に関与し、各種毒物などに対する解毒効果を有することが知られている。GSH はそれ故、種々の肝疾患などに広く用いられている薬剤で、今回も、PCB に対する影響をみるために投与を試みた。今回の実験では PCB 単独群と GSH を加えた群との間に著しい差を認めなかったが、肝 CP が著しく沈着している例が GSH 投与群に多く出現している傾向がみられた。この点は両群に投与期間の違いがあり、単純に GSH による作用ということは結論できない。GSH とポルフィリン代謝に関する報告は少なく、PP が鉄と結合

してヘムを合成していく際、GSH が酵素の活性化に必要であるという報告<sup>2)</sup>や、また acute intermittent porphyria の患者赤血球に glutathione peroxidase が増加しており、GSH 利用の異常を疑わせる報告<sup>9)</sup>もある。GSH がポルフィリン代謝に影響を与えるのも事実のようで、この面の検討も今後行なわねばならない。

以上の結果から、PCB がポルフィリン代謝に影響を及ぼすこと、また PCB が他の化学物質との複合作用でポルフィリン代謝に影響を及ぼすことは明らかであり、今後、どのような化学物質が PCB との複合作用を持つか、あるいはどのような種類の動物がポルフィリン代謝異常を起こし易いか、またそれを抑制する方法など検討をおこなっていく必要があるものと思われる。

## ま と め

PCB のポルフィリン代謝に与える影響をみるために dd-k 系マウスに KC-400、0.1% griseofulvin (GF)、glutathione (GSH) を単独あるいは混合して投与し、肝 coproporphyrin (CP)、protoporphyrin (PP) を Sano-Granick の変法で、肝および赤血球  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase (ALA-D) 活性を Kondo らの方法で測定した。dd-k 系マウスを 5 群に分け、第 1 群を正常群、第 2 群を KC-400 投与群、第 3 群を KC-400+GSH 投与群、第 4 群を KC-400+0.1% GF 投与群、第 5 群を 0.1% GF 投与群とした。肝体重比は KC-400 投与した群は正常群に比べて増加し、0.1% GF 群も増加していたが、KC-400+0.1% GF 群は 0.1% GF 単独に比べても有意に高値を示した。KC-400、0.1% GF 投与によつて肝 CP、PP 値ともに正常群より高値を示していたが、KC-400+0.1% GF 投与群が最も変化が著しかった。KC-400 投与によつて肝 CP 値の方が PP 値より著しく変化を受ける傾向がみられた。肝 ALA-D 活性値は 5 群とも有意の差を認めなかったが、赤血球 ALA-D 活性値では 0.1% GF によつて著しく上昇傾向を示した。すなわち、KC-400 投与によつて dd-k 系マウスの肝ポルフィリン体蓄積が起こり、その変化は 0.1% GF によつて著しく増強されていた。しかし肝 ALA-D の変化はみられず、赤血球 ALA-D 活性値の上昇がみられた。以上のことから、PCB によるポルフィリン代謝異常作用は GF によつて増強されるが、その際起こる ALA-D の異常は代謝異常から続発性に起こってきた可能性が

強いものと考えられる。

# 文 献

- 1) 荒木泰典, 田中 潔: PCB と DDT, BHC との複合作用——酵素誘導現象における協力——. 福岡医誌 65: 61-68, 1974.
- 2) Goldberg, A.: The enzymic formation of haem by the incorporation of iron into protoporphyrin.: Importance of ascorbic acid, ergothioneine and glutathione. Brit. J. Haemat. 5: 150-157, 1959.
- 3) Goldstein, J. A., Friesen, M., Linder, R. E., Hickman, P., Hass, J. R. and Bergman, H.: Effects of pentachlorophenol on hepatic drug-metabolizing enzymes and porphyria related to contamination with chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzo-furans. Biochem. Pharmacol. 26: 1549-1557, 1977.
- 4) Goldstein, J. A., Hickman, P., Burse, V. W. and Bergman, H.: A comparative study of two polychlorinated biphenyl mixtures (Aroclors 1242 and 1016) containing 42% chlorine on induction of hepatic porphyria and drug metabolizing enzymes. Toxicol. Appl. Pharmacol. 32: 461-473, 1975.
- 5) Goldstein, J. A., Hickman, P. and Jue, D. L.: Experimental hepatic porphyria induced by polychlorinated biphenyls. Toxicol. Appl. Pharmacol. 27: 437-448, 1974.
- 6) Grote, W., Schmoldt, and A. Benthe, H. F.: Hepatic porphyrin synthesis in rats after pretreatment with polychlorinated biphenyls (PCBs). Acta Pharmacol. Toxicol. 36: 215-224, 1975.
- 7) 本多哲三, 下山時生, 村山史男, 大神太郎, 吉田彦太郎, 野中薫雄: PCB のポルフィリン代謝に及ぼす影響——PCB 投与ラットの血液, 肝ポルフィリン体分析——. 西日皮膚 42: 641-646, 1980.
- 8) Kondo, M., Urata, G. and Shimizu, Y.: Decreased liver delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in porphyria cutanea tarda and in alcoholism. Clin. Sci. 65: 423-428, 1983.
- 9) Medeiros, M. H. G., Marchiori, P. E. and Bechara, E. J. H.: Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase activities in the erythrocytes of patients with intermittent acute porphyria. Clin. Chem. 28: 242-243, 1982.
- 10) 村山史男: ポルフィリン症の酵素学的検討, I. ヒト, マウス, モルモットの赤血球  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase 活性, 西日皮膚 44: 194-201, 1982.
- 11) 下山時生: 実験的 protoporphyrin の生化学的研究. 第2報: 低濃度 griseofulvin 含有飼料投与マウスにおよぼす 2, 3 の化学物質の影響について. 西日皮膚 46: 548-554, 1984.
- 12) 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. Pharmacol. 17: 656-668, 1970.
- 13) Vos, J. G., Strik, J. J. T. W. A., Van Holstein, C. W. M. and Pennings, J. H.: Polychlorinated biphenyls as inducers of hepatic porphyria in Japanese quail, with special reference to delta-aminolevulinic acid synthetase activity, fluorescence, and residues in the liver. Toxicol. Appl. Pharmacol. 20: 232-240, 1971.

## PCB 投与ラットにおける歯牙硬組織 形成への影響について

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・原 宜興

前田勝正・阿南 壽

阿部隆夫・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

### Effects on the Hard Tissue of Teeth in PCB Poisoned Rat

Isamu HASHIGUCHI, Akifumi AKAMINE, Yoshitaka HARA,  
Katsumasa MAEDA, Hisashi ANAN,  
Takao ABE and Masao AONO

*First 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 toxic effect of polychlorobiphenyl (PCB) on the morphology of the cells of teeth was studied histologically. Mandibular incisors and molars of PCB poisoned rats were examined primarily for the morphological change of ameloblasts.

The results obtained were as follows.

- 1) PCB exerted the dose dependent change of ameloblast in secretory and transitional phase in which the appearance of large vacuoles and swollen mitochondrias, and the degeneration of Tomes' process were observed distinctively.
- 2) Enamel hypoplasia and morphological change of odontoblasts and dentin tissue were not demonstrated clearly by the administration of PCB.
- 3) Taken together these results, it was suggested that PCB exerted the toxic effect on the ameloblasts but not on odontoblasts probably through the blood vessels.

### 序 言

PCB 中毒患者の口腔内所見としては歯肉の色素沈着や歯牙の萌出遅延および歯根の形態異常がみられ、組織学的には歯肉の過角化等が観察されることが今までに報告されている<sup>1)</sup>。一方、症例報告における病理組織学的所見では歯牙硬組織には特異的な所見は認められず<sup>2)</sup>、また現在までに PCB が歯牙の微細構造に及ぼす影響についての報告はほとんどみられない。

しかしながら、PCB の無機成分に対する影響も示唆されている<sup>3)</sup>、福山らのサルを用いた実験ではエナメル芽細胞の萎縮や micro-cyst 形成がみられている<sup>20)</sup>ので歯牙組織に対する為害性についても検討する必要がある。そこで今回我々はラットに PCB を投与して下顎切歯ならびに下顎第一大臼歯におけるエナメル芽細胞に及ぼす影響について組織学的検索を行った。

## 材 料 と 方 法

### 1. 下顎切歯に及ぼす影響について

実験動物としては生後 20 日の ウィスター 系キング A ラット を用い 以下の 3 つの群に分けて観察を行った。

#### a) PCB 投与群

KC-400+Polychlorinated Dibenzofuran (以下 PCDF と略す) をサラダ油に溶かし 10 mg/kg および 50 mg/kg ずつそれぞれ 5 日間腹腔内に投与した。

#### b) サラダ油投与群

PCB 投与群と同量のサラダ油をそれぞれ 5 日間投与した。

#### c) 対照群

PCB およびサラダ油無投与群

いずれの群においても生後 30 日に屠殺した。

エーテル麻酔下で心臓内より Karnovsky 固定液 (0.1 M カコジル酸緩衝液, pH 7.2) にて還流固定を行い直ちに下顎を取り出し、同固定液に浸漬固定した。下顎骨から切歯をエキスカベータにて剔出し 0.1 M カコジル酸緩衝液にて洗浄後、EDTA にて 3~4 週間脱灰を行った。同緩衝液にて洗浄後 1% オスミウム液にて 90 分後固定、上昇アセトンによる脱水の後、エポン 812 に包埋、重合した。ウルトラミクロトームを用いガラスナイフで約 1  $\mu$ m の切片を作製し、トルイジンブルー染色を施し光顕にて観察した。続いてダイヤモンドナイフで超薄切片を作製し、クエン酸鉛と酢酸ウランにて 2 重染色を行い H-500 型電子顕微鏡で観察した。

### 2. 下顎第 1 大臼歯に及ぼす影響について

実験動物としては 250~300 g の妊娠 ウィスター系キング A ラット を用いた。切歯と同様に以下の 3 群に分けて観察した。

#### a) PCB 投与群

妊娠 17, 18, 19 日目にサラダ油に溶かした KC-400+PCDF をそれぞれ 10 mg/kg ずつ 腹腔内投与した。

#### b) サラダ油投与群

妊娠 17, 18, 19 日目に PCB 投与群と同量のサラダ油を腹腔内に投与した。

#### c) 対照群

PCB およびサラダ油無投与群

上記の 3 群の新生仔ラットをそれぞれ生後 1, 2, 9, 11, 16 日目にエーテル麻酔下で屠殺した。直ちに下顎第一大臼歯相当部を摘出し Karnovsky 固定液

に浸漬固定した。以後の操作は切歯の時と同様に行った。

## 結 果

### 1. 下顎切歯に及ぼす影響

#### a) 対照群およびサラダ油投与群

大別して以下の 3 つに分けられる。

##### i) 前エナメル芽細胞

上皮鞘に始まる前エナメル芽細胞は短円柱状を呈しており、核は卵円形でまだ極性を示していなかった。この細胞層では細胞分裂が随所に観察された。歯乳頭側では未分化な間葉系細胞が内エナメル上皮直下に集合し、徐々にその長径を増加させてきた。間葉系の細胞の核が極性を示し細胞質突起が出現してくると前象牙質を形成するようになった。この時期になると前エナメル芽細胞は長径を伸ばし、核は遠心端に移動して極性を示すようになるがまだトームス突起の形成はみられなかった。

##### ii) 分泌期エナメル芽細胞

エナメル芽細胞はさらに長径を伸ばし、明瞭な極性を示してきた。遠心端ではトームス突起がみられるようになりエナメル基質内に伸びているのが観察された。電顕的にはこの時期のエナメル芽細胞はゴルジ装置と粗面小胞体が著明に発達しており蛋白分泌型細胞の様相を呈していた。またミトコンドリアは大部分が近心端に集合してくるがその形は不規則な楕円形をしていた。トームス突起にはゴルジ装置由来と思われる分泌顆粒や coated vesicle が観察された。

##### iii) 成熟期エナメル芽細胞

この時期にはエナメル基質の全層が完成しており萌出後の歯牙形態が推測されるようになってきた。エナメル芽細胞はその長径を急速に減じ始めトームス突起がみられなくなってきた (この時期は普通移行期エナメル芽細胞といわれている)。

エナメル基質の成熟化が開始されると遠心端では細胞膜の著明な陥入が出現してくるようになり、細胞間隙の拡大が認められた。この時期のエナメル芽細胞の電顕レベルでの特徴としてはミトコンドリアの数が増えるとともに近遠心両端に 2 分されて分布するようになった。また全体的に分泌期エナメル芽細胞よりもゴルジ装置や粗面小胞体は減少した。エナメル質の成熟化がほぼおわると遠心端の陥入は消失してさらに長径を減じるようになった。

#### b) PCB 投与群

##### i) 10 mg 5 回投与群

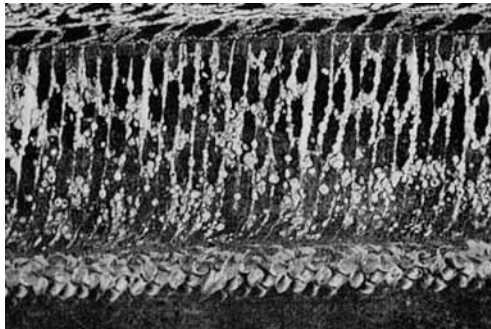


図 1. 分泌期エナメル芽細胞に空胞が認められる。  
(× 700)

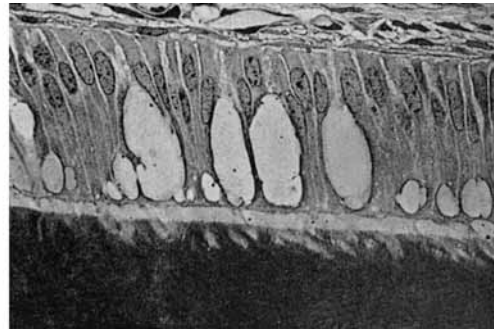


図 3. 分泌期エナメル芽細胞層の嚢胞状  
構造物。(× 700)

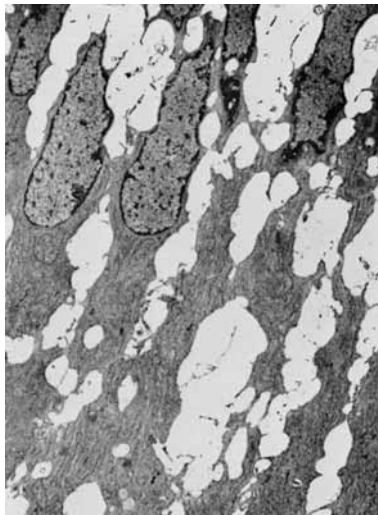


図 2. 図 1 の電顕像：細胞の萎縮や細胞間隙の  
拡大が観察される。(× 4800)

対照群と比べてみると分泌期エナメル芽細胞部で若干の細胞間隙の拡大が認められた。続いて分泌期エナメル芽細胞から成熟期エナメル芽細胞に移行する部位においては（つまり移行期エナメル芽細胞の時期）細胞間隙が著明に拡大してくるようになり、さらに細胞質の染色性の低下がみられると同時に核の形も不規則になってきた。しかし中間層の細胞や象牙芽細胞には対照群と比して著明な差異は観察されなかった。

#### ii) 50 mg 5 回投与群

対照群と比較して著明な差が観察された。基質形成期直前になっても前エナメル芽細胞の核は極性を示さないものもあり、なかには遠心端に存在しているものもみられるがその数は非常に少なかった。また細胞の萎縮と共に細胞間隙も拡大しているのがみられた。

分泌期エナメル芽細胞に移行すると核は近心端に存在し、極性を示すようになるが細胞萎縮や細胞間隙の拡大がみられた。細胞の萎縮がはげしいものでは細胞全体が空胞化したような観を呈していた（図 1）。この部位を電顕的に観察すると近心端では大小の卵円形から細長いものまでさまざまな形態のミトコンドリアが多数みられ、粗面小胞体もわずかではあるが存在していた。terminal web は認められない細胞が多くなっていた。核は前エナメル芽細胞よりもさらに形態が不規則になって不整形なものから長楕円形のものまで多種多様になっており、一部には核の内部に空胞が観察されたり、核が断裂しているものもみられ細胞死をうかがわせるものもみられた。遠心端部では萎縮が近心端よりも激しく隣接する細胞との間のデスマゾームなどの接着装置も少なくなっており、またそのために細胞間隙も広がっていた。細胞質内には限界膜のみられない空胞がみられるものもあり一部、細胞間隙と交通しているように見えるものもあった。しかしながらこの時期の特徴である粗面小胞体の走向や形態異常には著変はみられなかった（図 2）。

中間層の細胞にはおおむね変化はみられないが、なかには外形が凹凸の多い不規則な多角形を呈し、核は不整な形態を示し細胞質に占める割合の少なくなっているものもみられた。頻度としては上述の変化よりも少ないが、基質形成がさらに進んだ時期の分泌期エナメル芽細胞に以下のような所見も光顕で観察された。遠心端に大小の空胞が出現し、あたかも網眼のように

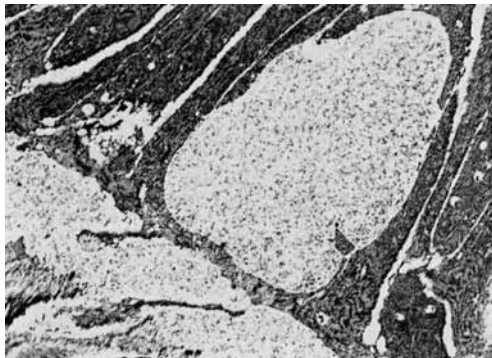


図4. 図3の電顕像：嚢胞状構造物ならびに Tomes' 突起の変性像. (× 4200)

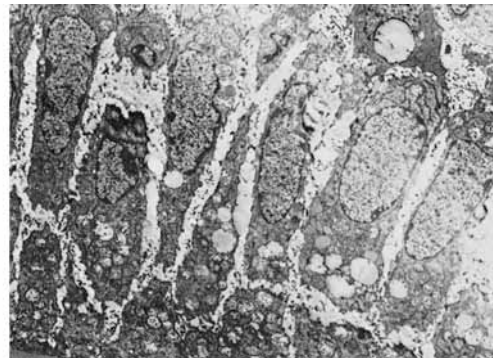


図6. 図5の電顕像：細胞質内の空胞ならびにミトコンドリアの変性像. (× 4200)



図5. 移行期エナメル芽細胞に空胞が認められる. (× 700)

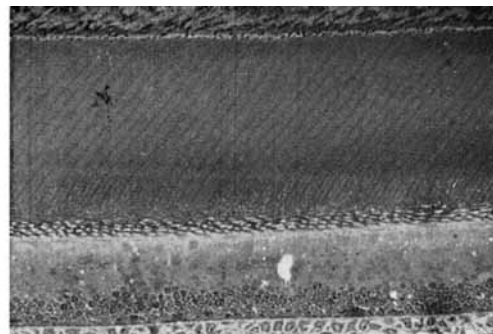


図7. エナメル象芽境に沿った顆粒の出現. (× 260)

みえた。空胞の多い部位ではトームス突起が破壊されエナメル基質とエナメル芽細胞の間に空隙が認められることもあった。細胞間空隙は対照群と比較して著明な差異は認められなかった。

## 2. 臼歯に及ぼす影響

### a) 対照群およびサラダ油投与群

生後1, 2日目の組織所見としてはエナメル基質はほとんどないか、あってもごく少量であり、エナメル芽細胞の分化の状態は前エナメル芽細胞かもしくは分泌期エナメル芽細胞の初期に相当していた。エナメル器のほぼ中央には星形をした細胞がそれぞれ隣の細胞のものと多量の細胞間質でみだされた広い細胞間腔で隔てられているエナメル髓が存在していた。生後9, 11日目ではエナメル基質の中は大きくなって将来の歯冠の形態が推測され分泌期エナメル芽細胞の後期もしくは移行期エナメル芽細胞の状態を呈していた。生後16日では酸溶性なエナメル質が形成されており、エナメル芽細胞は長径が極端に短くなり成熟期

エナメル芽細胞や退縮期エナメル芽細胞の形態をとっていた。

### b) PCB 投与群

前エナメル芽細胞の時期には著明な形態的变化はほとんど認められなかった。臼歯部に特異的に観察される所見として分泌期エナメル芽細胞の遠心端部にかなり大きな空胞の出現が挙げられ、その中の一部にはメタクロマジーが認められた。これらの空胞がさらに大きくなったような嚢胞状の構造物が細胞層の中にみられた。その部のエナメル芽細胞は嚢胞状の構造物の外形に応じて彎曲を呈しており、エナメル基質から剝離している所見も認められた(図3)。電顕で観察すると細胞遠心端部では terminal web の存在は認められるがトームス突起は変性萎縮して分泌顆粒や coated vesicle もみられなくなっていた。障害がさらにひどくなるとトームス突起そのものが消失したり、またはエナメル基質中のトームス突起があったと思われる場所に変性したトームス突起の一部が残存し

ている所見もみられた。エナメル芽細胞が嚢胞状構造物の外形に応じて彎曲を呈しているのは先に述べた通りであるが、粗面小胞体も彎曲に応じた走行を示したり不規則な配列をしているものもみられた(図4)。しかしながら粗面小胞体の膨張や断裂等の所見は観察されなかった。核下部ではミトコンドリアに小空胞が認められ、さらに近心端では隣接するエナメル芽細胞との接触は少なく terminal web の存在も少数にしかみられなくなっていた。また中間層の細胞は極端に扁平化しておりエナメル芽細胞と同様に小空胞がミトコンドリアにみられるものもあった。嚢胞状構造物の内部やエナメル芽細胞がエナメル基質から剝離した部位には血管の内部にみられる物質と同様な電子密度や構造を呈する物質が貯留しているのが認められた。移行期エナメル芽細胞にみられる変化として遠心端部に大小さまざまな空胞の出現が挙げられる(図5)。電顕で観察するとまず注目されるのはミトコンドリアにみられる種々の変化であった。主としてみられるのがクリステの不明瞭化と溶出である。さらに障害が強度になるとミトコンドリアは全体的に膨張してくるようになり限界膜が破れているものも観察された。空胞は大小さまざまな限界膜がみられるものとみられないもの両方があった。内容はほとんど空虚かもしくは少量の電子密度の高い不定形の物質を入れていた。空胞の中にはクリステの破片などがみられ膨張したミトコンドリア由来のものと思われるものもあり、近接した空胞の境界の一部が不明瞭になり癒合してさらに大きくなっていくような所見もみられた。粗面小胞体は膨張したミトコンドリアや空胞のために走行異常をきたしたり途中で断裂したりしているものもみられた(図6)。また、自己食胞や脂質も散見された。中間層の細胞の中にはエナメル芽細胞にみられるような大型の空胞も存在していた。成熟期エナメル芽細胞に関しては対照群と比較して著変は認められなかった。

### 3. その他の所見

#### a) エナメル質

切歯および臼歯ともにほとんどの試料においてはエナメル質には著変はみられなかったが、臼歯の一部の試料ではエナメル基質の中が減少している部位がみられた。この部位のエナメル基質表面には空隙が多数観察され、またエナメル芽細胞はエナメル基質から遊離され魚鱗状を呈しており嚢胞状の構造物もみられた。

#### b) 象牙質および象牙芽細胞

象牙質や象牙芽細胞には PCB を投与してもトル

イジンプルー好性の顆粒が出現することを除いては著変はみられなかった。この顆粒はエナメル質にはみられず、エナメル象牙境に沿って線状にみられた(図7)。X線マイクロアナライザーを使ってこの顆粒を調べると他の部位に比較して CI の値が高いことが判明した。

### 考 察

一般に過剰な薬物投与による障害は心臓、血管や消化管などの軟組織によつて構成されている器官においてみられるが、歯根が完成した歯牙は投与された薬物の影響はあまりうけないといわれている<sup>15)</sup>。

しかしながら歯種によつて発生時期が異なるために最初の乳歯の発生から永久歯の完成まで長い時間が必要とされる。したがって上皮細胞や間葉系細胞の活発な時期が長くなっているわけで、この時期に薬物が投与されるとその有害な作用をうけて歯牙の発育や形成が阻害されることも考えられる。歯の形成障害を引き起こす薬物としてひろく知られているものにフッ化物およびテトラサイクリン系抗生物質が挙げられる<sup>8) 16) 25)</sup>。その他にもビタミンやホルモンによる例も報告されている。ビタミンAは上皮性組織の機能や構造に影響を及ぼすことが知られているが、ビタミンA欠乏症の乳児歯胚においてはエナメル器の萎縮やエナメル芽細胞の扁平化およびエナメル質形成不全などが認められる<sup>9)</sup>。ビタミンDはCaとPの腸管からの吸収に関与しており、ビタミンD欠乏症または過剰投与によりエナメル質に形成不全や減形成が起こることが知られている<sup>9)</sup>。その他のビタミンとしては、ヒトでは著明な変化は報告されていないが実験的にハムスターにビタミンC欠乏症をおこさせるとエナメル質の形成不全が起こることも報告されている<sup>2)</sup>。ホルモンの与える影響としては、各種の内分泌腺の機能異常にもとづく形成障害が知られており、特に副甲状腺の機能低下においてエナメル器とくにエナメル芽細胞に強い退行性変化があらわれ高度の形成不全と石灰化障害が起こることが報告されている<sup>9)</sup>。しかしながらPCBが歯牙組織、とくにエナメル質形成細胞の微細構造に与える影響にふれた研究はこれまでの文献中にはほとんどみられない。そこで今回我々はラットにPCBを投与し、主としてエナメル芽細胞の微細構造の変化について検索を行なった。ラット切歯のエナメル芽細胞は前エナメル芽細胞→分泌期エナメル芽細胞→成熟期エナメル芽細胞に至る各時期の細胞がエナメル質にそって一列に並んでおり、これを利用して各時期のエナ

メル芽細胞の機能障害について観察できる。しかし歯根端部には歯胚組織が存在し常に成長し続けているので胎児期に及ぼす PCB の影響を検索するには不適で臼歯の方がより良いと思われる。そのために今回は切歯および臼歯の2カ所について観察を行った。臼歯の場合の PCB 投与時期はエナメル芽細胞の組織分化が胎生20日前後、また層殺の時期はエナメル質形成開始が生後1~2日、エナメル質形成の終了が生後11日、歯根の分岐開始が14~16日という報告<sup>23)</sup>に従って決定した。

#### 1. 下顎切歯に及ぼす影響について

先にも述べたように PCB による歯牙の微細構造に及ぼす影響についてふれている文献はほとんどみられないのでストロンチウムやビンプラスチンなどを投与した研究<sup>4) 21) 26)</sup>におけるエナメル芽細胞の形態的变化と比較検討を行った。今回の観察ではエナメル芽細胞には著明な変化が認められるのは分泌期エナメル芽細胞に分化してからである。この時期のエナメル芽細胞に最初にみられる変化としては細胞の萎縮と多数の空胞の出現が挙げられる。その頻度は10 mg 投与ラットよりも50 mg 投与ラットの方がより多く、また細胞間空隙の拡大も50 mg 投与ラットの方がより激しく起こっていることから PCB の投与量とエナメル芽細胞の変化の程度の間に関係のあることが推測された。ストロンチウムやその他の薬剤を投与した切歯の分泌期エナメル芽細胞に空胞が出現することは報告されているが、いずれも出現した空胞は細胞中央部から遠心端にかけてみられており今回の実験で観察されたような近心明領域部を除いた細胞質全体に空胞が出現するという例は少ないように思われる。Kruger<sup>18)</sup>は空胞は粗面小胞体の拡張によつて出現したものと考えており、澤田<sup>21)</sup>もまた著しく膨大した粗面小胞体を観察しており蛋白合成能の障害がその原因であるとしている。しかしながら PCB 投与によつても粗面小胞体の膨大や走行異常などの変化は認められず、また細胞間空隙へのエナメル基質様構造物やエナメル基質の変化もほとんどみられないことから、PCB は細胞の蛋白合成能阻害にはさほど関係していないのではないかと考えられる。Scheinmann ら<sup>22)</sup>はエナメル基質の中に脂質が存在しており、その脂質は石灰化する過程で消失してしまうことを報告している。同様の報告が Prout<sup>18)</sup> らによつてなされており、さらに Goldberg<sup>5)</sup> はエナメル基質が吸収される前の時期つまり分泌期エナメル芽細胞によつてそれらの脂質がつくられる可能性を示唆している。PCB は基板や細

胞膜を通過しうるので他の時期のエナメル芽細胞よりも活発につくられていると思われる脂質の中に取り込まれた結果、細胞の脂質代謝の異常が起こり、そのために空胞の出現となったことが考えられる。また PCB 中毒をおこしたサル歯肉上皮にも同様の空胞が出現することが報告されている<sup>6)</sup>。上皮の分化には直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が、同様にエナメル芽細胞の分化にも間葉系の細胞である象牙芽細胞が与える影響が無視できない<sup>19)</sup>。今回の観察では象牙芽細胞の著明な形態学的変化はみられなかったが、PCB 投与により象牙質および象牙芽細胞にトルイジンブルー好性の顆粒が認められX線マイクロアナライザーで CI が検出されているので何らかの異常が起こっている可能性も十分にあり、その結果としてエナメル芽細胞に形態学的な変化が生じたことも考えられる。

#### 2. 臼歯に及ぼす影響について

前エナメル芽細胞の時期にほとんど変化がみられないのは下顎切歯とほぼ同様である。分泌期エナメル芽細胞の所見で特に注目されるのは嚢胞状構造物内やエナメル芽細胞がエナメル基質から遊離された部位に貯留している物質と血管内にみられる物質との類似性である。PCB を投与するとその一部は血清中の lipoprotein に取り込まれさらに血管内皮を障害することが報告されている<sup>7)</sup>。これらのことから血液中の lipoprotein に含まれていた PCB が血管透過性の亢進と共に血管外に出てくるようになったのではないかと推測される。血管の分布については前エナメル芽細胞の時期は増殖や分化を盛んに行うが合成や分泌などの機能の発達はあまり著しくなく、また嫌気的な解糖作用を行っているので血管は比較的遠くに位置しその分布も不規則かつまばらである。しかし、基質形成期に至るとエナメル芽細胞は好気性代謝を活発に行うようになるため血管はエナメル芽細胞に近接するようになり、さらに内皮細胞の形態も変化し各種物質のエナメル器への輸送を増すことが知られている<sup>10)</sup>。このような知見からエナメル芽細胞の変化の原因を血管内の PCB と考えると前エナメル芽細胞にほとんど変化が認められないことが納得できる。もちろんエナメル基質の石灰化の進行に際して血中の蛋白成分がエナメル基質蛋白中に混入を避けるような機構が存在し、その主役は中間層の細胞が演じていると考えられている<sup>9)</sup>。しかしながら今回 PCB を投与した群において中間層の細胞に扁平化や空胞の出現が認められることからバリアーとしての機能が十分に発揮されていな

いのではないかと推測される。さらに分泌期エナメル芽細胞や移行期エナメル芽細胞の近、遠心端の複合結合装置が必ずしも完全な通過性関門の役割を果たしていないことが報告されている<sup>20)</sup>。そのために血管の中の PCB は意外と自由にエナメル芽細胞にたどりつき、膜を通過したりエンドサイトーシスによつてエナメル芽細胞内に入り込み脂質代謝の異常を起こすものと考えられる。分泌期エナメル芽細胞の層にみられた嚢胞状構造は甲状腺を摘出したラット臼歯にも観察されている<sup>21)</sup>。PCB が直接甲状腺に影響を与えているという報告はないが腺組織は脂肪が多いことから何らかの影響を与えている可能性も否定できない。今回観察されたミトコンドリアの変化は PCB 投与群においてのみ観察されたことや PCB 投与群にても象牙芽細胞などにはみられなかったこと、また <sup>3</sup>H-KC-400 の取り込みを検索した報告<sup>14)</sup>においてミトコンドリアの分画にも高い取り込みがみられていることから PCB 投与によるものと思われる。ミトコンドリアの膨化の原因ははっきりしない。脂肪酸やアスコルビン酸にミトコンドリアをさらすと膨化してくることが知られているので<sup>17)</sup>、PCB 投与によって体内にふえた脂肪酸やアスコルビン酸の影響も若干あるのではないかと推測している。細胞質内にみられる種々の空胞については実験結果でも述べたように膨化したミトコンドリアによるものや、または脂質代謝異常による脂質の蓄積および PCB 投与によるライソゾーム膜不安定化によるものではないかと考えているがいずれも推測の域を出ない。

### 3. その他の所見

トームス突起の萎縮変性やミトコンドリアの変性像がみられることからエナメル質の形成不全は高頻度に観察されてしかるべきと思われるが今回の観察ではごく少数の試料にしか認められなかった。一般に薬物投与によるエナメル芽細胞への影響としては薬物投与後しばらくしてから回復の方向にむかっているエナメル芽細胞もあるといわれており<sup>4)22)</sup>、また正常なラットにおいても多くのエナメル芽細胞が死滅してしまうという報告もあることから<sup>3)14)24)</sup>、PCBの影響を受けていないエナメル芽細胞や回復のきざしをみせているエナメル芽細胞だけでもエナメル質形成には十分なのかもしれない。もちろんラットの個体差や試料の方向性および障害の存在部位の相違も無視することはできない。また象牙芽細胞は対照群と比較して形態的に著変がみられなかったことに関しては細胞の感受性のちがいにによるものかもしれないがさらなる検索が必要と思

われる。

## 小 括

PCB の歯牙組織に与える影響を検索するために PCB 投与ラットの下顎切歯および臼歯の主としてエナメル芽細胞の変化について光顕ならびに電顕を用いて観察を行った。

1. PCB 投与により分泌期エナメル芽細胞および移行期エナメル芽細胞に濃度依存性に空胞の出現やミトコンドリアの膨化、トームス突起の変性が観察された。
2. PCB は血管を経由してエナメル芽細胞に影響を与えることが強く示唆された。
3. PCB 投与によってもエナメル質の形成不全はさほど認められず、また象牙質や象牙芽細胞にも著明な形態的变化をおこさないことが観察された。

## 文 献

- 1) 青野正男, 福山 宏: 油症 PCB 中毒研究の現状. 歯界展望 52: 1003-1016, 1978.
- 2) Bronckers, A. L. J. J.: A histological and biochemical study of the effect of vitamin C deficiency on induction of amelogenesis in hamster molars in vitro. Archs. Oral. Biol. 28(8): 681-692, 1983.
- 3) Edward, J. Reith: The stage of amelogenesis as observed in molar teeth of young rats. J. Ultrastruct. Res. 30: 111-151, 1970.
- 4) 古井 瞭: ストロンチウム投与によるラット切歯珐瑯質の形成障害に関する電子顕微鏡的研究. 歯科学報 77: 847-879, 1977.
- 5) Goldberg, M., Lelous, M., Escaig, F. and Boudin, M.: Lipids in the developing enamel of the rat incisor. Parallel histochemical and Biochemical investigation. Histochemistry 78: 145-156, 1983.
- 6) 橋口 勇, 赤峰昭文, 中野嗣久, 青野正男, 福山 宏: 実験的 PCB 中毒サルにおける歯肉上皮の微細構造について. 福岡医誌 74: 246-254, 1983.
- 7) Iatropoulos, M. J., Felt, G. R., Adams, H. P., Korte, K. and Coulston, F.: Chronic toxicity of 2,5,4'-trichlorobiphenyl in young rhesus monkeys. II. Histopathology. Toxicol. Appl. Pharmacol. 41: 629-638, 1977.
- 8) 飯塚喜一, 岡田 昭五郎: 弗化物とその応用. p. 15-31, 東京, 医歯薬出版 1973.
- 9) 石川梧郎, 秋吉 正豊: 口腔病理学 I. p. 58-107, 東京, 永末書店 1978.
- 10) 岩久文彦: エナメル質形成と血管微細形態. 細胞 16(12): 24-29, 1984.
- 11) 加藤敬太郎: ラット肝リソゾームの調整法.

生体膜実験法 (上) p. 252-257, 東京, 共立出版 1974.

12) 古賀久保, 上田 忠, 梶山 稔, 福山 宏: 油症 (塩化ビフェニール中毒症) 2例の口腔所見について. 日口外会誌 18: 126-128, 1972.

13) Kruger, B. J.: The effect of different levels of fluoride on the ultrastructure of ameloblasts in the rat. *Archs. Oral. Biol.* 15: 109-114, 1970.

14) Moe, H.: Physiological cell death of secretory ameloblasts in the rat incisor. *Cell. Tissue. Res.* 197: 443-451, 1979.

15) 小椋秀亮: 薬物による歯の形成障害. 歯科ジャーナル 17: 797-807, 1983.

16) 小椋秀亮, 小倉 保己: 現代歯科薬理学. p. 492-518, 東京, 医歯薬出版 1979.

17) 大柳善彦, 萩原文二: ミトコンドリアの生化学. 小川和朗, 小田琢三, 黒住一昌, 杉野幸夫編. 細胞学大系 p. 48-90. 東京, 朝倉書店 1975.

18) Prout, R. E. S., Odutuga, A. A. and Tring, F. C.: Lipid analysis of rat enamel and dentine. *Archs. Oral. Biol.* 18: 373-380, 1973.

19) Ruch, J. V., Lesot, H., Karcher-Djuricic, V., Meyer, J. M. and Olive, M.: Facts and hypothesis concerning the control of odontoblast differentiation. *Differentiation* 21: 7-12, 1982.

20) 佐々木崇寿: エナメル芽細胞の結合様式と物質通過機構. 細胞 16(12): 18-23, 1984.

21) 澤田 隆: ビンクリスチンとビンブラスチン投与によるラット珐瑯芽細胞超微構造の変化. 歯科学

報 82: 347-383, 1982.

22) Scheinmann, E., Weinreb, M. and Wolman, M.: Histochemical study of the ameloblast and the enamel matrix in rat molars. *J. Dent. Res.* 41: 1293-1303, 1962.

23) Schour, I. and Massler, M.: 歯質の形成. 須賀昭一, 田能庄三郎, 佐々木 哲編. 歯の研究法, 構造と組成. p. 743-765. 東京, 医歯薬出版 1973.

24) Smith, C. E. and Warshawsky, H.: Quantitative analysis of cell turnover in the enamel organ of the rat incisor. *Anat. Rec.* 187: 63-98, 1976.

25) 須賀昭一: 歯の形と構造の異常. 田能庄三郎編. 図説口腔病理学 第3版 p. 2-37. 東京, 医歯薬出版, 1978.

26) Takuma, S., Sawada, T. and Yanagisawa, T.: Ultrastructural changes of secretory rat incisor ameloblast following administration of vincristine and vinblastine. *J. Dent. Res.* 61 (Sp Iss): 1472-1478, 1982.

27) 谷口邦久, 北村勝也: 甲状腺摘出がエナメル質形成細胞に及ぼす影響に関する電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌 26: 786-807, 1984.

28) Yagi, N., Kimura, M. and Itokawa, Y.: Sodium, potassium, magnesium and calcium levels in polychlorinated biphenyl (PCB) poisoned rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 516-519, 1976.

29) 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.

## 油症検診と肝癌早期発見の対策

福岡大学医学部第一内科

奥村 恂・坂口 正剛

### Hepatic Cell Carcinoma and the Patients with Yusho

Makoto OKUMURA, and Seigo SAKAGUCHI

*First Department of Internal Medicine, Fukuoka University,  
Medical School, Fukuoka 814, Japan*

To evaluate an effect of PCB poisoning on the development of hepatic cell carcinoma, HBV-and tumor markers as well as ultrasonic (US) examination were performed in Yusho patients. Seventy-nine patients and 125 patients with Yusho were examined at the annual examination in 1983 and 1984, respectively. Normal frequency of positive HBsAg was recognized in these patients. No particular elevation of tumor markers was observed except one patient showed slightly elevated AFP (16 ng/ml) level without evidence of hepatoma. So far in US examination, 3 patients of chronic liver disease and 1 patient of hepatic cirrhosis were observed, however, no hepatic cell carcinoma was detected in 124 patients with Yusho.

#### 緒 言

Polychlorinated hydrocarbon (PCB) 中毒の報告は、1937 年頃からみられ、いわゆる“chlorane”をを伴うものの中に急性肝萎縮症を呈して死亡した数例ずつの報告がある。動物実験でも、障害臓器の最も著しいものは肝臓であるといわれていた<sup>13)</sup>。

しかし 1968 年 4 月、北部九州に発生したいわゆるカネミ油症 (PCB 中毒) の典型例について検索しえた著者らの経験<sup>12)13)</sup>、その他<sup>1)</sup>についても肝障害に著しいものは見られていない。また HBs 抗原陽性の頻度も一般人と差はみられていない<sup>2)</sup>。その後 17 年の歳月が流れたが、油症患者に肝障害が多発したという印象はみられない<sup>12)</sup>。九大油症研究班で行われた剖検例の中に 2 例の肝細胞癌がみられた。これらは血中ならびに臓器中の PCB pattern はいずれも C で、正常人の型であり、ヒトにおける肝癌と PCB 中毒との因果関係は明らかにされていない<sup>7)</sup>。

一方、1979 年中部台湾に発症した油症 (PCB 中毒) に関する Hsu の報告<sup>3)</sup>によると、1979 年 3 月から 1980 年末までに計 2,060 例の中毒患者が発生し、年令の大部分は 11~20 才で、血中 PCB も 3~1156 ppb に達し、3 年間に 39 名のいわゆる black baby

がみられ、うち 8 名は死亡した。そのほか 24 例の死亡者があり、そのほぼ半数は肝細胞癌、肝硬変あるいは肝腫大を伴う肝障害で死亡したという。これはまことに注目すべき報告であった。

以上のような油症の背景から、発症以来 17 年を経た今日、PCB と慢性肝障害とくに肝細胞癌発症との関係の有無を検討することには大きな意味があると考えられる。われわれは、油症一斉検診を受診した油症患者について、諸検査のなかからとくに各種腫瘍マーカーの検討、および肝細胞癌の早期発見に有力な手段として用いられるようになった超音波断層診断を用いて、その実態を把握しようと試みた。

#### 対象ならびに方法

福岡県における油症一斉検診 (1983 年、1984 年) を受診した油症患者および未診定者を対象とした。

1. 1983 年度は、福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 79 名 (男 32 名、女 47 名、平均年令 51.2 ± 15.5 才) の群と、未診定者を含む受診者 39 名 (男 19 名、女 20 名、平均年令 40.6 ± 18.4 才) を対照として両群を比較した。患者群はすべて 16 才以上の成人であるが、対照群には 11 才以下の小児 5 例が含まれている。

内科的診察, 検尿, 血沈, 血液検査, 血液化学検査のほかに, HBs 抗原と抗体, HBc 抗体,  $\alpha$ -フェトブロテイン(AFP), carcinoembionic antigen(CEA), フェリチンなどを測定した. これら B 型肝炎ウイルス (HBV) および各腫瘍マーカーはいずれも日本医学研究所 (JML)-九州において RIA 法によつて測定された.

2. 1984年度は, 特殊検査のなかから血液フェリチンは除いたが, 腹部超音波診断を併用した. 超音波診断装置は, 東芝製 SAL22A あるいは 35A を使用した. 1984 年度の対象は油症患者に限定し, しかも 16 才以上の成人 124 名 (男 50 名, 女 74 名, 平均年齢  $49.6 \pm 15$  才) とした.

#### 成 績

1. 1983 年度の HBV マーカー および腫瘍マーカーの出現頻度を表 1 に示す. 油症群は例数が対照群に比べて約 2 倍であるが, HBs 抗原陽性率はいずれも 2.5% で両群に差はみられない. AFP や CEA が正常上限を超えるものは両群とも皆無であつた. 血清フェリチンが正常上限を超えたものは, それぞれ 10~12% 内外にみられるが, 患者群と対照群との間に差はみられなかつた.

2. 1984 年度の成績は, すべて成人油症患者のみで, 男 50 名と女 74 名の平均年齢はそれぞれ 47.5 才と 49.7 才で, 両者はほぼ同様の年齢構成である. HBV マーカーは表 2 のとおりで, HBs 抗原陽性は 1 例のみで, 判定保留を加えても 125 名中 2 名 (1.6%) であつた. HBs 抗体は男 52%, 女 25% にみられ, HBc 抗体は男 54%, 女 31% にみられた. HBs 抗体, HBc 抗体ともその陽性者は男性に多かつた. HBV の既感染者は男 29/50 (58%), 女 26/75 (35%), 両者を合わせると 55/125 (44%) にみられることになる.

腫瘍マーカーのうち, AFP が 20 ng/ml を超えたものは 1 例 (27 才, 女性) のみで, 161 ng/ml であつた. この例は非 B 型で, 黄疸はないが ALP 40.2 u (正常 2.8-10.5), LAP 1250 u (正常 100-210), コレステロール 333 mg/dl, TG 234 mg/dl であり, 超音波検査では肝右葉の萎縮がみられたが, 腫瘍は認められなかつた.

CEA で 5.0  $\mu$ g/ml 以上のものは 5.6  $\mu$ g/ml の 1 例 (72 才, 男性) のみで, HBs 抗原は (±), 超音波検査でも異常はなかつた. 2.5  $\mu$ g 以上 5.0  $\mu$ g/ml の疑陽性は男 8 例 (16%), 女 5 例 (7%) にみられ, 13 例中 9 例 (69%) は喫煙者であつた. これら 13 例

Table 1. HBV and Tumor Markers in Yusho Patients (1983)

|                   | Yusho      | Control    |
|-------------------|------------|------------|
| No. of Pts        | 79         | 39         |
| (M : F)           | 32 : 47    | 19 : 20    |
| Age (Mean)        | 51.2       | 40.6       |
| HBsAg +ive        | 2 (2.5%)   | 1 (2.5%)   |
| Anti-HBs +ive     | 23 (29.1%) | 14 (35.9%) |
| Anti-HBc +ive     | 30 (37.9%) | 13 (33.3%) |
| AFP 20 ng/ml <    | 0          | 0          |
| CEA 5 ng/ml <     | 0          | 0          |
| Ferritin          |            |            |
| Male 140 ng/ml <  | 4 (12.5%)  | 2 (10.5%)  |
| Female 85 ng/ml < | 6 (12.7%)  | 2 (10.0%)  |

Table 2. HBV and Tumor Markers in 125 Patients with Yusho (1984)

| HBsAg:    | +        | ±  | —   | (Total) |
|-----------|----------|----|-----|---------|
| M         | 0        | 1  | 49  | 50      |
| F         | 1        | 0  | 74  | 75      |
| (Total)   | 1        | 1  | 123 | 125     |
| Anti-HBs: | +        | ±  | —   |         |
| M         | 26 (52%) | 1  | 23  | 50      |
| F         | 19 (25%) | 8  | 48  | 75      |
| (Total)   | 45 (36%) | 9  | 71  | 125     |
| Anti-HBc: | +        | ±  | —   |         |
| M         | 27 (54%) | 3  | 20  | 50      |
| F         | 23 (31%) | 5  | 47  | 75      |
| (Total)   | 50 (40%) | 8  | 67  | 125     |
| AFP:      | +        | ±  | —   |         |
| M         | 0        | 0  | 50  | 50      |
| F         | 1        | 0  | 74  | 75      |
| (Total)   | 1        | 0  | 124 | 125     |
| CEA:      | +        | ±  | —   |         |
| M         | 1        | 8  | 41  | 50      |
| F         | 0        | 5  | 70  | 75      |
| (Total)   | 1        | 13 | 111 | 125     |

中に胆嚢結石, 総胆管結石, 胆管拡張などが各 1 例ずつみられ, 肝腫大 (軽度) が 2 例にみられた点は注目されるが, 超音波診断では肝の腫瘍性病変は 1 例も見られなかつた.

超音波診断 (124 例) の成績を表 3 A, B, C に示した. まず肝の病変については肝嚢胞が 4 例にみられ, 脂肪肝が男女 5 例ずつ計 10 例にみられている. 通常

**Table 3. Ultrasonic Examination in 124 Patients with Yusho (1984)**

| Diagnosis                      | Male | Female | Total |
|--------------------------------|------|--------|-------|
| <b>A. Hepatology:</b>          |      |        |       |
| Liver cyst                     | 0    | 4      | 4     |
| Fatty liver <sup>a)</sup>      | 5    | 5      | 10    |
| Deformity <sup>b)</sup>        | 6    | 10     | 16    |
| Splenomegaly,                  |      |        |       |
| Chronic liver disease          | 1    | 2      | 3     |
| Cirrhosis, suspected           | 0    | 1      | 1     |
| Normal study                   | 37   | 52     | 89    |
| (Total)                        | 50   | 74     | 124   |
| <b>B. Biliary system:</b>      |      |        |       |
| Gallstone                      | 4    | 4      | 8     |
| Polyp of gall-bladder          | 1    | 1      | 2     |
| Common bile duct stone         | 0    | 1      | 1     |
| Dilatation of common bile duct | 1    | 1      | 2     |
| Normal study                   | 44   | 67     | 111   |
| (Total)                        | 50   | 74     | 124   |
| <b>C. Kidneys:</b>             |      |        |       |
| Cyst                           | 2    | 1      | 3     |
| Hydronephrosis                 | 0    | 1      | 1     |
| Normal study                   | 48   | 72     | 120   |
| (Total)                        | 50   | 74     | 124   |

a) may include mild (in about 10%) fatty infiltration.

b) means change in diameter ratio of right and left lobes.

脂肪肝の診断基準では肝組織内脂肪浸潤細胞が30%以上のものを指すが、超音波診断では10%以上の脂肪浸潤があればいわゆる bright liver として拾い上げる可能性がある。この中には軽い脂肪浸潤例が含まれている可能性もある。

肝の形態異常という所見は、右葉、左葉の肝径の比の変化が見られるもの、右葉肥大のあるものなどを含めている。このうち、他の検査所見を参考にして慢性肝障害(疑)3例、肝硬変1例が診断されたが、肝癌の疑われたものは皆無であった。

胆道系では胆嚢内胆石8例(6.5%)、総胆管結石ならびに総胆管拡張などが3例にみられている。腎の病変では腎嚢胞が3例にみられた。

## 考 察

PCB のもつ発癌性については、動物実験では発癌性ありという成績が多い<sup>8)9)</sup>。1979年、中部台湾に集団

発生した PCB 中毒のうち、死亡したものの真相については充分解明されていないようであるが、早期に肝癌で死亡したものが多くといわれる<sup>9)</sup>。発症以来17年にわたりわれわれが観察してきたPCB中毒(油症)と肝細胞癌との関係を明らかにすることには、重大な意義があるといわねばならない。

わが国は、先進国のなかでは群を抜いて肝細胞癌の頻度の高いことで有名である。肝細胞癌の発生母地として、肝炎ウイルスなかでもB型肝炎ウイルス(HBV)に超因する慢性肝炎や肝硬変との関連が重視されている<sup>10)</sup>。今回は、HBV 関連マーカー、腫瘍マーカーおよび腹部超音波断層診断によって、油症患者中の早期肝癌の実態を明らかにしようとした。

HBV 関連マーカーでは、HBs 抗原陽性者については、1983年は油症患者中の陽性率は2/79(2.5%)であり、1984年度は2/125(1.6%)で、一般人口との差はみられなかった。

AFP は原発性肝癌の70%以上に上昇がみられ、ヘパトマの重要な生化学的腫瘍マーカーである<sup>10)</sup>。20 ng/ml を正常上界とすると、83年度は陽性者は皆無であり、84年度には1例の27才女性に161 ng/ml のものがみられた。AFP は、慢性肝炎、肝硬変などでも400~500 ng/ml まで上昇することも往々にしてみられ、この程度の値の特異性は高くはないが、本症例では胆道系酵素の上昇もみられ、超音波診断で腫瘍は認められてはいないが、ひきつづき経過を観る必要があると思われる。

血清フェリチン値は<sup>11)</sup>、体内の貯蔵鉄を反映して増減するが、これとは関係なく白血病、肝細胞癌、肺癌などで増加するので、腫瘍マーカーのひとつとなっている。しかし変動し易く、腫瘍マーカーとしての臓器特異性や感度が低いために AFP との同時測定がすすめられている。1983年度の成績では油症群、その他の群ともに10%内外に弱陽性群がみられ、両群間に差は認められなかった。

CEA は従来消化器癌に特異性が高いとされ、一般的には5 ng/ml が正常上界とされている。5 ng/ml を越えるものは1983年度は1例もなかったが、1984年度は5.6 ng/ml を示す72才の女性が1例みられた。しかしこの例には他に異常所見は認められなかった。CEA は喫煙者で高値を示す傾向があり、2.5 ng/ml を越えた13例中9例が喫煙者であった。このうち肝胆道疾患は、胆嚢結石1例、総胆管結石1例、総胆管拡張1例、軽度肝腫大2例が含まれていたが、超音波検査で肝腫瘍が認められたものは皆無であった。

肝細胞癌は、慢性肝炎や肝硬変などのいわゆる high risk group から有意に高率に発生することが知られている。小細胞癌とくに 3 cm 未満の小肝癌では AFP が上昇する例が少ないため、このような小さな局在病変の発見に威力を発揮する超音波診断法が、とくに重視されるようになってきた<sup>10)</sup>。

画像診断法として血管造影や CT など肝細胞癌の診断には有用であるが、頻回にくり返すことは事実上不可能である。したがって小肝細胞癌の拾い上げ診断の主導的役割は、超音波診断法ということができよう。今回の検査では、表 4 に示したような、各種の肝胆道疾患が見出されたが、肝細胞癌が発見されなかったのは好ましい結果といえよう。

なお、今回の対象は油症患者の中では限られた一部であるので、この一斉検診受診者の成績から油症と肝癌発生との関係を結論することは困難である。今後多くの油症患者についての追跡調査が必要であろう。

#### 総 括

1983 年あるいは 1984 年度の福岡県の油症一斉検診を受診した患者について、内科的診察、一般臨床検査のほか特殊検査として行った腫瘍マーカーに重要をおいて検討した。84 年度はさらに腹部超音波診断を加えて、油症患者における肝細胞癌の実態の把握と早期発見を試み、次のような結果が得られた。

1. 1983 年度油症検診対象者 (79 名) のなかには、AFP や CEA の明らかな陽性者はみられなかった。ただし、血清フェチリンの軽度上昇するものが対象群と同程度にみられた。
2. 1984 年度の 125 名では、AFP あるいは CEA が軽度上昇したものが 1 例ずつみられたが、いずれも超音波診断で肝細胞癌はみられなかった。
3. 125 例中慢性肝障害疑 3 例と肝硬変 1 例などがみられたので、今後とも超音波診断を含めた定期的観

察が必要と考えられる。

#### 文 献

- 1) 平山千里, 入佐俊武, 山元寅男: 油症患者肝臓の形態学的所見. 福岡医誌 60: 455-461, 1969.
- 2) 平山千里, 中村正憲, 吉成意之: 油症患者とオーストラリア抗原. 福岡医誌 63: 405-407, 1972.
- 3) Hsu, S. T., Ma, C. I., et al.: Discovery and epidemiology of PCB poisoning in Taiwan. Seminar on toxicity of chlorinated biphenyls, dibenzofurans, dibenzodioxins, and related compounds. The Japan-United States Cooperative Science Program. April 25-28, Fukuoka, Japan, 1983.
- 4) 平山 雄: 肝臓の疫学. 肝胆膵 5: 897-904, 1982.
- 5) 市田 文弘, 本間 明, 曾我 憲二: 肝癌診断法の進歩—— $\alpha$ -fetoprotein, HB 抗原——. 肝胆膵 1023-1028, 1982.
- 6) 河合 忠: 免疫血清検査. 日本医師会臨床検査指針. 改訂 4 版. pp. 484-503, 東京, 金原出版 1982.
- 7) Kikuchi, M.: Autopsy of patients with Yusho. Amer. J. Ind. Med. 5: 19-30, 1984.
- 8) Kimbrough, R. D., Squire, R. A. et al.: Induction of liver tumor in sherman strain female rats by polychlorinated biphenyl aroclor 1260. J. Natl. Cancer Inst. 55: 1453-1459, 1975.
- 9) Kimura, H. Baba, T.: Neoplastic changes in the rat liver induced by polychlorinated biphenyl. Gann 64: 105-108, 1973.
- 10) 幕内雅敏, 長谷川 博, 山崎 晋: 肝癌診断法の進歩——超音波診断法——. 肝胆膵 5: 1043-1049, 1982.
- 11) 中野 哲, 熊田 卓: 肝癌診断法の進歩——血清 ferritin の価値——. 肝胆膵 1029-1034, 1982.
- 12) Okumura, M.: Past and current medical states of Yusho patients. Amer. J. Ind. Med. 5: 13-18, 1984.
- 13) 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.

## 油 症 患 者 の 甲 状 腺 機 能

九州大学医学部第二内科教室

村井宏一郎・辻 博・梶原 英二

赤木 公博・藤島 正敏

### Thyroid Function in Patients with PCB Poisoning

Koichiro MURAI, Hiroshi TSUJI, Eiji KAJIWARA,  
Kimihiro AKAGI, and Masatoshi FUJISHIMA

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

Thyroid functions were examined in 124 patients with PCB poisoning of age 16 years or older.  $T_3$  and  $T_4$  levels of patients were significantly higher than those of controls ( $p > 0.05$ ). In contrast, TSH level of patients was lower than that of controls, but its difference was not significant. Serum PCB concentrations were not correlated to levels of  $T_3$ ,  $T_4$  or TSH. The frequencies of positive thyroid antibodies did not differ between patients and controls.

The mechanism of hyperthyroxinemia observed in patients with PCB poisoning is not known, and further investigations to elucidate this problem will be needed.

### 緒 言

昭和43年の油症発生以来16年を経過し、種々の亜急性中毒症状は軽快してきている。しかし油症患者の血中 polychlorinated biphenyls (PCB) 濃度は低下してきているものの、その組成にはいまだに特徴的なパターンがみられる。また強力な毒性をもつ polychlorinated dibenzofurans (PCDF) の体内残留が確認され問題となつて<sup>8)</sup>。一方動物実験で PCB が甲状腺機能を低下させ、甲状腺腫を惹起することが知られている<sup>9)</sup>。今回油症患者において初めて甲状腺機能を測定し新知見を得たので報告する。

### 対象ならびに方法

昭和59年度福岡県油症一斉検診の受診者176名のうち、16才以上の167名を対象者とした。このうち124名が認定患者で、福岡県の昭和59年12月現在の油症患者754名の16.4%に当る。対照群は認定患者以外の油症検診受診者43名とした。患者群は男性50名、女性74名で、平均年齢は49.5才であつた。対照群は男性20名、女性23名で平均年齢は47.7才であつた (Table 1)。

検診では前頸部の視診と触診により甲状腺腫の有無を見た。採血は午前中の空腹時に行い、血清分離後 $-20^{\circ}\text{C}$ に保存し後日測定に使用した。血清 Thyroid stimulating hormone (TSH) は高感度 RIA 法 (トラベノール社、東京) により、Triiodothyronine ( $T_3$ ) と Thyroxine ( $T_4$ ) は固相法 RIA 法 (トラベノール社、Gamma Coat  $T_3$ ,  $T_4$  RIA キット) により測定した。血中抗甲状腺抗体の検出にはサイロイドテスト、マイクロゾームテスト (富士臓器、東京) を使用した。TSH の正常値は  $0.84-4.12 \mu\text{IU/ml}$  であるが、TSH が正常下限以下の場合にはさらに free  $T_4$  (アマシャム社、アマレックスフリー  $T_4$  キット) を測定した。

### 結 果

#### 1. 血中 PCB 濃度

Table 1 に示すごとく血中 PCB 濃度は患者群の方が対照群に比べ有意に高かつた ( $p < 0.001$ )。

#### 2. 甲状腺腫

甲状腺腫は患者群の女性の11名に対し、対照群では1名に触知された (Table 2)。油症患者女性での甲状腺の触知率は高かつたが両群間には有意差なく、

Table 1. Thyroid function tests in patients with YUSHO

| Sex     | No  | Age             | PCBconc ppb                     | TSH $\mu$ IU/ml | T <sub>3</sub> ng/ml              | T <sub>4</sub> $\mu$ g/dl    |
|---------|-----|-----------------|---------------------------------|-----------------|-----------------------------------|------------------------------|
| YUSHO   |     |                 |                                 |                 |                                   |                              |
| Male    | 50  | 48.4 $\pm$ 16.3 | 4.2 $\pm$ 2.7(46)               | 1.58(0.90-2.76) | 1.57(1.25-1.98)(49)               | 8.47 $\pm$ 2.37              |
| Female  | 74  | 50.3 $\pm$ 14.0 | 4.2 $\pm$ 2.5(71)               | 1.91(1.05-3.45) | 1.63(1.26-2.11)(73) <sup>b</sup>  | 9.16 $\pm$ 2.79 <sup>d</sup> |
| Total   | 124 | 49.5 $\pm$ 15.0 | 4.2 $\pm$ 2.6(117) <sup>a</sup> | 1.77(0.98-3.18) | 1.60(1.25-2.05)(122) <sup>c</sup> | 8.88 $\pm$ 2.64 <sup>e</sup> |
| Control |     |                 |                                 |                 |                                   |                              |
| Male    | 20  | 45.7 $\pm$ 12.7 | 2.8 $\pm$ 1.2                   | 1.68(1.17-2.41) | 1.49(1.21-1.85)                   | 7.81 $\pm$ 2.38              |
| Female  | 23  | 49.4 $\pm$ 16.8 | 2.3 $\pm$ 1.2                   | 2.37(1.38-4.05) | 1.45(1.23-1.72) <sup>b</sup>      | 6.73 $\pm$ 1.98 <sup>d</sup> |
| Total   | 43  | 47.7 $\pm$ 15.0 | 2.6 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>      | 2.02(1.24-3.29) | 1.47(1.22-1.78) <sup>c</sup>      | 7.23 $\pm$ 2.22 <sup>e</sup> |
| Normal  |     |                 |                                 |                 |                                   |                              |
| Range   |     |                 |                                 | 0.84-4.12       | 0.80-2.00                         | 4.5-12.3                     |

b, c:  $p < 0.05$ , a, d, e:  $p < 0.001$ , Ranges in parenthesis of TSH and T<sub>3</sub> show (mean-SD) and (mean+SD).

Table 2. Frequency of goiter in patients with YUSHO

| No         | YUSHO      |              |              | Control    |              |             |
|------------|------------|--------------|--------------|------------|--------------|-------------|
|            | Male<br>48 | Female<br>73 | Total<br>121 | Male<br>17 | Female<br>23 | Total<br>40 |
| Goiter (+) | 0*         | 11*(15.1)    | 11(9.1)      | 0          | 1(4.3)       | 1(2.5)      |

\*:  $p < 0.05$ . Numbers in parentheses show %.

甲状腺腫を全く認めなかった油症患者男性との間に有意差がみられた ( $p < 0.05$ ).

### 3. 甲状腺機能検査

Table 1 に示した. TSH は対数変換後に平均値と標準偏差を求めた. 性別に患者群と対照群を比較すると患者群に TSH が低い傾向がみられたが有意ではなかった. 両群を全体で比較しても同様だった.

T<sub>3</sub> も対数正規分布するため対数変換後に平均値と標準偏差を求め比較した. 性別に群間比較をすると男性では患者群に高い傾向があつたが有意ではなく, 女性では患者群が有意に高値だった ( $p < 0.05$ ). 全体での比較でも患者群の方が高値であつた ( $p < 0.05$ ).

T<sub>4</sub> も T<sub>3</sub> と同様に女性で患者群の方が高く ( $p < 0.001$ ), また全体での比較でも患者群が有意に高値であつた ( $p < 0.001$ ).

TSH の正常下限以下の低下例は患者群で 11 名 (男性 6 名, 女性 5 名) に, 対照群では男性 1 名の計 12 名に観察された. このうち Free T<sub>4</sub> の上昇がみられたものは患者群の 6 名 (男性 3 名, 女性 3 名) だった.

### 4. 甲状腺機能異常者

甲状腺機能亢進症は TSH が低下し, T<sub>3</sub> または T<sub>4</sub> のいずれかの上昇があり, Free T<sub>4</sub> の上昇したも

のとし, 甲状腺機能低下症は TSH が上昇しているものとした. 後者のうち T<sub>3</sub> と T<sub>4</sub> の両者とも正常のものを潜在例とし, いずれかの低下のみられるものを確実例とした. Table 3 に甲状腺機能異常者の各検査結果を示した. 甲状腺機能亢進症は患者群では男性 50 名中 1 名 (2%), 女性 74 名中 3 名 (4.1%) の計 4 名 (3.2%) にみられた. 一方対照群には 1 名も認められなかった. 症例 3 の 42 才女性に発汗過多の症状がみられたが他の 3 例には明らかな甲状腺機能亢進症状はみられなかった. また, 症例 4 は娘が Graves 病患者であつた. 甲状腺機能低下症は油症患者群の 6 名 (男性 1 名, 女性 5 名) に, 対照群の女性 2 名にみられた. 症例 8 は 56 才の女性で, 昭和 48 年発症の橋本病患者であり現在 levothyroxine を 150  $\mu$ g/日服用中である. 甲状腺機能亢進症は患者群のみにみられたが対照群との間に出現率の差は統計上認めなかった. また甲状腺機能低下症の出現率も両群間に差を認めなかった.

### 5. 抗甲状腺抗体出現率

Table 4 に示したように, 油症患者全体のサイロイドテストとマイクロゾームテストの陽性率は各々 10.5%, 12.1% で, 対照群は各々 4.7%, 14.0% で両群間に有意差を認めなかった. 患者群・対照群とも

Table 3. Cases with abnormal thyroid functions

| No    | Case | Age   | Sex | Thyroid<br>function | TSH<br>μIU/ml | T <sub>3</sub><br>ng/ml | T <sub>4</sub><br>ng/ml | F-T <sub>4</sub> *<br>ng/dl | Goiter | MS<br>×100 | TH<br>×100 | ALP*<br>U | Chol*<br>mg/dl | PCB<br>ppb | PCB<br>pattern | Notice   |                            |
|-------|------|-------|-----|---------------------|---------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------|------------|------------|-----------|----------------|------------|----------------|----------|----------------------------|
| YUSHO | 1    | Y. M. | 53  | M                   | Hyperthyroid  | 0.57                    | 2.32                    | 14.3                        | 1.98   | (-)        | 0          | 5.3       | 231            | 8          | A              |          |                            |
|       | 2    | H. I. | 36  | F                   | Hyperthyroid  | 0.27                    | 3.42                    | 13.7                        | 3.07   | (+)        | 1          | 5.5       | 134            | 2          | C              |          |                            |
|       | 3    | T. Y. | 42  | F                   | Hyperthyroid  | 0.76                    | 2.86                    | 11.3                        | 4.00   | (+)        | 0          | 4.0       | 131            | 3          | A              | sweating |                            |
|       | 4    | A. O. | 52  | F                   | Hyperthyroid  | 0.43                    | 3.73                    | 14.6                        | 3.34   | (+)        | 256        | 0         | 9.4            | 165        | 1              | C        | Graves in<br>daughter      |
|       | 5    | U. T. | 85  | M                   | Hypo. latent  | 4.22                    | 1.10                    | 11.7                        |        | (-)        | 0          | 7.5       | 200            | 3          | A              |          |                            |
|       | 6    | M. M. | 30  | F                   | Hypo. latent  | 5.35                    | 1.47                    | 11.5                        |        | (-)        | 0          | 3.8       | 182            | 3          | C              |          |                            |
|       | 7    | T. M. | 49  | F                   | Hypo. latent  | 14.20                   | 1.85                    | 9.9                         |        | (-)        | 4096       | 64        | 4.5            | 198        | 1              | C        |                            |
|       | 8    | C. M. | 56  | F                   | Hypo. overt   | 6.58                    | 1.05                    | 2.6                         |        | (+)        | 4096       | 4096      | 4.0            | 289        | 9              | A        | T <sub>3</sub> replacement |
|       | 9    | F. O. | 63  | F                   | Hypo. latent  | 6.85                    | 1.80                    | 8.4                         |        | (-)        | 256        | 0         | 8.0            | 194        | 4              | A        |                            |
|       | 10   | A. T. | 68  | F                   | Hypo. latent  | 4.78                    | 1.82                    | 8.7                         |        | (+)        | 0          | 0         | 4.0            | 179        | 4              | A        |                            |
|       | 1    | T. Y. | 25  | F                   | Hypo. overt   | 18.30                   | 1.14                    | 3.3                         |        | (+)        | 64         | 0         | 3.0            | 170        | 2              | C        |                            |
|       | 2    | T. B. | 57  | F                   | Hypo. latent  | 4.64                    | 1.38                    | 9.7                         |        | (-)        | 0          | 0         | 8.1            | 218        | 3              | C        |                            |

\*: Normal Range: F-T<sub>4</sub> (0.68-1.80  $\mu$ g/dl), ALP (2.8-10.5 KA unit)  
Cholesterol (99-243 mg/dl).

Table 4. Frequency of serum thyroid antibodies in patients with YUSHO

| No                     | YUSHO      |              |              | Control    |              |             |
|------------------------|------------|--------------|--------------|------------|--------------|-------------|
|                        | Male<br>50 | Female<br>74 | Total<br>124 | Male<br>20 | Female<br>23 | Total<br>43 |
| Thyroid test (+) (TH)  | 3( 6.0)    | 10(13.5)     | 13(10.5)     | 0          | 2( 8.7)      | 2( 4.7)     |
| Microsome test (+)(MS) | 3( 6.0)    | 12(16.2)     | 15(12.1)     | 1( 5.0)    | 5(21.7)      | 6(14.0)     |
| TH(+) and MS (+)       | 2( 4.0)    | 4( 5.4)      | 6( 4.8)      | 0          | 2( 8.7)      | 2( 4.7)     |
| TH(+) or MS (+)        | 4( 8.0)    | 18(24.3)     | 22(17.7)     | 1( 5.0)    | 5(21.7)      | 6(14.0)     |

Numbers in parentheses show %.

女性の方が抗体出現率が高かった。

#### 6. 血中 PCB 濃度と TSH, $T_3$ , $T_4$ との相関

全対象者について血中 PCB 濃度と TSH,  $T_3$ ,  $T_4$  との相関をみた。TSH との相関は  $r = -0.080$  ( $N=160$ ),  $T_3$  とは  $r = -0.111$  ( $N=158$ ),  $T_4$  とは  $r = 0.002$  ( $N=160$ ) で、各々全く PCB 濃度との相関はみられなかった。

#### 考 察

動物実験では PCB が甲状腺機能に影響することが知られている<sup>9)</sup>。Bastomsky らはラットを使用し、PCB の短期間投与の甲状腺機能に与える影響を調べた。Aroclor 1254 をラットに経口的に4日間投与すると、胆汁中の  $T_4$  排泄が増加し、その主体はグルクロン酸抱合を受けた  $T_4$  であった<sup>2)</sup>。これは PCB 投与で  $T_4$ -UDP glucuronyltransferase が誘導されたため、この現象は PCB の経皮的投与でも認められた<sup>4)</sup>。一方血中  $T_4$  と Free  $T_4$  index は低下し、 $T_3$  は正常に保たれ、Free  $T_3$  index はむしろ上昇していた。甲状腺摘出ラットに PCB を投与すると血中  $T_4$  と Free  $T_4$  index は著明に低下し、 $T_3$  と Free  $T_3$  index は中等度の低下がみられたことから、PCB は末梢での  $T_4$  から  $T_3$  への conversion を直接増強する作用もあることが推定された<sup>5)</sup>。さらに摂取ヨード量を変えて PCB を15日間経口投与するとヨード摂取の量にかかわらず甲状腺重量は増加し、とくに低ヨード摂取群では著しかった。血中 TSH も上昇し、甲状腺の  $^{131}\text{I}$  摂取率は高ヨード摂取群で増加がみられたが低ヨード摂取群では、もともと  $^{131}\text{I}$  摂取率が高まっており PCB 投与による増加はみられなかった<sup>3)</sup>。このようにラットの PCB 急性中毒実験では明らかに甲状腺機能の異常がみられるが、 $T_3$  値は正常ないし正常近くに保たれており、代謝への影響をみるために測定された肝ミトコンドリアの L- $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase 活性は不変

であった<sup>5)</sup>。

比較的長期間(4週から12週) PCB をラットに投与した Collins ら<sup>6)</sup> の報告によると、甲状腺ろ胞細胞は腫大や過形成をおこし甲状腺ろ胞は小さくなる。またろ胞細胞内にリソゾーム顆粒やコロイド滴が増加し、ろ胞に面した細胞表面の microvilli の異常、ミトコンドリアの空胞化などの電顕的变化が生じ、これらの変化の強さは PCB (Aroclor 1254) の投与期間と量に依存していた。しかしこれらの変化は可逆性で PCB 投与を中止すると軽快し、中止後は35週でコントロールと差はなくなった。同時に測定された血中  $T_4$  は PCB 投与中には低下したが、中止後は徐々に回復し35週目には正常化していた。

ラット以外にもある種の魚では PCB により甲状腺腫や甲状腺機能の低下、さらに甲状腺癌が起こることが知られており<sup>1)</sup>、PCB が甲状腺に何らかの作用を持つことは間違いないようである。

そこで油症の急性期内科的所見の報告を見直してみると甲状腺腫や甲状腺機能亢進または低下症状についての記載は見当たらない。奥村ら<sup>10)</sup> はアルカリ性フォスファターゼの軽度上昇を成人例で認めたが、そのアイソザイム分析からは肝性分画が主体であり甲状腺疾患とは無関係であった。渡辺ら<sup>12)</sup> によると、2名の男性患者の甲状腺機能を調べたところ1名に BMR が上昇していた以外、他の甲状腺機能は正常だった。Lü<sup>7)</sup> らの台湾での油症の報告にも甲状腺関係の異常所見を見い出せなかった。

比較的多数例の油症患者で甲状腺機能が測定されたのは今回が初めてである。その結果は予期に反し血中  $T_3$ ,  $T_4$  は対照群に比べ油症群では有意に高く、また有意差はなかったが HST は低い傾向がみられた。一方個々の症例の検討から油症群では124例中4例(男性1例、女性3例)3.2%に甲状腺機能亢進症がみられ、対照群43例中には1例もみられなかった。両群の間に甲状腺機能亢進症の頻度には統計的有意差はな

かつたが、これは対照群の例数が少なかったことが理由として考えられる。地域住民の甲状腺疾患の頻度に関して野津ら<sup>9)</sup>は島根県邑智郡大和村で全村の80%に当る1,242名(平均年齢54.7才)に甲状腺検診を行ない8名(男性2名,女性6名)0.6%に甲状腺機能亢進症を見出した。Tunbridgeら<sup>11)</sup>のイギリスのWhickham住民の甲状腺検診の報告では全地域の18才以上の住民の82.4%に当る2,779名(平均年齢47.1才)中に7名(0.25%)の女性の甲状腺機能亢進症がみられた。彼らは地域住民の診療記録を逆上つて調査し、甲状腺疾患をさらに掘り出し、その地域の甲状腺機能亢進症のpervallenceを1.1-1.6%と算出した。油症患者群に占める甲状腺機能亢進症の割合の3.2%という数字はこれらの地域住民の出現頻度に比べて高い印象を受ける。ただ報告者によつて甲状腺機能亢進症の診断規準が同一ではないので統計処理はしなかつた。油症患者群でみられた4例の甲状腺機能亢進症のうち明らかに機能亢進症状を認めたのは発汗過多を訴えた1例のみで、他の3例は無症状であつた。今日まで甲状腺疾患への関心が払われなかつた理由の一つは、油症ではsubclinicalな甲状腺機能異常にとどまつていることによるのかも知れない。

動物実験でみられたPCB投与による甲状腺機能の変化は機能低下症であり、油症患者では高甲状腺ホルモン血症の状態と動物実験の結果とは異なつてゐる。この相異の原因はいろいろ考えられる。動物実験の、とくにラットから得られた結果は急性期の甲状腺機能状態であり、油症患者のそれは発症後16年を経過した時点での成績であり両者の観察時点が異なつてゐることがまず挙げられる。さらに重要な点は原因物質の相異である。油症患者の中毒物質には単にPCBだけでなく、PCB(KC-400)がライスオイル製造の脱臭工程で熱媒体として使用される間に加熱によつて生じたPCDF, polychlorinated quaterphenyls(PCQ)が存在している<sup>8)</sup>。PCDFやPCQが甲状腺に与える影響は現在のところ不明である。今回の一斉検診受診者全体でみると血中PCB濃度と $T_3$ ,  $T_4$ , TSHの間に有意の相関がなかつたことはPCDFやPCQの影響も考えなければならない一つの根拠となると思われる。

抗甲状腺抗体の出現頻度はサイロイドテストもマイクロゾームテストも油症患者群に多いという結果は得られなかつた。このことは油症にみられる高甲状腺ホルモン血症の発現に自己免疫機序が関与している可能性が低いことを示唆している。

## 結 語

昭和59年度福岡県油症一斉検診の受診者中16才以上の167名の甲状腺機能を測定し、患者群124名とそれ以外の受診者43名を対照群とし2群間で比較検討し以下の成績を得た。

1)  $T_3$  と  $T_4$  は患者群で有意( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )に上昇していた。TSHは患者群で低かつたが有意差はなかつた。

2) 甲状腺腫は患者群の9.1%, 対照群の2.5%に触知された。

3) 甲状腺機能亢進症は患者群で4名(男性1名, 女性3名)にみられたが対照群にはいながつた。このうち女性1名に発汗過多がみられ、他の3名は無症状であつた。一方甲状腺機能低下症は患者群に6名(男性1名, 女性5名), 対照群に2名(女性)みられた。明らかな機能低下例は患者群と対照群の各女性1名にみられた。甲状腺機能亢進症と低下症の出現率は両群間に差はみられなかつた。

4) サイロイドテストは患者群の10.5%, 対照群の4.7%に陽性を示した。マイクロゾームテストは患者群の12.1%, 対照群の14.0%に陽性者がみられた。いずれも両群間に差はなかつた。

5) 血中PCB濃度と $T_3$ ,  $T_4$ , TSHの間に相関関係は認められなかつた。

本研究の甲状腺関係のデータ解釈、考察について当教室の岡村建講師より貴重なご助言を戴きました。心より感謝いたします。

## 文 献

- 1) Barsano, C. P.: Environmental factors altering thyroid function and their assessment. *Environmental Health Perspectives* 38: 71-82, 1981.
- 2) Bastomsky, C. H.: Effects of a polychlorinated biphenyl mixture (Aroclor 1254) and DDT on biliary thyroxine excretion in rats. *Endocrinology* 95: 1150-1155, 1974.
- 3) Bastomsky, C. H.: Goiters in rats fed polychlorinated biphenyls. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 55: 288-292, 1977.
- 4) Bastomsky, C. H. and Murphy, P. V. N.: Enhanced in vitro hepatic glucuronidation of thyroxine in rats following cutaneous application or ingestion of polychlorinated biphenyls. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 54: 23-26, 1976.
- 5) Bastomsky, C. H., Murphy, P. V. N.

and Banovac, K.: Alterations in thyroxine metabolism produced by cutaneous application of microscope immersion oil: Effects due to polychlorinated biphenyls. *Endocrinology* 98: 1309-1314, 1976.

6) Collins, Jr. W. T., Capen, C. C., Kasza, L., Carter, C. and Dailey, R. E.: Effect of polychlorinated biphenyl (PCB) on the thyroid gland of rats. Ultrastructural and biochemical investigations. *Am. J. Pathol.* 89: 119-136, 1977.

7) Lü, Y. C. and Wong, P. N.: Dermatological, medical, and laboratory findings of patients in Taiwan and their treatments. *Am. J. Ind. Med.* 5: 81-115, 1984.

8) 増田義人, 倉恒匡徳: 油症を起こしたライソオイル中の毒性物質. *福岡医誌* 70: 229-237, 1979.

9) 野津和己, 桜美武彦, 平田正名, 後藤康生, 野手信哉, 野津吉友, 国司博行, 遠藤治郎: 特定集団における抗甲状腺抗体と血清 TSH. *日内分泌会誌* 59: 230-240, 1983.

10) 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.

11) Tunbridge, W. M. G., Evered, D. C., Hall, R., Appleton, D., Brewis, M., Clark, F., Evans, J. G., Young, E., Bird, T. and Smith, P. A.: The spectrum of thyroid disease in a community: The Wickham survey. *Clinical Endocrinology* 7: 481-493, 1977.

12) 渡辺 斌, 入江慎二, 中島敏郎, 勝木司馬之助: 油症の内分泌機能. *福岡医誌* 62: 159-162, 1971.

## 昭和 58~59 年度の年次検診における 油症皮膚症状の推移

福岡大学医学部皮膚科教室（主任：利谷昭治教授）

利 谷 昭 治

九州大学医学部皮膚科教室（主任：占部治邦教授）

旭 正一・本坊昭三・占部治邦

### Dermatological Findings in the General Examination of Yusho in 1983-1984

Shoji TOSHITANI

*Department of Dermatology (Director: Prof. S. Toshitani),  
School of Medicine, Fukuoka University,  
Fukuoka 814-01, Japan*

Masakazu ASAH, Shozo HONBO and Harukuni URABE

*Department of Dermatology (Director: Prof. H. Urabe), Faculty of Medicine,  
Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Dermatological findings in the general follow-up examination of Yusho in 1983-1984 at Fukuoka Prefecture were reported and analyzed statistically.

- 1) In 1983, coming patients with Yusho showed the smallest numbers, seventy-eight, from 1975 to 1984.
- 2) The skin grading indexes had much to do with the skin severity grading in 1983 and 1984.
- 3) Blood PCB pattern A cases showed the values of 2.691 (1983)-2.88 (1984) and they proved to be a smooth improvement.
- 4) Blood PCB pattern were changed irregularly and we could not find out a definite tendency.

#### はじめに

過去 9 回におよぶ油症患者の皮膚症状の経年変化に関する報告でも述べてきたように、昭和 43 年以来すでに 17 年間に経過しているために、皮膚症状はごく一部を除いて一般的傾向として軽快の方向に向っている<sup>1)~9)</sup>。しかし検診を受ける患者層が年度によつてかなりの変動をみることから、軽快傾向に遅速の差がみられるようである。今回も昭和 58 年、59 年度の福岡県油症一斉検診（追跡調査）の成績にまとめたので報告する。

福岡県一斉検診における受診状況

表 1 は各年度における受診数の推移を示したものであるが、昭和 58 年度にやや受診者の減少をみたが、

昭和 59 年度はほぼ一定数に達し男女比はほぼ 2:3 であり、以前の報告に相似する。昭和 58 年度に受診が減少したのは、冬季に多雪であつたことがその理由の一つであつたと思われる。

#### 皮膚重症度の変遷（表 2, 3）

油症患者の皮膚重症度は一般に徐々に軽快傾向にあつたが、昭和 58 年度、59 年度も軽快の徴候がみられた。ただし 59 年度に皮膚重症度のⅢ度が異常に高頻度を示したことは、比較的重症患者が久しぶりに来診したためと、顔面の痤瘡様皮疹が油症と無関係に記載されているおそれもあり、問題のあるところであろう。

つぎに皮膚重症度得点数によつて分類すると、昭和 58 年度、59 年度ともに軽快する傾向を示しており、

表 1. 年次受診者数

| 年 度 |   | 51年 | 52年 | 53年 | 54年 | 55年 | 56年 | 57年 | 58年 | 59年 |
|-----|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 性 別 |   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 男   | 子 | 38  | 46  | 54  | 44  | 41  | 45  | 41  | 32  | 54  |
| 女   | 子 | 58  | 57  | 73  | 66  | 66  | 68  | 60  | 46  | 70  |
| 計   |   | 96  | 103 | 127 | 110 | 107 | 113 | 101 | 78  | 124 |

表 2. 皮膚重症度による分類

| 年 度    |  | 51年 | 52年 | 53年 | 54年 | 55年 | 56年 | 57年 | 58年 | 59年 |
|--------|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 重症度    |  |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 0      |  | 25  | 30  | 42  | 38  | 56  | 39  | 37  | 32  | 46  |
| 0 I    |  | 12  | 10  | 17  | 9   | 15  | 13  | 9   | 12  | 16  |
| I      |  | 15  | 13  | 16  | 12  | 7   | 18  | 13  | 8   | 7   |
| I II   |  | 4   | 7   | 3   | 5   | 1   | 6   | 1   | 1   | 2   |
| II     |  | 10  | 12  | 9   | 15  | 13  | 11  | 15  | 8   | 15  |
| II III |  | 14  | 11  | 15  | 10  | 6   | 4   | 5   | 4   | 2   |
| III    |  | 6   | 14  | 20  | 17  | 7   | 12  | 15  | 6   | 29  |
| III IV |  | 1   | 3   | 0   | 2   | 1   | 3   | 1   | 0   | 2   |
| IV     |  | 3   | 2   | 1   | 2   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   |
| 計      |  | 90  | 102 | 123 | 110 | 107 | 107 | 97  | 72  | 120 |

表 3. 皮膚重症度得点数による分類

| 年 度   |      | 51年  | 52年  | 53年  | 54年  | 55年  | 56年  | 57年  | 58年  | 59年  |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 重症度   |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
| 0     | ・ 1  | 32   | 32   | 43   | 44   | 63   | 52   | 38   | 43   | 63   |
| 2     | ・ 3  | 24   | 35   | 43   | 29   | 25   | 33   | 28   | 21   | 27   |
| 4     | ・ 5  | 20   | 22   | 13   | 15   | 14   | 12   | 20   | 5    | 11   |
| 6     | ・ 7  | 10   | 7    | 14   | 13   | 2    | 7    | 5    | 2    | 10   |
| 8     | ・ 9  | 3    | 5    | 7    | 6    | 2    | 2    | 4    | 0    | 4    |
| 10    | ・ 13 | 1    | 0    | 2    | 1    | 1    | 0    | 1    | 1    | 5    |
| 14    | ～    | 1    | 2    | 1    | 2    | 0    | 1    | 1    | 0    | 0    |
| 計     |      | 91   | 103  | 124  | 110  | 107  | 107  | 97   | 72   | 120  |
| 平 均 点 |      | 3.12 | 3.13 | 3.05 | 3.10 | 1.87 | 2.15 | 2.69 | 1.54 | 2.36 |

0-1の症例が極めて多くなっており、14点以上が全くみられなくなった。

#### 血中 PCB パターンと皮膚重症度得点数

前回の報告と同様に、昭和58・59年度について患者群を PCB パターンで A, B, BC, C 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、昭和51年度および昭和57年度と比較した。表4のごとく、昭和58年度のBおよびBCパターンの症例はみられず、昭和59年度のBCパターンも症例数は少

く、解析の対象とするには問題がある。従って58年度ではAパターンの得点が高いのは勿論であり、Cパターンはかなり低い。59年度では、A, B, Cパターンはいずれもほぼ同等な重症度得点を示した。

#### 血中 PCB パターンと PCB 濃度 (表5)

前回の報告では、昭和51年度と比較して昭和55, 56, 57年度と逐年的に A, B, BC, C いずれのパターンにおいても平均濃度は低下を示していたが、昭和58年度においてA, Bパターンの平均濃度は昭和55年

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  | 1.33  |
| 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 | 97  | 3.03 |

## (E) 昭和58年度

| パターン | 総得点 | 患者数 | 平均点  |
|------|-----|-----|------|
| A    | 70  | 26  | 2.69 |
| B    | 0   | 4   | 0    |
| BC   | 0   | 1   | 0    |
| C    | 25  | 16  | 1.56 |
| 計    | 95  | 47  | 2.02 |

## (F) 昭和59年度

| パターン | 総得点 | 患者数 | 平均点  |
|------|-----|-----|------|
| A    | 170 | 59  | 2.88 |
| B    | 37  | 14  | 2.64 |
| BC   | 3   | 5   | 0.60 |
| C    | 73  | 35  | 2.09 |
| 計    | 283 | 113 | 2.50 |

\* 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。

度のそれと同程度に上昇しているが、BC パターンは 1 例であるので比較しえない。昭和 59 年度の平均濃度は A パターンでも B パターンでも低下傾向をみているに拘らず、BC、C パターンとも上昇しており、いくばくかの変動はみられるようである。

## 考 按

油症患者の皮膚症状は発症初期に急激な改善がみられたが、昭和 50 年代に入ってから改善がみられるがその速度は鈍化した。昭和 55 年度にやや大幅な改善がみられたが、昭和 56・57 年度は皮膚重症度得点数からいうと、むしろ増悪したとさえ思えた。今回の昭和 58・59 年度の一斉検診における成績は、前回の方式を全く踏襲するという形式で行なった。

昭和 58 年度を昭和 51 年度のそれと対比すると、A・C パターンでは著明な皮膚重症度得点の減少がみ

られ改善傾向が覗われ、昭和 57 年度のそれと対比しても、A・C パターンとも改善がみられた。昭和 59 年度のそれは、A・BC パターンで得点平均の減少、すなわち改善がみられるが、B・C パターンでは得点はむしろ上昇しており、軽症患者ではむしろ不変ないし増悪していることになる。

PCB パターンと PCB 濃度の関係をみると、昭和 58 年度は昭和 55 年度のそれと類似し、昭和 59 年度は、A・B パターンでは PCB 濃度が著明に減少している。しかし BC・C パターンは上昇しており、PCB パターンの正常者もしくは正常者に近い C および BC パターンの濃度はむしろプラトーに達したのではないかと考えられる。この点については前回の報告でものべているように、PCB 濃度と皮膚重症度との関係は次第にはつきりしなくなると思われるので、皮膚症状は濃度よりパターン区分を重視すべきであるという結

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  |
| B C  | 10    | 2.20  |
| C    | 23    | 3.57  |
| 計    | 96    | 5.65  |

(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 |
| B C  | 4     | 3.00 |
| C    | 28    | 2.57 |
| 計    | 90    | 5.02 |

(E) 昭和58年度

| パターン | 症 例 数 | 平均濃度 |
|------|-------|------|
| A    | 31    | 7.38 |
| B    | 4     | 5.0  |
| B C  | 1     | 5.0  |
| C    | 18    | 2.83 |
| 計    | 54    | 5.64 |

\* 濃度の単位は ppb

論には変りがない。

### 総 括

昭和 58 年・59 年度の福岡県油症一斉検診の成績から、油症患者の皮膚重症度や血中 PCB パターン・濃度の変動を前回報告の方式に倣って比較した。

1) 昭和 58 年度の受診患者数は昭和 50 年代を通じ最低の 78 名にとどまった。昭和 59 年度は 124 名で昭和 53 年度につぐ多数の患者が受診した。

2) 皮膚重症度得点評価法によると、昭和 58・59 年度ともに極めてよい相関がえられ軽快傾向がみられた。ただし皮膚重症度でみると昭和 59 年度にⅢ度の症例が多数みられた。

3) 血中 PCB パターンでは A が 2.69～2.88 と順調に改善していることが判明した。

4) 血中 PCB パターンと濃度との関連では、変動がみられるため一定の傾向を覗がうことが出来なかつ

(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 |
| B C  | 8     | 2.00 |
| C    | 52    | 3.04 |
| 計    | 112   | 4.66 |

(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 |
| B C  | 1     | 1.00 |
| C    | 24    | 2.67 |
| 計    | 79    | 4.76 |

(F) 昭和59年度

| パターン | 症 例 数 | 平均濃度 |
|------|-------|------|
| A    | 63    | 4.69 |
| B    | 14    | 3.43 |
| B C  | 5     | 4.80 |
| C    | 34    | 3.35 |
| 計    | 116   | 4.15 |

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) 旭 正一, 占部治邦, 利谷昭治: 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. 福岡医誌 74: 276-279, 1983.

5) 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.

6) 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.

7) 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.

8) 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.

9) 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.

## 油 症 患 者 の 眼 症 状 (第 6 報)

### 瞼板腺内容物採取の工夫と PCB 濃度

九州大学医学部眼科学教室 (主任: 猪俣 孟教授)

向 野 利 彦・大 西 克 尚

福岡市衛生試験所

廣 中 博 見

## Ocular Manifestations and Polychlorinated Biphenyls in the Tarsal Gland Contents of Yusho Patients

Toshihiko KOHNO and Yoshitaka OHNISHI

*Department of Ophthalmology (Director: Prof H. Inomata)  
Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan*

Hiromi HIRONAKA

*Fukuoka City Hygienic Laboratory, Fukuoka 810, Japan*

Sixteen years after the onset of "Yusho" (accidental polychlorinated biphenyls poisoning), ocular manifestations of Yusho patients were studied. The ocular manifestations which were extremely prominent at the time of onset has remarkably subsided. The contents in the tarsal glands were taken in 39 out of 122 patients with a new method. Twenty-two samples were analysed for polychlorinated biphenyls (PCB) by gas chromatography. Fifteen had PCB in the tarsal gland contents. PCB concentrations in the tarsal gland contents were much higher than those in blood.

油症 (PCB 中毒症) の発生当初, 眼脂の増加, 眼瞼の腫脹, 視力減弱, 眼痛などの眼に関する訴えを初発症状とした患者が数多く見られた<sup>1)</sup>. また主な眼所見は瞼板腺分泌亢進, 結膜の異常色素沈着であると当初は記載された<sup>2)</sup>. その後サルの実験的 PCB 中毒症および油症患者剖検例の眼瞼を組織学的に検討し, 瞼板腺分泌亢進とされた臨床所見は, 瞼板腺角化嚢胞の形成とその内容物の排出であることが明らかにされた<sup>3)</sup>. また実験的 PCB 中毒サルおよび油症患者の瞼板腺から採取した内容物に PCB が血液中に比べ数十倍の高濃度で存在することも明らかになり, 瞼板腺角化嚢胞の形成に PCB が直接関与している可能性が示された<sup>4)7)</sup>.

油症は発症からすでに16年を経過した. そのため発生当初見られた種々の眼症状は消退している. 瞼板腺の病変も肉眼的には明らかではなくなつてきているが, 一部の患者では依然として眼瞼を圧迫することにより瞼板腺内容物の排出が見られる. 瞼板腺内容物の

PCB を検出することは油症患者の瞼板腺病変の本態を明らかにする手掛かりを与えると共に, 診断上も有用である.

今回, 瞼板腺を圧迫し内容物を排出させる方法に若干の工夫を加え, 採取率の向上を図つた. 本稿では, 現在の油症の眼症状をまとめるとともに, 瞼板腺内容物採取法の工夫と瞼板腺内容物中 PCB の測定結果を報告する.

#### 対象および方法

1984年9月~10月に行なわれた昭和59年度患者一斉検診(追跡調査)において, 眼科検診を受けた122名の油症患者を対象とした. 検診は眼脂過多, 眼瞼浮腫, 眼瞼・結膜色素沈着, 瞼板腺嚢胞形成, 瞼板腺白色チーズ様物排出の5項目について, 問診と前眼部検査を行ない, 明らかに油症と関係ある所見を(+), 疑わしいが他疾患による可能性を否定できないものを(±)として記載した. とくに瞼板腺内容物について

表 1 眼 症 状

| 年 令/性 別          |   | 0-10 | 11-20 | 21-30 | 31-40 | 41-50 | 51-60 | 61-70 | 71- | 計   |
|------------------|---|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|
|                  |   | 男 女  | 男 女   | 男 女   | 男 女   | 男 女   | 男 女   | 男 女   | 男 女 |     |
|                  |   |      | 2 2   | 5 6   | 8 10  | 9 14  | 14 23 | 6 14  | 5 4 | 122 |
| 眼 脂 過 多          | + |      | 1     | 1     | 3 3   | 2 4   | 4 13  | 3 7   | 3 3 | 47  |
|                  | ± |      | 1     | 3 4   | 5 5   | 6 9   | 9 9   | 3 4   | 1 1 | 60  |
|                  | - |      | 1 1   | 1 2   | 2     | 1 1   | 1 1   | 3     | 1   | 15  |
| 眼 瞼 浮 腫          | + |      |       |       |       |       | 1     |       |     | 1   |
|                  | ± |      |       |       |       | 1     | 1 2   |       | 1   | 5   |
|                  | - |      | 2 2   | 5 6   | 8 10  | 9 13  | 13 10 | 6 14  | 4 4 | 116 |
| 眼瞼・結膜<br>色素沈着    | + |      |       |       | 2 2   | 1     | 3 2   | 2 1   | 1 1 | 15  |
|                  | ± |      |       |       |       | 4 3   | 1 5   | 2 4   | 3 1 | 23  |
|                  | - |      | 2 2   | 5 6   | 6 8   | 4 11  | 10 16 | 2 9   | 1 2 | 84  |
| 瞼板腺嚢胞形成          | + |      | 2     | 2     | 3 2   | 5 3   | 11 9  | 3 3   | 1   | 44  |
|                  | ± |      |       |       | 1     | 1 3   | 4     | 1 2   | 1   | 13  |
|                  | - |      | 2     | 5 4   | 4 8   | 3 8   | 3 10  | 2 9   | 3 4 | 65  |
| 瞼板腺白色<br>チーズ様物排出 | + |      |       | 1     | 1     | 2 3   | 6 6   | 2 1   |     | 25  |
|                  | ± |      |       | 3 1   | 3 2   | 3 3   | 2 2   | 2 4   | 1 1 | 27  |
|                  | - |      | 2 2   | 2 4   | 4 8   | 4 8   | 5 13  | 2 9   | 4 3 | 70  |

は白色チーズ状を呈した例を(+)、白色粥状を(±)、黄色あるいは白色の油状を(-)とした。

瞼板腺内容物採集法としては、従来、母指と示指で眼瞼皮膚側より瞼板を強くつまむことにより瞼板腺を圧迫していたが、今回はさらにそれに硝子棒で疑わしい瞼板腺を結膜面で瞼縁に向かって圧迫する方法をつけくわえた。排出された瞼板腺内容物はその色調、性状を記載し、硝子棒にて採取した。

採取出来た瞼板腺内容物は重量測定後、N-ヘキサン 100  $\mu$ l に溶解、さらに硫酸を加え超音波をもちいて溶解、遠沈後その上清を回収し、マイクロカラム(長さ 5 cm、内径 2 mm)によるシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない、その後電子捕獲型検出器(ECD)付きガスクロマトグラフィーを行なった。

PCB の定量は、標準試料に KC 500+600 (1:1)を用い、ガスクロマトグラムのピーク高の和による方法で行なった<sup>9)</sup>。また PCB パターンは血液と同様に、油症患者に特有のパターンをA、それに近いものをB、一般人と見分けが付きにくいものをCとした<sup>10)</sup>。

## 結 果

眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼・結膜色素沈着、瞼板腺

表 2. 瞼板腺内容物の色調性状と PCB 検出例

| 瞼板腺内容物の<br>色 調 性 状 | 症例数<br>N | 採取例 | PCB<br>測定例 | PCB<br>検出例<br>P | 検出率<br>P/N |
|--------------------|----------|-----|------------|-----------------|------------|
| 白色チーズ状             | 23       | 23  | 14         | 10              | 43%        |
| 白色粥状               | 13       | 10  | 5          | 3               | 23%        |
| 黄色～白色油状            | 12       | 6   | 3          | 2               | 17%        |
|                    | 48       | 39  | 22         | 15              | 31%        |

嚢胞形成、瞼板腺白色チーズ様物排出の各項目の判定結果は表1に示した。油症発症以来16年余が経過し、初期に高頻度に見られた眼瞼浮腫、眼瞼・結膜色素沈着の所見は明らかに減じ、眼脂過多の訴えもその程度は軽くなっている。瞼板腺の病変は急性期には大部分の瞼板腺に様に生じたが、現在では一部の瞼板腺にのみみられることが通常となつた。しかし瞼板腺の角化嚢胞形成を主体とする病変は依然として残存していた。

今回は特に瞼板腺圧迫法を工夫したことにより、39例から瞼板腺内容物を採取出来た。しかし内容物の量は微量で、実際に PCB を測定できた例は前回とほぼ同数であつた(表2)。瞼板腺内容の PCB を測定できた22例の詳細は表3に示した。PCBを検出できた

表 3. 腺板腺内容物中 PCB 測定例

| 症 例 |    |   | 腺 板 腺 内 容 物 |             |             |              | 血 液         |            |
|-----|----|---|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|------------|
| No. | 年齢 | 性 | 色 調 性 状     | 重 量<br>(mg) | PCB<br>パターン | PCB<br>濃 度   | PCB<br>パターン | PCB<br>濃 度 |
| 1   | 24 | 男 | 白 色 油 状     | 0.58        | A           | 240          | A           | 1          |
| 2   | 24 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.43        | A           | 200          | A           | 2          |
| 3   | 30 | 男 | 白 色 油 状     | 0.30        |             | nd           | A           | 3          |
| 4   | 32 | 男 | 白 色 粥 状     | 0.05        |             | nd           | B C         | 10         |
| 5   | 39 | 女 | 白 色 粥 状     | 1.05        | C           | 50           | C           | 5          |
| 6   | 40 | 男 | 白 色 チーズ 状   | 0.60        | C           | 80           | B           | 3          |
| 7   | 44 | 男 | 白 色 チーズ 状   | 0.75        | A           | 1100         | B           | 6          |
| 8   | 44 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.2         |             | nd           | A           | 6          |
| 9   | 45 | 男 | 白 色 粥 状     | 0.5         | C           | 200          | B           | 4          |
| 10  | 47 | 男 | 白 色 チーズ 状   | 1.06        | A           | 250          | A           | 6          |
| 11  | 49 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.63        | A           | 360 (A, 100) | A           | 17         |
| 12  | 51 | 女 | 白 色 粥 状     | 0.5         | C B         | 200          | C           | 7          |
| 13  | 52 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.5         | A           | 120 (A, 20)  | B           | 3          |
| 14  | 52 | 男 | 白 色 チーズ 状   | 0.80        | A           | 300          | A           | 3          |
| 15  | 53 | 男 | 白 色 チーズ 状   | 0.05        |             | nd           | A           | 5          |
| 16  | 55 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.10        |             | nd           | A           | 2          |
| 17  | 55 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 1.0         | C           | 300          | B           | 5          |
| 18  | 56 | 女 | 白 色 粥 状     | 痕跡          |             | nd (A, 200)  | A           | 9          |
| 19  | 60 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.45        | A           | 220 (A, 60)  | A           | 8          |
| 20  | 63 | 男 | 白 色 チーズ 状   | 1.8         | C           | 100 ( nd )   |             |            |
| 21  | 67 | 女 | 白 色 チーズ 状   | 0.10        |             | nd           | A           | 6          |
| 22  | 68 | 女 | 黄 色 油 状     | 1.73        | C           | 50 (C, 20)   | B           | 2          |

注 nd: PCB 検出できず。カッコ内は前回(昭和55年度検診時)の結果を示す。

15 例中前回は検出できていたのは 5 例であり、前回検出できなかった 1 例で今回は検出できた。逆に前回検出できたものに今回検出できなかった例も 1 例あった。今回初めて検出できたのは 10 例であった。

### 考 察

油症患者の腺板腺内容物を多く採取する工夫をした。採取例は前回<sup>7)</sup>に比べ増加したが、実際に PCB を検出できた例は必ずしも多くなかった。これは採取量が十分でなかったことによる。しかし、前回検出できなかった 10 例から新たに検出できたことは、採取法の工夫の成果と考えられた。前回および今回の結果から、腺板腺内容物中の PCB を有意に検出するには 0.5 mg 以上の採取が必要と考えられる。

また同一例で何度も採取した例で、採取量は必ずしも一定ではなかった。さらに PCB 濃度にも変動がみられた。これは腺板腺角化細胞の形成過程におい

て、内容物が充満した時に採取すると採取量も多く、PCB 濃度も高いが、排出された後には蓄積されるまでに時間を要すると考えられる。実験的 PCB 中毒サルの腺板透明標本における腺板腺の観察でも示されたように、角化細胞の形成によっても腺板腺は消失せず数は変わらない<sup>10)</sup>。PCB により腺板腺は角化細胞を形成し、充満した内容物は圧迫により容易に排出される。一旦は萎縮した腺板腺は再び再生し、角化細胞形成に向かう、というサイクルを仮定<sup>4)5)</sup>すると、発症 16 年後の現在も依然として油症患者で腺板腺の病変が継続していることを説明できる。

油症の眼症状が発症当初とは大きく違ってきていることは明らかである。油症の確診の根拠とされた腺板腺白色チーズ様物排出も、多くの例でみられなくなっている。他方で粥状・油状の排出物から PCB が検出可能であった。現在、正常対照として PCB 濃度を調べるために、油症とは関係のない正常者から腺板腺

内容物の採取を試みている。今後は瞼板腺内容物中 PCB の検出が PCB 中毒症の診断に大きな手掛かりを与えられよう。

### 結 語

昭和 59 年度油症患者の一斉検診（追跡調査）の結果と、その際行なった瞼板腺内容物の採取法の工夫および内容物中 PCB の検出結果を報告した。

1. 眼科検診を受けた油症患者 122 名中瞼板腺内容物採取例 39 例（32%）、PCB 検出例 15 例（12%）であった。

2. 前回（昭和 55 年度検診）と比べ、採取法の工夫により採取率は向上したが、採取量が十分でなく、PCB 検出例は多くなかった。

3. 同一症例でも時期により瞼板腺内容物採取量、PCB 濃度は変動した。油症患者における瞼板腺角化嚢胞の形成過程の時期による差異と考えられた。

### 文 献

1) 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.

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) 川城 巖ほか：PCB の分析方法に関する研究。食品衛生研究 22: 238-251, 1972.

4) 向野利彦，大西克尚，石橋達朗：実験的 PCB 中毒サルにおける瞼板腺（マイボーム腺）の病理組織学的研究。臨床眼科 33: 1119-1125, 1979.

5) 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.

6) 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.

7) 向野利彦，大西克尚，廣中博見：油症患者の眼症状（第 5 報）。瞼板腺圧迫排出物中 PCB の検出。福岡医誌 72: 237-241, 1981.

8) 増田義人，香川梨絵，倉恒匡徳：油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール。福岡医誌 65: 17-24, 1974.

9) 増田義人ほか：油症患者および一般人の血液中のポリ塩化ビフェニール。福岡医誌 65: 25-27, 1974.

10) 大西克尚，向野利彦，石橋達朗，篠田泰治：実験的 PCB 中毒サルの瞼板透明標本によるマイボーム腺の観察。福岡医誌 74: 240-245, 1983.

## 油症患者の歯周疾患に関する疫学的調査（第1報）

九州大学歯学部歯科保存学第一教室（主任：青野正男教授）

赤 峰 昭 文・橋 口 勇・前 田 勝 正

原 宜 興・鎮 守 信 弘・岩 本 恭 行

青 野 正 男

### Prevalence of periodontal disease in patients with Yusho

Akifumi AKAMINE, Isamu HASHIGUCHI, Katsumasa MAEDA,  
Yoshitaka HARA, Nobuhiro CHINJIU, Yasuyuki IWAMOTO  
and Masao AONO

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

This study was performed in order to examine prevalence of the periodontal disease in patients with Yusho. The pocket depth was measured at the mesial surface of the six teeth of each. Subsequently the radiographic examination was carried out to observe the condition of the marginal bone resorption.

The results were as follows;

- 1) 24.5% of the examined teeth had the periodontal pockets on the mesial surface. 56.4% of the patients had at least one tooth with a periodontal pocket.
- 2) Periodontal disease was found in males rather than in females.
- 3) The patients aged between forty and sixty had the high incidence of periodontal disease. Even in twenties and thirties, severe periodontal disease was found.

### 緒 言

油症が発生して以来、歯科口腔領域においては色素沈着、歯牙萌出遅延、歯胚の欠損、過剰歯、歯根の形態異常などの病変について実態報告と経年的推移が追求されてきた<sup>1)2)</sup>。一方、これらの病変と併行して油症患者の検診時に患者が訴えるものに歯牙挺出感、歯肉腫脹、歯肉出血といった、いわゆる歯周疾患の所見も数多くみうけられる。そこで今回、我々は油症患者における歯周疾患の罹患状態を把握し、その実態を明らかにするために疫学的調査を行った。

### 検 診 方 法

検診は昭和59年9月から10月にかけて油症一斉検診を受診した油症認定患者に行った。被検者は男性47名、女性71名、計118名であった。歯周ポケットの診査はRamfjord<sup>3)</sup>が提唱している方法に従った。すなわち、ポケット診査の対象歯は上顎右側第一大臼

歯、上顎左側中切歯、上顎左側第一小臼歯、下顎左側第一大臼歯、下顎右側中切歯、下顎右側第一小臼歯の6歯で、測定はポケット探針PCP-11（Hu-Friedy社）を用い、約25gの荷重下で上顎歯は近心頬側、下顎は近心舌側について測定を行い、4mm以上の歯周ポケットを有する歯をプラスとした。なお、対象歯が喪失している場合には遠心の隣在歯を代用して測定した。また全員のX線写真撮影（パントモグラフ）を行い、歯槽骨吸収の度合や残存歯牙の状態を観察するための資料とした。

### 結 果

油症患者における4mm以上のポケットを有する歯数を男女別、年代別に分けると表1の通りであった。それによると油症患者118名のうち、4mm以上のポケットを1歯以上有する者67名（56.8%）、2歯以上有する者39名（33.1%）、3歯以上有する者23名（19.5%）、4歯以上有する者13名（11.0%）、5

表 1. 油症患者における歯周ポケット分布状態

| 年 代   | 4 mm 以上のポ<br>ケットを有する歯数 | 0   |    | 1   |    | 2   |   | 3   |   | 4   |   | 5   |   | 6   |   | 計 (名) |
|-------|------------------------|-----|----|-----|----|-----|---|-----|---|-----|---|-----|---|-----|---|-------|
|       |                        | 性 別 |    | 性 別 |    | 性 別 |   | 性 別 |   | 性 別 |   | 性 別 |   | 性 別 |   |       |
|       | 年 齢                    | 男   | 女  | 男   | 女  | 男   | 女 | 男   | 女 | 男   | 女 | 男   | 女 | 男   | 女 |       |
| 10代   | 10 ～ 19                | 1   | 1  | 1   | 0  | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 3     |
| 20代   | 20 ～ 29                | 1   | 1  | 2   | 1  | 1   | 0 | 0   | 1 | 0   | 1 | 0   | 0 | 0   | 0 | 8     |
| 30代   | 30 ～ 39                | 3   | 7  | 2   | 3  | 0   | 1 | 0   | 1 | 2   | 0 | 1   | 0 | 0   | 0 | 20    |
| 40代   | 40 ～ 49                | 1   | 7  | 2   | 4  | 3   | 3 | 1   | 0 | 2   | 1 | 1   | 0 | 1   | 0 | 26    |
| 50代   | 50 ～ 59                | 4   | 9  | 3   | 4  | 2   | 2 | 2   | 2 | 1   | 1 | 0   | 1 | 0   | 1 | 32    |
| 60代   | 60 ～ 69                | 1   | 9  | 2   | 1  | 1   | 3 | 1   | 2 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 20    |
| 70代   | 70 ～ 79                | 4   | 2  | 0   | 2  | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 8     |
| 80代   | 80 ～ 89                | 0   | 0  | 1   | 0  | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 0   | 0 | 1     |
| 計 (名) |                        | 15  | 36 | 13  | 15 | 7   | 9 | 4   | 6 | 5   | 3 | 2   | 1 | 1   | 1 | 118   |

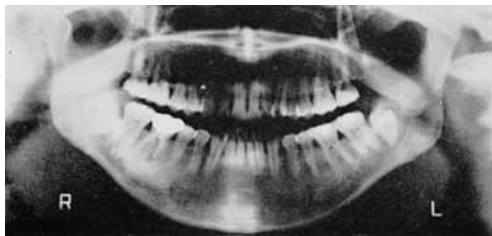


図 1. 油症患者 32 歳男性. 全顎にわたって 歯槽骨の吸収がみられる。

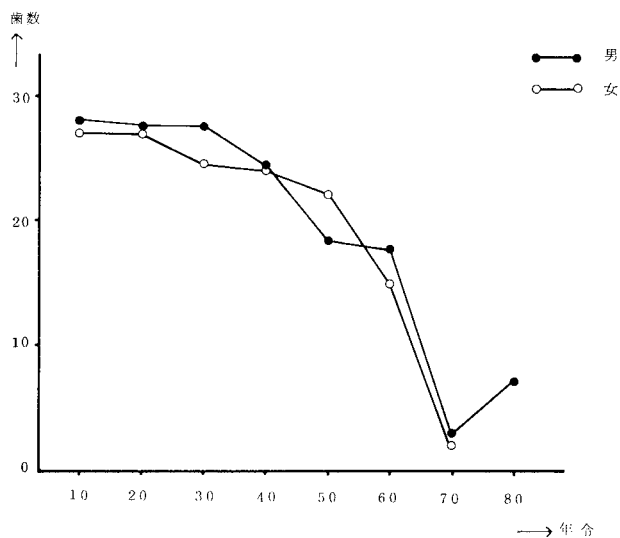


図 2. 年代別残存歯数

歯以上有する者 5 名 (4.2%), 6 歯全て有する者 2 名 (1.7%) であった。また、深さ 4 mm 以上の歯周ポケットの発現頻度は総被検歯 594 歯のうち 24.9% であった。男女別では男性の方が 4 mm 以上のポ

ケットを有する歯数を多くもっている傾向がみられた。年代別では 40 代から 60 代にかけて高い罹患率を示していた。しかし、20 代、30 代でもなかには 4 ~ 5 歯も 4 mm 以上の歯周ポケットを有している高度の歯周疾患罹患患者もいた (図 1)。続いて油症患者における年代別残存歯数を図 2 に示した。これによると 50 代以後に歯の喪失数が急増していた。つぎに歯種と年代別に 4 mm 以上のポケットを有する歯の発現頻度をグラフに示したのが図 3 である。上顎第一大臼歯、下顎中切歯は比較的、罹患率は低かったが、その他の上顎中切歯、上顎第一小臼歯、下顎第一小臼歯、下顎第一大臼歯は高い罹患率を示していた。特に下顎第一大臼歯は 38.0% という高い罹患率を示していた。なお、コントロールは福岡市内の保健所における 40 歳以上を対象とした成人健康診断受診者の歯周疾患疫学調査結果を基に作成した。

#### 考 察

油症患者における深さ 4 mm 以上の病的歯周ポケットの発現頻度は総被検歯 594 歯のうち 24.9% であり、また 1 歯でも 4 mm 以上のポケットを持つものは総被検者 118 名中の 56.8% であった。福岡市内の保健所における 40 歳以上を対象とした成人健康受診者 (54 名) の歯周ポケットの発現頻度は総被検歯 257 歯のうち 16.0% であり、そのうち 1 歯でも 3 mm 以上のポケットを持つものは総被検者 54 名中 42.6% であった。また Hugoson ら<sup>4)</sup> はスウェーデンでの 3 歳 ~ 70 歳ま

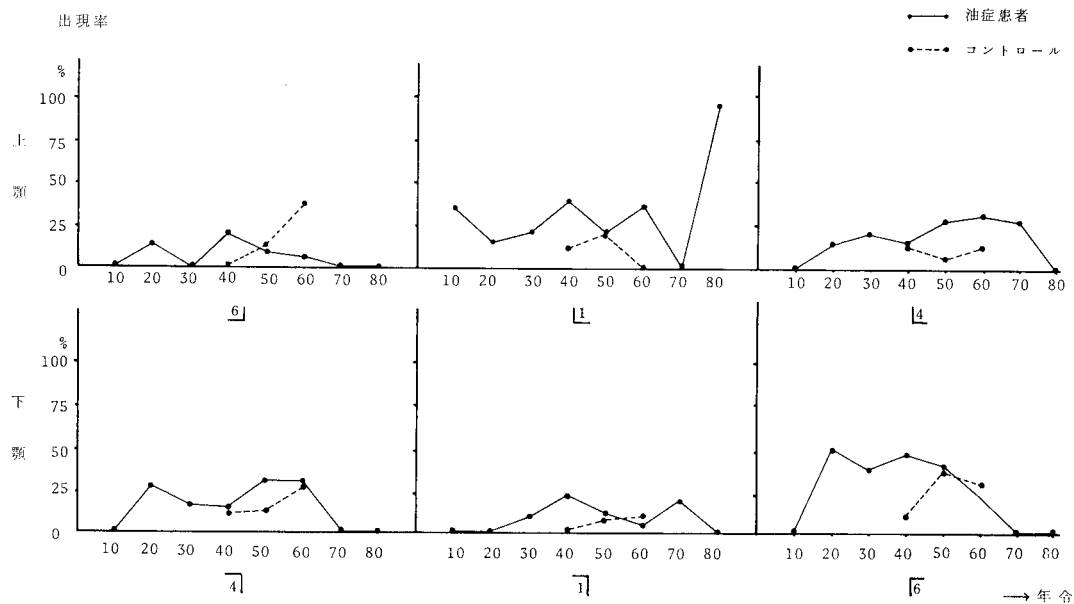


図 3 歯種別の歯周ポケットの出現率



図 4. 油症患者 23 歳女性. 歯槽骨の吸収とともに歯根の形態異常がみられる.

での口腔健康状態を調査し、4 mm 以上のポケットの発現頻度を報告している。これらの調査結果を比較すると今回の油症患者の発現頻度は非常に高い値となっている。そして特に注目されるのは 20~30 代の若年者に 4 mm 以上の病的歯周ポケットを数多く有しているのが数名いたことである。そのうちの 1 名 (23 歳, 女性) は九大歯学部附属病院にて更に詳細な歯周組織診査 (表 2) と歯科用 X 線撮影 (図 4) を行なった。その結果、6 歯以外にも広範囲にわたって歯肉出血、排膿および歯槽骨の吸収といった歯周疾患の所見がみられた。このように油症患者の比較的若い年代が高度の歯周疾患に罹患しているという所見について

は平山<sup>2)</sup>、福山<sup>2)</sup>は PCB によりビタミン D の代謝異常やカルシウム代謝異常が起こり、その結果、油症患者、とくに乳児から小児期に化骨障害や骨発育障害といった症状がみられることを報告している。また Yagi ら<sup>7)</sup>、大塚ら<sup>5)</sup>は動物実験において PCB がカルシウム代謝に何らかの影響を与える可能性があること、顎骨中にも PCB がかなり蓄積されることを報告している。従つて、油症患者の歯槽骨の石灰化に関しても PCB により何らかの異常が生じ、そのために歯周疾患に罹患しやすいという状態を招来したものかも知れない。つぎに歯種と年代別に 4 mm 以上のポケットを有する歯の発現頻度についてであるが、コントロールと比較すると上顎第一大臼歯を除く全ての部位で油症患者の罹患率の方が高い値を示した。また特に下顎第一大臼歯は 38.0% という高い罹患率を示し、20 代~30 代から高い傾向が認められることは注目される。コントロールでは 3 mm 以上のポケットを有する発現頻度であるから、実際には油症患者との間にはもつと開きがあると思われる。いずれにしても今回の検診結果から油症患者の歯周疾患の罹患状態はかなり高率であると考えられる。

今回は油症患者における歯周疾患の罹患状態を把握するのに  $\frac{6}{41} \mid \frac{14}{6}$  の 6 歯の頬側近心あるいは舌側近心部の歯周ポケット測定とパントモグラフによる歯槽骨の吸収状態を観察するという簡易式調査方法であつ

表 2 歯 周 組 織 診 査 表

|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|-----|------|---|---|---|---|---|---|----------------|----------------|----------------|----------------|---|---|----------------|----------------|---|---|
| 頬側  | 動揺   |   |   |   |   |   |   | M <sub>1</sub> | M <sub>1</sub> | M <sub>1</sub> |                |   |   | M <sub>2</sub> | M <sub>1</sub> |   |   |
|     | 出血   |   |   | + | + |   |   | +              | +              | +              | +              |   |   | +              | +              | + |   |
|     | 排膿   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | ポケット |   | 2 | 3 | 3 | 6 | 4 | 4              | 3              | 4              |                | 5 | 2 | 3              | 3              | 2 | 2 |
|     | CI   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | A    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | M    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | P    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | DI   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | P    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
| 口蓋側 | M    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | A    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | CI   |   |   |   | 2 |   |   |                |                |                |                |   |   |                | 2              |   |   |
|     | ポケット |   | 3 | 3 | 3 | 6 | 4 | 4              | 3              | 5              | 6              |   | 4 | 4              | 3              | 4 | 2 |
|     | 排膿   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | 出血   |   | + | + | + | + | + | +              | +              | +              | +              |   | + | +              | +              | + |   |
|     |      | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2              | 1              | 1              | 2              | 3 | 4 | 5              | 6              | 7 | 8 |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
| 舌側  | 出血   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | 排膿   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | ポケット |   |   | 3 | 4 | 3 | 3 | 3              | 3              | 2              | 3              |   | 3 | 3              | 3              | 2 | 3 |
|     | CI   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | A    |   |   | + | - | + |   |                | +              | +              | +              | + | + | +              | +              |   |   |
|     | M    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | P    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | DI   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | P    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | M    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
| 頬側  | A    |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | CI   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | ポケット |   |   | 3 | 3 | 4 | 3 | 2              | 3              | 3              | 3              |   | 3 | 2              | 4              | 1 | 2 |
|     | 排膿   |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     | 出血   |   |   |   | + |   |   |                |                |                |                |   | + | +              | +              | + | + |
|     | 動揺   |   |   |   |   |   |   |                | M <sub>1</sub> | M <sub>1</sub> | M <sub>2</sub> |   |   |                |                |   |   |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |
|     |      |   |   |   |   |   |   |                |                |                |                |   |   |                |                |   |   |

た。九歯学部附属病院に来院した歯周病患者者に対しては表2に示すような詳細な歯周組織診査ならびにX線撮影を行い、それに基づいた適切な治療方針を立て、歯周処置を行っている。今回、4mm以上の病的歯周ポケットを1歯以上有している者67名(56.8%)についてはさらに詳細な検査が必要と思われる。今後も油症患者における歯周疾患の罹患状態を正確に把握するために、歯周ポケット測定検査の他に歯肉出血、排膿ならびに動揺などの診査を加えた疫学的調査を進めていく予定である。

### 結 論

油症患者における歯周疾患の罹患状態を把握する目的で昭和59年度油症一斉検診受診者118名を対象に調査を実施した。検診は $\frac{6}{41} \frac{14}{6}$ の6歯を対象に、近心の歯周ポケットの深さを計測した。また、全員のX線

写真撮影(パントモグラフ)を行い、歯槽骨吸収の度合、残存歯牙の状態などについても観察を行った。その結果、次の様な結論を得た。

- 1) 深さ4mm以上の歯周ポケットの発現頻度は総被検歯594歯の24.9%であつた。さらに1歯でも4mm以上の歯周ポケットを持つものは総被検者118名中56.8%であつた。
- 2) 男女別では男性の方が4mm以上のポケットを有する歯数を多く有している傾向がみられた。
- 3) 年代別では40代~60代にかけて高い値を示した。しかしながら20代や30代でもなかには高い歯周疾患の罹患状態を示す者もいた。

### 文 献

- 1) 赤峰昭文, 橋口 勇, 岸 哲也, 古川猛士, 青野正男: 油症患者における口腔内色素沈着の経年的

変化. 福岡医誌 74: 284-288, 1983.

2) 福山 宏, 阿南ゆみ子, 赤峰昭文, 青野正男: 油症患者における口腔病変の推移. 福岡医誌 70: 187-198, 1979.

3) 平山千里: PCB 中毒と肝細胞機能. 福岡医誌 70: 238-245, 1979.

4) Hugoson, A., Koch, G.: Oral health in 1,000 individuals aged 3-70 years in the community of Jönköping, Sweden. Swed. Dent. J. 3: 69-87, 1979.

5) 大塚喜久雄, 馬場 資, 馬場強三: PCB 連

続投与における PCB の生体内分布. 昭和 52 年度油症と PCB (塩化ビフェニール) に関する研究報告書. 71-87, 1978.

6) Ramfjord, S.: Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. J. Periodontol. 30: 51-59, 1959.

7) Yagi, N., Kimura, M. and Itokawa, Y.: Sodium, Potassium, Magnesium and Calcium Levels in Polychlorinated Biphenyl (PCB) Poisoned Rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 16: 516-519, 1976.

## 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, cm<sup>2</sup>, cm<sup>3</sup> (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。ランニングタイトルを20字以内（欧文の場合は40文字以内）で鉛筆で付記する。
7. 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) 雑誌の場合：著者名・論文表題・雑誌名・巻：最初最後頁・発行年。  
(例) Baker, B. L. and Samuel, D. M.: The development of the albino rat (*Rattus norvegicus albus*). J. Anat. 72: 247-287, 1915.
  - 2) 単行本の場合：著者名・書名・第何版・引用頁・発行地・発行社・発行年。  
(例) Bloom, W. and Fawcett, D. W. A Textbook of Histology. 10th ed. 179-227, Philadelphia, Saunders Co. 1975.
  - 3) 分担執筆の場合：著者名・章の表題・編者・書名・第何版・最初最後頁・発行地・発行社・発行年。  
(例) Yamada, T. Fat-storing cells. In: Yamakawa, I. (ed.). Structure and Function of the Liver. 1st ed. 188-202, Tokyo, Nanzando. 1980.
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2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）、柴田洋三郎（解剖）、  
許斐康熙（1外科）、中山宏明（口腔細菌）

昭和60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