

昭和29年11月5日第三種郵便物認可  
平成19年5月25日(毎月25日発行)  
第1028号

Vol. 98 No. 5  
May 2007

CODEN: FKIZA4  
ISSN 0016-254X

# 福岡医学雑誌

*FUKUOKA ACTA MEDICA*

第98巻 第5号 (1028)

平成19年5月25日

特 集 号

油症とPCB及びダイオキシン関連化合物

研 究 報 告 第 21 集

責任編集者 古江増隆

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

Guest Editor Masutaka Furue

福岡医誌

Fukuoka Acta Med.

# 油症と PCB 及びダイオキシン関連化合物に関する研究

## 報告集 第 21 集

(福岡医学雑誌 第 98 巻 第 5 号 平成 19 年 5 月)

### 目 次

序 言	古江 増隆…127
2001～2003 年度に血中 PCDFs 濃度を測定した油症患者の平均値と現在残留する症状等の比較 神奈川芳行・松本 伸哉・田島 文一・上ノ土 武 柴田 智子・古江 増隆・今村 知明…129	
尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討	柴田 智子・徳永 章二・古江 増隆…136
油症認定患者血中 Total Antioxidant Power の検討	清水 和宏・小川 文秀・佐藤 伸一…141
カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ	吉村 俊朗・中野 治郎・片岡 英樹…143
油症患者血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の 4 年間の傾向 高尾 佳子・小野塚大介・片岡恭一郎・戸高 尊 平川 博仙・梶原 淳睦・吉村 健清…149	
カネミ油症患者における、ダイオキシン濃度と、最近及び過去の臨床症状の関係 松本 伸哉・神奈川芳行・田島 文一・上ノ土 武 柴田 智子・古江 増隆・今村 知明…153	
油症患者の既往歴頻度と血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルとの関連 徳永 章二・柴田 智子・古江 増隆…160	
油症における性腺機能の検討	辻 博・池田 正春…166
油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査 (第六報) 橋口 勇・吉嶺 嘉人・前田 英史・後藤 康治 石河 真幸・藤井 慎介・友清 淳・福山 宏 奥村 英彦・赤峰 昭文…170	
福岡県油症検診 (2006 年度) 受診者における血液 PCB 濃度と性状 堀 就英・安武 大輔・戸高 尊・平川 博仙 井上 英・梶原 淳睦・中川 礼子・芦塚 由紀 飯田 隆雄・吉村 健清…176	

油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs, PCDFs の濃度変遷

増田 義人・吉村 健清・梶原 淳睦・John Jake Ryan…182

油症認定患者と一般人におけるダイオキシン類の血中残留性と暴露経路の関連性について

松枝 隆彦・梶原 淳睦・岩本 眞二・飯田 隆雄

伊津野知佳・吉村 健清…196

ダイオキシン類母体曝露がマウス胎仔精巢の性ステロイドホルモン生合成系発現に及ぼす影響

武藤 純平・石田 卓巳・石井 祐次・山田 英之…203

マイクロアレイを用いた環境化学物質代謝に関与する遺伝子多型判定法の開発と問題点 (英文)

坂 晋・近藤 朋子・石塚真由美・佐々木成子

小西 香苗・鷲野 考揚・藤田 正一・岸 玲子…208

油症患者における FBRA 摂取による油症原因 PCDFs 同族体の体外排泄促進 (英文)

長山 淳哉・平川 博仙・梶原 淳睦・飯田 隆雄

戸高 尊・上ノ土 武・柴田 智子・辻 博

岩崎 輝明…215

平成 16 および 17 年度の油症検診における血液中ダイオキシン類濃度 (英文)

戸高 尊・平川 博仙・梶原 淳睦・堀 就英

飛石 和夫・小野塚大介・飯田 隆雄・吉村 健清

古江 増隆…222

2005 年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析

芦塚 由紀・中川 礼子・平川 博仙・堀 就英

梶原 淳睦・飯田 隆雄・吉村 健清…232

2,2',4,5,5'-五塩素化ビフェニル(CB101)のラット,ハムスターおよびモルモット肝マイクロゾームによる代謝

太田 千穂・忝岡 樹子・原口 浩一・加藤 善久

遠藤 哲也・古賀 信幸…236

**The Twenty-first Reports of the Study on Yusho**  
**—PCBs and Dioxin-Related Compounds—**  
**(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 98, No. 5, 2007)**

*CONTENTS*

- Foreword M. Furue...127
- Average of the PCDFs Value in Blood in Patients with Yusho in the 2001 to 2003 Fiscal  
Year and Comparison between the Clinical Features and PCDFs  
Y. Kanagawa, S. Matsumoto, B. Tajima, T. Uenotsuchi,  
S. Shibata, M. Furue and T. Imamura...129
- Estimation of Urinary Diacetylspermine in Yusho Patients  
S. Shibata, S. Tokunaga and M. Furue...136
- Estimation of Total Antioxidant Power in the Serum of Yusho Victims  
K. Shimizu, F. Ogawa and S. Sato...141
- Decreased Serum Aldolase Levels in Yusho  
T. Yoshimura, J. Nakano and H. Kataoka...143
- Trend of 2,3,4,7,8-PeCDF Concentrations in the Blood of Yusho Patients over Four Years  
Y. Takao, D. Onozuka, K. Kataoka, T. Todaka, H. Hirakawa,  
J. Kajiwara and T. Yoshimura...149
- Relationship between Blood Dioxin Levels and Present / Past Clinical Symptoms in  
Kanemi Yusho Patients  
S. Matsumoto, Y. Kanagawa, B. Tajima, T. Uenotsuchi, S. Shibata,  
M. Furue and T. Imamura...153
- The Past History of Diseases and Symptoms among the Yusho Patients, and Its  
Association with Blood Lipid Concentration of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran  
S. Tokunaga, S. Shibata and M. Furue...160
- Serum Levels of Estradiol, Progesterone and Prolactin in Patients with Yusho  
H. Tsuji and M. Ikeda...166

- An Epidemiologic Examination on the Prevalence of the Periodontal Diseases and Oral Pigmentation in Yusho Patients in 2006  
I. Hashiguchi, Y. Yoshimine, H. Maeda, Y. Gotou, M. Ishikawa, S. Fujii,  
A. Tomokiyo, H. Fukuyama, H. Okumura and A. Akamine...170
- Blood PCB Concentrations and their Characteristics Examined in Fukuoka 2006  
Annual Inspection for Yusho  
T. Hori, D. Yasutake, T. Todaka, H. Hirakawa, S. Inoue,  
J. Kajiwara, R. Nakagawa, Y. Ashizuka, T. Iida and T. Yoshimura...176
- Trend of PCB/PCDF Concentrations in the Blood of Yusho Patients for 38 Years after  
the Incidence  
Y. Masuda, T. Yoshimura, J. Kajiwara and J. Jake Ryan...182
- Analysis of Residual Nature of Dioxins in Blood of Yusho Patients and Controls in  
Relation to the Yusho Oil and Food as Respective Exposure Routes  
T. Matsueda, J. Kajiwara, S. Iwamoto, T. Iida,  
C. Izuno and T. Yoshimura...196
- The Effect on the Expression of Testicular Steroidogenic Enzymes in Fetal Mouse by  
Maternal Exposure to TCDD  
J. Mutoh, T. Ishida, Y. Ishii and H. Yamada...203
- Using Microarray Analysis to Evaluate Genetic Polymorphisms Involved in the  
Metabolism of Environmental Chemicals  
S. Ban, T. Kondo, M. Ishizuka, S. Sasaki,  
K. Konishi, N. Washino, S. Fujita and R. Kishi...208
- Excretion of Causative PCDFs Congeners of Yusho by One Year Intake of FBRA in  
Patients with Yusho  
J. Nagayama, H. Hirakawa, J. Kajiwara, T. Iida, T. Todaka,  
T. Uenotsuchi, S. Shibata, H. Tsuji and T. Iwasaki...215
- Dioxin Concentration in the Blood of Patients Collected during Medical Check-up for  
Yusho in 2004-2005  
T. Todaka, H. Hirakawa, J. Kajiwara, T. Hori, K. Tobiishi,  
D. Onozuka, T. Iida, T. Yoshimura and M. Furue...222
- Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Diagnosis in 2005  
Y. Ashizuka, R. Nakagawa, H. Hirakawa, T. Hori,  
J. Kajiwara, T. Iida and T. Yoshimura...232

Metabolism of 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (CB101) by Liver Microsomes of Rats,  
Hamsters and Guinea Pigs

C. Ohta, M. Matsuoka, K. Haraguchi,  
Y. Kato, T. Endo and N. Koga···236

# 序 言

厚生労働省全国油症治療研究班・班長

九州大学大学院医学研究院・教授

古 江 増 隆

## Foreword

Masutaka FURUE

*Chief of The Study Group for Yusho*

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

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

A mass poisoning, involving at least 1890 individuals, occurred in Kyushu (Western Japan) in 1968. The incident is called Yusho, oil disease, as it was caused by ingestion of rice bran oil that was contaminated with Kanechlor-400, a commercial brand of Japanese polychlorinated biphenyls (PCBs). It was later found the rice oil had been contaminated with not only PCBs but also polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), polychlorinated quaterphenyls (PCQs) and others. Yusho is, thus, recognized as a poisoning by a mixture of PCBs, dioxins and related compounds. For more than 35 years the patients have been suffering from various symptoms such as general malaise, headache, acneform eruption, dark-brownish nail pigmentation, increased discharge from the eyes with swelling of eyelids, pigmentation of oral mucosa, peripheral neuropathy, irregular menstruation in women.

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

The clinical and basic studies and follow-up of patients conducted by this study group are extremely important not only for supporting patients' health but also for understanding the possible prolonged effects of exposure to PCBs and dioxins in humans. From this point of view, a patient-consultation system for Yusho has been established from 2002. The Yusho consultants keep in touch with the patients by direct interview, by phone or by mail. Various types of questionnaire were carried out by Yusho consultants. Statistical correlations were analyzed between blood PeCDF levels and clinical / laboratory manifestations in addition to questionnaire comments.

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

厚生労働省全国油症治療研究班の第21報告集を刊行することができましたことを大変うれしく思っております。平成17年度と平成18年度の研究成果ならびに関連分野の総説などをまとめております。油症は昭和43年に西日本一帯の広範囲な住民の方々が、熱媒体として使用されていたPCBの混入した食用米ぬか油を摂取したことによって起こった食中毒事件です。その後、研究班によってPCDFなどのダイオキシン類も混入していたことがつきとめられ、油症はPCB類とダイオキシン類による複合中毒であったことが証明されました。油症検診では、血液中のPCBをA、B、BC、Cの4つのパターンに分類して報告してきました。健常者にもいわゆる環境汚染に由来するPCBの汚染があります。PCB類には数多くの化合物が含まれますが、原因となったカネミ油ではその構成成分に特徴がありました。その特徴は暴露した体内でも長期に残存維持されているため、油症に由来することが明確なPCBパターン(Aパターン)を同定できます。健常者とは区別できないPCBパターンをCパターンとしています。その中間はBあるいはBCパターンとしています。事件発生から5年後くらいから測定が可能になって以来この分類が指標に使われてきました。その後、PCQも油症に比較的特異的に検出されることが判明し診断基準に加わりました。ダイオキシン類は血中にごくわずかにしか含まれていないために、その定量は困難な状況でしたが、研究班内での技術改良により少ない血液量で再現性のあるダイオキシン類測定が可能となり、平成13年度は福岡県の検診でパイロット的に測定を行い、14年度以降は全国の検診で測定を開始しました。これらのデータを妥当性・精度・再現性などの面から解析しました。その結果、血液中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 値を診断基準に追補することが妥当と考えられ、油症診断基準(平成16年9月29日補遺)が新たに作成されました。

患者さんの健康管理と健康相談の窓口として、平成14年度から油症相談員システムを立ち上げました。油症相談員は検診での直接面接、電話や手紙による問診や相談受付などを行ないます。油症相談員の活躍によって、従来よりも信頼性の高いアンケート調査を行なうことが可能となりました。そのようなアンケート調査や実際の検診結果などと血液中のダイオキシン類濃度を統計学的に比較することが可能となりました。本報告集のいくつかの論文はその成果です。いくつかの研究成果は油症ニュース (<http://www.kyudai-derm.org/part/yusho/index.html>) にとりあげて、認定者の方々に送付しております。こうして少しずつではありますが、認定者の方々と交流をさらに深めたいと思っています。

認定者の方々と相談会を五島で2回、福岡で3回開催いたしました。その際に、漢方薬による治療によって症状や血中のダイオキシン類を低下させることはできないかという御指摘をいただきました。平成17年度から漢方薬による臨床試験を、そして平成19年度からコレバインによる臨床試験を開始しました。その成果を期待しています。毎年検診に参加いただいている認定者の方々に御礼申し上げますとともに、油症検診 (<http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html>) にお力添えをいただいている班員の方々、そして厚労省担当課の皆様にも深く感謝申し上げます。



## 2001～2003 年度に血中 PCDFs 濃度を測定した油症患者の 平均値と現在残留する症状等の比較

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院 企画情報運営部

<sup>2)</sup> 日本 NCR 株式会社

<sup>3)</sup> 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

神奈川芳行<sup>1)</sup>, 松本伸哉<sup>1)2)</sup>, 田島文一<sup>2)</sup>, 上ノ土武<sup>3)</sup>,

柴田智子<sup>3)</sup>, 古江増隆<sup>3)</sup>, 今村知明<sup>1)</sup>

### Average of the PCDFs Value in Blood in Patients with Yusho in the 2001 to 2003 Fiscal Year and Comparison between the Clinical Features and PCDFs

Yoshiyuki KANAGAWA<sup>1)</sup>, Shinya MATSUMOTO<sup>1)2)</sup>, Bunichi TAJIMA<sup>2)</sup>, Takeshi UENOTSUCHI<sup>3)</sup>,  
Satoko SHIBATA<sup>3)</sup>, Masutaka FURUE<sup>3)</sup> and Tomoaki IMAMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of Planning Information and Management,  
The University of Tokyo Hospital.*

<sup>2)</sup> *Teradata Division, NCR JAPAN Ltd.*

<sup>3)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of  
Medical Sciences, Kyushu University*

**Abstract** [Background] Kanemi Yusho is the name given to a 1968 food poisoning incident resulting from the ingestion of PCB contaminated rice bran oil that had been used as a heating medium. At the time, victims presented with mainly cutaneous manifestations and various other symptoms such as of the eyes and teeth, general fatigue, headaches, and paresthesia of the extremities. The characteristic symptoms then resolved with time. Yusho patients have been followed from immediately after the incident. Blood levels of dioxins such as PeCDF have been measured for those who wishing to since 2001.

[Subjects and methods] The presence or absence of relationships between blood PeCDF level and various examination items / symptoms was investigated in 359 subjects whose blood levels of PCB-related chemical compounds such as PeCDF were measured in the Yusho related examinations between 2001 and 2003. Characteristic symptoms were also compared with the results of examinations done 15 years previously.

[Results and discussion] The average blood 2,3,4,7,8-PeCDF level in designated Yusho patients was 177.50 pg/g lipids; showing a markedly higher value than that of the normal control group (15.2 pg/g lipids). As well, the blood PeCDF level was related to PCB level, hexachlorobiphenyl level, urinary sugar, erythrocyte sedimentation rate (ESR) (2-hour), thymol and Na. There were also relationships with cutaneous findings (acneiform eruption and comedones), mucosal findings (oral pigmentation), constipation, numbness in the extremities, body weight loss, and abnormal abdominal ultrasonography. Symptoms seen in the skin and eyes in 2001 and 2003 had decreased compared with those in seen 1988. However, PCB and blood PeCDF levels remained high. Patients are continuing to present with mucosal and subjective symptoms as chronic conditions.

### はじめに

カネミ油症事件は、1968年に熱媒体として使用

されていた PCB が混入した食用米ぬか油を摂取したことにより九州を中心とした西日本に発生した食品中毒である<sup>1)2)</sup>。事件発症当初は、5000人を越える被害の届けが出されたが、診断の結果、1600名以上が油症患者として認定を受け、現在では1800名を超える患者が認定されている。当初、PCBがその原因物質とされていたが、その後の研

Address for Correspondence: Yoshiyuki KANAGAWA  
Department of Planning Information and Management,  
The University of Tokyo Hospital 7-3-1 Hongo, Bunko-  
ku Tokyo 113-8655 Japan  
Phone: +81 3 5800 8716 Fax: +81 3 5800 8765  
E-mail: kanagawa-tky@umin.ac.jp

究班の調査により、PCBが熱により変性してできたダイオキシン類の一種である、PeCDF等による健康影響も疑われるようになり<sup>1)~9)</sup>、現在では、カネミ油症の原因物質は、PCB及びその類縁化学物質による健康被害と考えられている。

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

今回、これらの検診結果を踏まえて、カネミ油症患者における各検診結果の代表値を算出し、一般的に正常値とされている値と比較すると共に、PeCDF等の化学物質の血中濃度と身体各症状や検査結果との関連性について検証を行ったので報告する。

## 方 法

### 1. 対象

2001年度～2003年度に油症検診において血中PeCDFを測定した油症認定患者は、3年間で延べ626名、計358名であるが、その内、3年間連続で測定した方は51名、3年の内2年測定者は166名、1年のみは142名であった。

### 2. 診察および血液検査検診項目

油症検診は、表1に示す診察所見や血液検査など合計241項目について行われた。

### 3. 検診結果について

油症事件発生後35年以上経過していることから、患者の症状や検査データに年度間の格差が存在することが考えられる。こうした事件後の時間的経過を踏まえ、油症患者の特徴をより正確に示すため、検診年度による患者のデータのばらつきをなくし、それぞれの患者を代表する代表値を確定することが必要と考えられた。このことから、三年間の検診結果を用いて、PeCDF等の血中ダイオキシン類を三年間で複数回測定した患者についてはそれらの平均値を算出しその平均値を、一年のみの受診者についてはその結果を、それぞれ患者個人の代表値とした。

また、その他の各検診項目についても同様に、複数回の健診受診者については平均値を、一回のみの場合はその値を代表値とした。

## 4. 分析方法

今回、有意差を確認するに当たっては、既に神奈川らが共分散分析よりも、性と年齢を固定因子とした三元配置分散分析の方が適切なモデルであると報告していることから、これを踏襲することとした。具体的には、分布がより正規分布に近づくTotal PCDF値の対数値を従属変数とし、性及び年齢を常に固定因子とし、この他に検診項目における各症状の有無をもう一つの固定因子として、三元配置分散分析を行った。分散分析は、検診票(血液検査等)、内科検診、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診の項目全てに対して、検診結果別に分析を加えた。

分析には、SPSS 11.5 J for Windowsを用いた。p値が0.05未満のものを、統計的に有意であると考えた。

## 結 果

### 1. 2001年度から2003年度の検診における、PCB関連化合物の血中濃度について(表2)

2,3,4,7,8-PeCDF濃度は177.50 pg/g lipids, Total PCDF濃度は264.26 pg/g lipids, PCB濃度は3.14 ppb, PCQ濃度は0.73 ppbであった。PCDFsに含まれる1,2,3,4,7,8-HxCDFは54.75 pg/g lipids, 1,2,3,6,7,8-HxCDFは21.22 pg/g lipidsであった。

これらの物質についてもTEQ濃度(toxicity equivalence quantity)を求めたところ、2,3,4,7,8-PeCDFは、88.75 ppbであった。

### 2. 診察所見および検査所見(表3)

尿検査所見では、尿蛋白・尿糖・尿潜血、尿ウロビリノーゲン、尿PHはいずれも正常範囲内であった。

血液検査所見では、血沈、血算、肝機能、脂質代謝、腎機能、尿酸値、電解質、血糖値、AFPはいずれも正常範囲内であった。さらに、PCB濃度、ピーク2、尿糖、血沈2時間、チモール、Naが血中PeCDFとの関係が見られた。

内科検診では、様々な症状等の有無を「1=-, 2=+, 3=++」として記録している。その中で「±」となる1.50以上を示した項目は、主訴の有無、全身倦怠感、頭重・頭痛、咳漱、喀痰、しびれ感、関節痛、自覚症状その他、肝胆脾エコー所

表 1 油症検診の検査項目一覧

(1). 検診票 (血液検査等)
PCB 及びダイオキシン関連物質の血中濃度 PCB 濃度, ピーク 1, ピーク 2, ピーク 3, PCB パターン, CB 比, PCQ 濃度, ダイオキシン類関連物質の濃度
尿所見 (尿蛋白, 尿糖, 尿潜血, 尿中ウロビリノーゲン, 尿 pH)
血算 血沈 (1 時間値, 2 時間値), WBC, RBC, Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, PLT
血液生化学 T-Bil, D-Bil, GOT, GPT, TP, Alb, A/G ratio, ZTT, TTT, ALP, LAP, $\gamma$ -GTP, ChE, LDH, CPK, TC, HDL-Chol, TG, $\beta$ -lip, BUN, Cre, Na, K, Ca, P, Amy, BS
免疫学的検査 (HBs 抗原, AFP)
(2). 内科検診 (問診と診察所見)
生活歴 (飲酒歴, 喫煙歴)
主訴
既往歴 (昭和 43 年以前の既往歴, 昭和 43 年以降の既往歴)
主観的所見 全身倦怠感, 頭痛・頭重, 咳嗽, 喀痰, 腹痛, 下痢, 便秘, しびれ感, 関節痛, 月経異常
診察所見 身長, 体重, 脈拍数, 血圧, 栄養状態, 心音, 呼吸音, 胸部 X 線検査, 心電図, 腹部エコー検査 肝腫, 脾腫, 浮腫, リンパ節腫大, 四肢けん反射, 感覚障害, 咬合異常, その他
(3). 皮膚科検診
問診 最近の化膿傾向, 最近の粉りゅう再発傾向, かつての?瘡様皮疹, かつての色素沈着
診察所見 黒色面皰, ?瘡様皮疹, 癬痕化, 色素沈着, 爪変形
(4). 歯科検診
主訴 歯痛 歯肉 出血排膿 歯肉腫脹 歯牙挺出感 色素沈着
口腔内診察所見 歯肉炎, 辺縁性歯周炎, 歯牙萌出異常, 歯牙着色, 歯牙形成不全, 咬合異常, その他 粘膜の色素沈着 (程度, 部位, *性状, **色調) 上歯肉, 下歯肉, 右頬粘膜, 左頬粘膜, 口蓋粘膜, 上口唇粘膜, 下口唇粘膜 *性状の選択肢 (びまん性, 斑点状, 帯状, 線状, 雲状, 嶋嶼状) **色調の選択肢 (黒色, 褐色, 暗褐色)
歯科 X 線検査 (有無)
(5). 眼科検診
自覚所見 (眼脂過多)
他覚所見 眼瞼浮腫, 眼瞼結膜色素沈着, 瞼板腺嚢胞形成, 瞼板腺チーズ様分泌物圧出

見等であった。血圧・脈拍は正常範囲内であり、心音・呼吸音も異常をきたした人は少なく、腹部所見、神経学的所見、胸部レ線、心電図所見も正常範囲内であった。血中 PeCDF との関係が見られたのは、便秘の頻度、しびれ感、自覚症その他、体重、肝胆脾エコーであった。

皮膚科、歯科、眼科の検診は、主に問診と診察所見からなるが、それらの所見は「1 = -、2 =  $\pm$ 、3 = + 以上」として記録されている。

皮膚科検診項目の平均値は、1.11 から 1.57 であった。最近の化膿傾向、最近の粉りゅう再発傾向、かつてのざ瘡様皮疹、かつての色素沈着、黒色面皰 (軀幹)、黒色面皰 (その他の部位)、ざ瘡様皮疹 (外陰部)、ざ瘡様皮疹 (臀部)、癬痕化 (軀幹)、爪変形が、血中 PeCDF との関係が見られた。

歯科検診項目では、上歯肉の色素沈着の性状 (びまん性) と口蓋粘膜の色素沈着の性状 (斑点状) が血中 PeCDF 濃度と関係が見られ、下歯肉の色素沈着が有意確率 0.051 を示した。

眼科検診項目では、眼脂過多が血中 PeCDF 濃度と有意確率 0.056 を示した。

### 3. 現在の油症患者の症状・徴候と、発症 20 年後 (1988 年) との比較 (表 4)

油症患者における各種の症状の発生率の時間経過による違いを確認するために、2001~2003 年度の内科、皮膚科、眼科の各症状・徴候の有所見率と、1988 年の検診結果での有所見率<sup>1)</sup>を比較した場合、両方において、全身倦怠感、頭重頭痛、四肢しびれ感、腹部エコー所見において 50% 以上の受検者が異常を示していた。咳嗽と喀痰は約 40%、腹痛と下痢は約 30% で訴えが見られてい

表 2 血中ダイオキシン類の濃度

ダイオキシン類名	有効度数	平均値	標準偏差	最小値	最大値	TEF	TEQ 濃度
2,3,7,8-TCDD	359	1.66	0.80	0.50	4.99	1	1.66
1,2,3,7,8-PeCDD	359	11.00	6.13	0.99	46.03	1	11.00
1,2,3,4,7,8-HxCDD	359	2.58	1.54	1.00	9.65	0.1	0.26
1,2,3,6,7,8-HxCDD	359	49.68	40.00	4.88	289.77	0.1	4.97
1,2,3,7,8,9-HxCDD	359	4.45	3.37	1.00	41.00	0.1	0.45
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	359	47.41	33.90	8.54	327.48	0.01	0.47
OCDD	359	785.76	521.30	147.58	5907.57	0.001	0.79
2,3,7,8-TCDF	359	1.34	0.90	0.50	7.95	0.1	0.13
PeCDF*	359	0.91	0.72	0.50	4.89		
2,3,4,7,8-PeCDF	359	177.50	235.64	2.82	1871.25	0.5	88.75
1,2,3,4,7,8-HxCDF	359	54.75	92.76	1.00	769.89	0.1	5.48
1,2,3,6,7,8-HxCDF	359	21.22	27.55	1.00	210.04	0.1	2.12
2,3,4,6,7,8-HxCDF	359	1.40	0.90	1.00	10.29	0.1	0.14
1,2,3,7,8,9-HxCDF	359	1.01	0.14	1.00	3.39	0.1	0.10
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	359	3.08	3.43	1.00	38.42	0.01	0.03
1234789-HpCDF	359	1.01	0.14	1.00	3.51	0.01	0.01
OCDF	359	2.02	0.26	2.00	5.55	0.001	0.00
3,4,4',5'-TCB (81)	359	5.46	2.69	5.00	41.02	0.0001	0.00055
3,3',4,4'-TCB (77)	359	9.69	5.42	5.00	42.05	0.0001	0.00097
3,3',4,4',5'-PeCB (126)	359	100.39	70.61	5.00	560.94	0.1	10.04
3,3',4,4',5,5'-HxCB (169)	359	188.69	142.38	12.70	1070.32	0.01	1.89
2,3,3',4,4'-PeCB (105)	279	3990.07	3190.08	497.15	21534.86	0.0001	0.40
2,3,4,4',5'-PeCB (114)	279	2465.23	2179.28	100.17	18389.77	0.0005	1.23
2,3',4,4',5'-PeCB (118)	279	18849.19	14208.08	1918.07	100390.50	0.0001	1.88
2',3,4,4',5'-PeCB (123)	279	327.23	251.71	5.00	1425.80	0.0001	0.03
2,3,3',4,4',5'-HxCB (156)	279	32785.13	37225.65	979.83	287429.76	0.0005	16.39
2,3,3',4,4',5'-HxCB (157)	279	9260.47	10998.22	275.84	92578.68	0.0005	4.63
2,3',4,4',5,5'-HxCB (167)	279	3921.65	2989.28	343.68	16221.25	0.0001	0.04
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (189)	279	4052.29	4079.53	132.80	31159.84	0.0001	0.41
Total-PCDD	359	902.58	559.58	181.05	6268.57		
Total-PCDF	359	264.26	350.98	12.10	2758.78		
Total-PCDD-PCDF	359	1166.85	673.17	231.90	6345.99		
T-PCDDs-TEQ	359	18.89	10.25	2.73	77.02		
T-PCDFs-TEQ	359	96.81	129.01	1.93	1023.49		
Total-TEQ	359	138.86	147.60	6.81	1183.91		

\* PeCDF は、2,3,4,4',7,8-pentachlorodibenzofuran の略語である。

表 3 各検査項目の平均値と、三元配置分散分析の結果一覧

	有効 度数	平均値	平均値の 標準誤差	標準偏差	最小値	最大値	三元配置分散分析 有意確率
検診票							
PCB 濃度	353	3.14	0.13	2.45	0.00	25.10	0.000**
ピーク 2	329	0.58	0.03	0.45	0.00	2.80	0.000**
尿糖	356	1.19	0.04	0.68	1.00	5.00	0.027**
血沈 2 時間	335	23.96	0.93	17.05	2.00	111.00	0.020**
チモール	330	3.62	0.25	4.50	0.30	31.55	0.039**
Na	359	141.25	0.08	1.60	136.00	145.50	0.040**
内科検診							
頻度 26	164	1.35	0.04	0.45	1.00	2.00	0.031**
しびれ感	358	1.75	0.03	0.64	1.00	3.00	0.008**
体重	359	56.16	0.52	9.89	36.00	90.00	0.038**
肝胆脾エコー	224	1.60	0.03	0.45	1.00	2.00	0.011**
皮膚科検診							
最近の化膿傾向	357	1.21	0.02	0.37	1.00	2.00	0.047**
最近の粉りゅう再発傾向	357	1.26	0.02	0.41	1.00	2.00	0.015**
かっつてのざ瘡様皮疹	357	1.57	0.02	0.47	1.00	2.00	0.024**
かっつての色素沈着	354	1.45	0.02	0.46	1.00	2.00	0.008**
黒色面皰 (軀幹)	357	1.29	0.03	0.58	1.00	4.00	0.000**
黒色面皰 (その他)	310	1.11	0.03	0.45	1.00	4.00	0.002**
ざ瘡様皮疹 (外陰部)	358	1.18	0.03	0.50	1.00	4.00	0.007**
ざ瘡様皮疹 (臀部)	356	1.16	0.03	0.51	1.00	5.00	0.044**
癬痕化 (軀幹)	358	1.30	0.03	0.64	1.00	4.00	0.007**
爪変形	358	1.34	0.03	0.62	1.00	4.00	0.027**
歯科検診							
上歯肉色素沈着の性状 (びまん性)	294	0.15	0.02	0.33	0.00	1.00	0.045**
口蓋粘膜の色素沈着の性状 (斑点状)	294	0.00	0.00	0.06	0.00	1.00	0.027**

&lt;三元配置分散分析有意確率の欄について&gt;

三配置分散分析は、Total PCDF 値の対数値を従属変数に、性及年齢を常に固定変数にして、この他に検診項目における各症状の有無をもう一つの固定因子として行った。

\*\*有意確率&lt;0.05 で、交互作用がないもの

\*有意確率&lt;0.10 で、交互作用がないもの



表 4 現在の油症患者の症状・徴候の有所見率と、慢性期油症診断基準に合致あるいは関連すると症状や徴候の有所見率の比較

症状・徴候	2001年～2003年			<参考；1988年データ>*		
	有所見率	症状有	受診者	有所見率	症状有	受診者
<b>内科検診</b>						
全身倦怠感	62.1%	221	356	76.1%	194	255
頭重頭痛	52.9%	189	357	67.3%	173	257
咳嗽	39.2%	140	357	51.0%	131	257
喀痰	42.6%	152	357	52.0%	133	256
腹痛	27.5%	98	357	43.2%	111	257
下痢	31.5%	112	356	42.0%	108	257
四肢しびれ感	53.6%	192	358	61.9%	159	257
月経異常	17.5%	20	114	19.3%	16	83
呼吸音	1.4%	5	354	2.7%	7	257
肝腫	0.6%	2	352	7.8%	20	257
脾腫	0.0%	0	352	0.0%	0	256
四肢感覚異常	10.3%	36	350	7.5%	19	253
肝胆脾エコー	50.9%	114	224	33.7%	60	178
<b>皮膚科検診</b>						
化膿傾向	15.4%	55	357	16.6%	41	247
かつての痤瘡様皮疹	51.5%	184	357			
かつての色素沈着	37.9%	134	354			
黒色面皰（顔面）	6.7%	24	358	12.1%	31	256
黒色面皰（耳介）	5.6%	20	358	7.4%	19	256
黒色面皰（軀幹）	5.3%	19	357	11.8%	30	254
黒色面皰（その他）	3.5%	11	310	2.9%	4	139
痤瘡様皮疹（顔面）	5.3%	19	358	4.7%	12	255
痤瘡様皮疹（外陰部）	3.4%	12	358	4.7%	12	256
痤瘡様皮疹（臀部）	3.1%	11	356	3.5%	9	255
痤瘡様皮疹（軀幹）	3.4%	12	358	6.3%	16	255
痤瘡様皮疹（その他）	1.0%	3	309	1.5%	2	136
色素沈着（顔面）	2.5%	9	358	2.7%	7	256
色素沈着（指爪）	2.8%	10	358	2.3%	6	256
色素沈着（趾爪）	3.6%	13	358	6.3%	16	256
色素沈着（その他）	1.0%	3	301	0.0%	0	132
爪変形	7.3%	26	358	10.3%	26	253
<b>眼科検診</b>						
眼脂過多	16.0%	57	356	15.3%	38	249
眼瞼浮腫	0.8%	3	356			
眼瞼結膜色素沈着	1.4%	5	356	4.4%	11	248
瞼板腺嚢胞形成	1.7%	6	356	12.0%	30	249
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	1.4%	5	348	4.6%	9	196

\*：&lt;参考；1988年データ&gt;は、油症研究30年の歩み 第8章 表8.1.より

た。皮膚科検診項目と眼科検診項目の有所見率は、1988年から2001年-2003年にかけて低下していた。

## 考 察

カネミ油症については、事件発生直後の1968年より、国の研究班によりその原因物質の解明と治療方法等の研究が行われているが、近年、その研究成果として、通常の採血とほぼ同量の血液で、血中ダイオキシン類の測定が可能となった<sup>10)~12)</sup>。そこで、従来から油症患者の各種症状との関連の可能性が示唆されていた、ダイオキシン類と各種臨床症状の関連性について分析を行うことが可能となった<sup>4)5)</sup>。

今回の研究の結果、油症患者における平均的な血中ダイオキシン類濃度が明らかになり、2,3,4,7,8-PeCDFは177.50 pg/g lipids, Total PCDFは

264.26 pg/g lipids と、いずれも正常群 (n=52, 15.2 pg/g lipids) に比べて明らかに高値を示していた。血中 PeCDF の体内からの排泄速度等<sup>3)4)</sup>を考慮した場合、急激な減少は考えにくいことから、油症事件発生後33年が経過した後の現在においても、油症患者の血中には、高濃度の PeCDF が残存しているものと推察された。

汚染された米糠油からは、PCBsが920 ppm, PCDFsが5 ppm含まれていることが知られている<sup>1)</sup>。さらに、全体の平均ではPCBsが633 mg, PCDFsが3.4 mg摂取されている<sup>1)</sup>。特にPCDFsの内でも、PeCDFがTEQ換算で69%の毒性を占める主な有毒物質であることが判明している。油症事件発生時の血中ダイオキシンのTEQ濃度は、40000-60000 TEQ pg/g lipids程度であるとされている<sup>1)</sup>。

内科検診において実際に診察や検査を行う血圧、

聴診(心音,呼吸音), 腱反射, 胸部レントゲン検査, 心電図検査では, 患者代表値の平均値で異常値を示したものはないが, 問診においては, 「主訴の有無」では「有」が多い傾向にある。具体的には, 受検者の50%以上が「全身倦怠感」, 「頭重・頭痛」, 「四肢しびれ感」を, 40%前後が「咳嗽」, 「喀痰」を訴えている。さらに, 血中 PeCDF 濃度と内科検診項目との分散分析の結果, 便秘の頻度, 四肢しびれ感, 自覚症その他, 体重, 肝胆脾エコーの5項目が有意確率0.05未満を示した。腹部エコー所見(肝のう胞など)は, 1988年よりも増加しており, 有所見率が50%を超えていた。

血液検査や尿検査などの検診票関連項目では, PCB濃度, ピーク2, 尿糖, 血沈2時間値, チモール, Na, AFPは, PeCDF濃度との分散分析の結果, 有意確率0.05未満を示しており, PeCDF濃度との関連は示唆されるものの, 尿検査や血液検査の平均値はいずれも正常範囲内であり, 事件発症から30年以上が経過したことにより, 血液検査データにおいては, 血中 PeCDF 濃度以外は, 特徴的な症状を示しにくくなっていることが伺われた。皮膚科検診項目では, 現在では明らかな皮膚症状を呈しにくくなっていた。PeCDF濃度との分散分析の結果, 最近の化膿傾向, 最近の粉りゅう再発傾向, かつてのざ瘡様皮疹, かつての色素沈着, 黒色面皰(軀幹), 黒色面皰(その他), ざ瘡様皮疹(外陰部), ざ瘡様皮疹(臀部), 癬痕化(軀幹), 爪変形の10項目で有意確率0.05未満を示している。様々な皮膚症状は, 塩素系化合物による症状として事件発生当初に観察され, 油症診断基準にも含まれているが, 1988年から2001年・2003年の間にその有所見率は低下していた。

歯科検診項目についての分散分析では, 「上歯肉の色素沈着」と, 「口蓋粘膜の色素沈着」で有意確率0.05未満を示したが, 眼科検診項目では, 有意確率0.05未満を示した項目はなく, 皮膚科, 歯科所見と同様に時間経過と共に症状が軽快していることが示唆された。

一方で, 油症患者における事件発症後20年目の1988年には, 60%以上の有所見率であった「全身倦怠感」, 「頭重・頭痛」, 「四肢しびれ感」は<sup>1)13)14)</sup>, 漸減したものの現時点でも50%以上が所見有りとされ, 40%前後が「咳嗽」, 「喀痰」が有ると訴えている。これらは, 慢性期の症状とし

て持続しているものと考えられる。

2,3,4,7,8-PeCDFの摂取直後の最初の15年間における平均的な半減期は2.9年で, その次の15年間の半減期は7.7年とされている<sup>1)</sup>。PeCDF濃度などの塩素系化合物の血中濃度は依然として高値を示していることから, 今後これらの追跡調査を行うことが必要と考えられる。

平成16年9月には, 血中 PeCDF 濃度が油症診断基準に参考として追加された<sup>2)</sup>。事件発生後の時間経過により血中 PeCDF 濃度は高値を示すものの, 自覚症状以外の診察所見や検査所見は軽快傾向に有り, 一般人とほぼ同様となっていることから, 原因物質を摂取した証拠として, 血中 PeCDF 濃度が参考になるものと考えられる。

## 謝 辞

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

## 参 考 文 献

- 1) Yusho-A human disaster caused by PCB and related compounds. Edited by Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura m, Matsuda Y. 1996, Kyushu University Press, Fukuoka.
- 2) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M: Overview of Yusho. Journal of Dermatological Science Supplement 1: S3-S10, 2005.
- 3) 山口直人, 金子聰: 「油症患者における発癌性の評価に関する研究」ならびに「油症における健康評価に関する研究」. 厚生労働科学研究 平成13・14年度総合研究報告書, 平成14年度総括・分担研究報告書.
- 4) 今村知明, 神奈川芳行: 「PCDFs値を測定したカネミ油症患者(2001年78名, 2002年279名)の臨床症状等との相関関係に関する研究」. 厚生労働科学研究 平成15年度総括・分担研究報告書.
- 5) Kanagawa Y and Imamura T: Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood serum levels of PCDFs in patients with Yusho. Journal of Dermatological Science Supplement 1: S85-S93, 2005.
- 6) Uenotsuchi T, Nakayama J, Asahi M, Kohro O, Akimoto T, Muto M, Shimizu K, Katayama I, Kanzaki T, Kanagawa Y,

- Imamura T and Furue M: Dermatological manifestations in Yusho: correlation between skin symptoms and blood levels of dioxins, such as polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs): Journal of Dermatological Science, Supplement 1: S 73-S 80, 2005.
- 7) Uenotsuchi T, Lio Y, Tadakuma S, Haraduka R, Kanagawa Y, Imamura T and Furue M: Sex ratio in the children of Yusho patients. Journal of Dermatological Science, Supplement 1: S 81-S 83, 2005.
- 8) 上ノ土武, 飯尾靖枝, 只能幸代, 原塚柳子, 神奈川芳行, 今村知明, 古江増隆: 油症患者から出生した児の性比について: 福岡医学雑誌: 96 (5) 183-184, 2005.
- 9) 上ノ土武, 古江増隆, 中江樹一郎, 旭正一, 神奈川芳行, 今村知明: 2003, 2004 年度の福岡県年次検診による皮膚症状: 福岡医学雑誌: 96 (5) 216-219, 2005.
- 10) 飯田隆雄, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和夫, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年): 福岡医学雑誌 94 (5): 126-135, 2003.
- 11) 戸高尊, 平川博仙, 飛石和夫, 飯田隆雄: ヒト血液中ダイオキシン類分析の超高感度ならびに迅速化に関する検討: 福岡医学雑誌 94 (5): 148-57, 2003.
- 12) Masuda Y: Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. Journal of Dermatological Science, Supplement 1: S 11-S 20, 2005.
- 13) Yoshimura T: Yusho in Japan. Ind Health. 41 (3): 139-148, 2003.
- 14) Masuda Y: Fate of PCDF / PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. Chemosphere. 43 (4-7): 925-930, 2001.  
(受付 2007-4-3)

## 用語解説

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

## 尿中ジアセチルスペルミンと油症に関する検討

<sup>1)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>2)</sup>九州大学大学院医学研究院 予防医学分野

柴田 智子<sup>1)</sup>, 徳永 章二<sup>2)</sup>, 古江 増隆<sup>1)</sup>

### Estimation of Urinary Diacetylspermine in Yusho Patients

Satoko SHIBATA<sup>1)</sup>, Shoji TOKUNAGA<sup>2)</sup> and Masutaka FURUE<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan*

<sup>2)</sup> *Department of Preventive Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan*

**Abstract** Polychlorinated biphenyls (PCBs) are known to cause the release of superoxide during the metabolic process. Therefore, it is suggested that the Yusho patients are exposed to oxidative stress caused by high concentrations of PCBs are still recorded in their serum. Recently, diacetylspermine (DiAcSpm) has been proposed as tumor markers or barometer of oxidative stresses. In order to estimate the ability of urinary DiAcSpm as a potential marker of dioxin or PCB exposure, we measured urinary DiAcSpm in Yusho patients and assessed the association of DiAcSpm with serum PCBs and dioxins levels. The statistical analysis did not indicate that urinary DiAcSpm is useful for detection of exposure to PCBs or dioxins, although a few Yusho patients showed high level of DiAcSpm.

### はじめに

1968年カネミ油症事件発生後38年が経過し、初期に認められた激しい症状はほとんどの患者で認められなくなっている。しかし、皮膚症状に関しては未だに化膿傾向を認める患者も少なからず存在し、二極化の傾向にある。油症の原因であるカネミオイルにはPolychlorinated biphenyls (PCB), Polychlorinated quarterphenyls (PCQ) 及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF) を含むダイオキシン類の混在している事が判明し、近年ダイオキシン類の微量濃度測定が可能になった事により油症患者認定の新たな認定基準として追加されている<sup>1)</sup>。PCBはその代謝過程において superoxide を産生する事が報告されており<sup>2)</sup>、PCB高値を示す油症患者は酸化ストレスを長期間受け続けていることになる。実際に、清水らは油症患者尿中の脂質酸化ストレスのマーカーであ

る8-Isoprostaneが有意に高い事を報告している<sup>3)</sup>。

ポリアミンと総称される複数のアミノ基をもつ一群のアルキルアミンは、ヒトの体内に4種類存在し、さらにモノおよびジアセチル体がある。多価カチオンであるポリアミンは、核酸その他のアニオンとの相互作用を通じて蛋白質合成や核酸合成の過程に影響を与えることが知られている。活発に増殖する組織にはポリアミンが多量に含まれ、またそのような組織ではポリアミン代謝が活発であるため、ポリアミンは細胞増殖およびその制御の過程で重要な役割を果たす物質の一つであると考えられている。一般に癌患者や炎症性疾患患者、創傷治癒過程、酸化状態などでは尿中で高値を示すことが知られており、特にジアセチルスペルミン (DiAcSpm) の尿中レベルが悪性腫瘍との関連性が高いことが報告されている<sup>4)</sup>。油症患者では先に述べたように体内に蓄積するPCBにより superoxide が産生され、慢性的な酸化状態にあると考えられている<sup>2)</sup>。また悪性腫瘍の発生頻度も高いのではないかと危惧されている。尿検体の採取は患者の痛みを伴わず、しかも簡便であり、検

Address for Correspondence: Satoko SHIBATA  
Department of Dermatology Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan  
E-mail: sstatoko@med.kyushu-u.ac.jp



診においても導入が可能である。そこで本研究では油症検診を受診した油症認定患者に対し、同意を得られた患者の尿中ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) を測定し、ダイオキシン血中濃度ならびに生化学的検査項目に対する関連を検討し、ダイオキシン曝露の新しいマーカーとなりうるかを検討した。

## 研究方法

### <対象者>

2005年9月3日から10月1日に福岡県で行われた油症検診において、従来の検診項目及び血中ダイオキシン類の他、尿中ジアセチルスペルミン濃度 (以下、DiAcSpm濃度) を測定した。調査は全体で129名について行われたが、その中の認定患者85名について統計解析を行った。ダイオキシン類、生化学検査値は2005年度測定値であるが、1人のみはダイオキシン類レベルが未測定であったため、2003年度の値を用いた。

平均年齢 (SD) は、66.0 (11.7) 歳、最小、最大値はそれぞれ、37, 89歳であった。対象者85名の性、年齢構成を表1に、解析対象のDiAcSpm濃度、ダイオキシン類レベル (血液脂質中濃度)、

生化学検査値を表2に示す。

### <尿採取方法>

配布した紙カップに尿を採取し、PP製ピペットで3回吸引し、15 ml 容量のFALCONチューブに蓄尿した。採取後のチューブは速やかに-20°Cで測定時まで凍結した。

### <ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) 測定法>

ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) に特異的な抗体を用いた競合ELISA法により、尿中のDiAcSpmを測定し、クレアチニン補正をおこなった。

### <解析方法>

DiAcSpm濃度とダイオキシン類レベル及び生化学検査値との関連を多重線形回帰モデルを用いて解析した。性は男女の2値、年齢は3段階 (59歳以下, 51-59歳, 60歳以上) のダミー変数として調整した。ダイオキシン類レベル及び生化学検査値で偏りの大きなものは対数変換を行って回帰した。

表1 性年齢構成

年齢	男性	女性
37-39	2	1
40-49	2	4
50-59	7	6
60-69	7	17
70-79	16	16
80-89	2	5
計	36	49

表2 生化学検査値

検査項目	平均	SD	最小~最大値
DiAcSpm 補正值 (nM/g・Cre)	186.1	116.4	55~951
2,3,4,7,8-PeCDF	214.4	250.3	3~1284
3,3',4,4',5-PeCB (#126)	76.5	47.9	5~234
3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	158.0	121.8	12~644
AST (U/L)	24.8	15.0	14~137
ALT (U/L)	23.9	18.9	8~139
LDH (U/L)	205.8	34.6	140~328
g-GTP (U/L)	37.6	33.8	11~178
Cr (mg/dl)	0.75	0.18	0.46~1.42
Amy (U/L)	108.0	38.8	46~268
UA (mg/dl)	5.32	1.34	2.0~9.9
T-Cho (mg/dl)	203.2	35.1	130~282

表3 性・年齢で調整した多重直線回帰による回帰係数

説明変数	回帰係数* (95%信頼区間)	両側P値
log <sub>10</sub> (2,3,4,7,8-PeCDF)	-0.009 (-0.082~0.064)	0.81
log <sub>10</sub> (3,3',4,4',5-PeCB (#126))	-0.041 (-0.193~0.110)	0.59
log <sub>10</sub> (3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169))	0.036 (-0.095~0.166)	0.59
log <sub>10</sub> (AST (U/L))	0.135 (-0.133~0.403)	0.32
log <sub>10</sub> (ALT (U/L))	0.073 (-0.118~0.265)	0.45
log <sub>10</sub> (LDH (U/L))	-0.335 (-0.964~0.295)	0.29
log <sub>10</sub> (g-GTP (U/L))	0.025 (-0.142~0.192)	0.77
log <sub>10</sub> (Cr (mg/dl))	-0.407 (-0.945~0.132)	0.14
log <sub>10</sub> (Amy (U/L))	-0.114 (-0.407~0.179)	0.44
UA (mg/dl)	-0.027 (-0.062~0.007)	0.12
T-Cho (mg/dl)	-0.00025 (-0.00155~0.00106)	0.71

\* 説明変数の1増加に伴う log<sub>10</sub> (スペルミン濃度) の変化

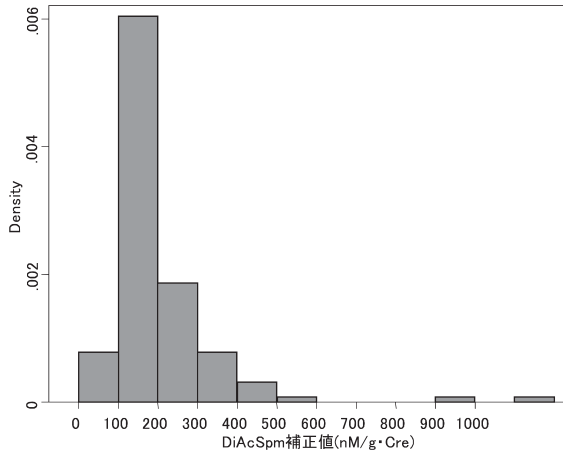


図 1 a 尿中ジアセチルスペルミンの分布

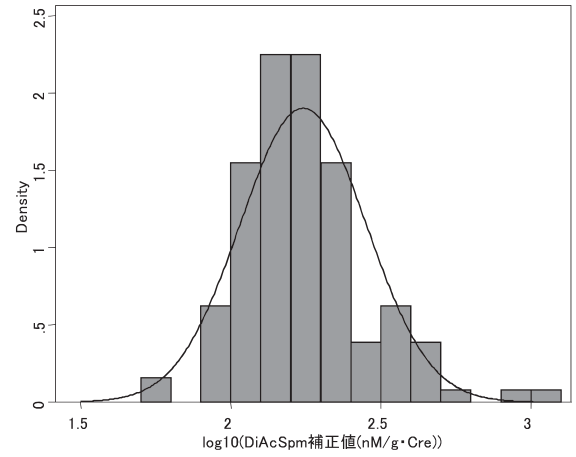


図 1 b 尿中ジアセチルスペルミンの分布

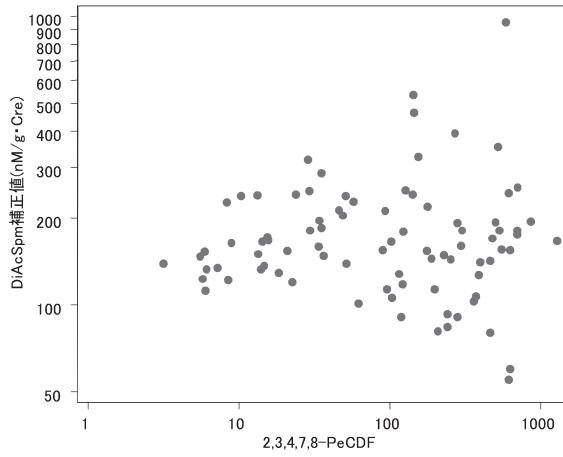


図 2 a 尿中ジアセチルスペルミンと PeCDF

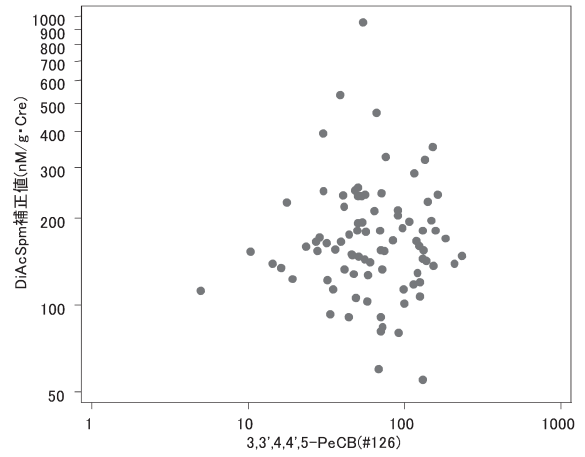


図 2 b 尿中ジアセチルスペルミンと PCB

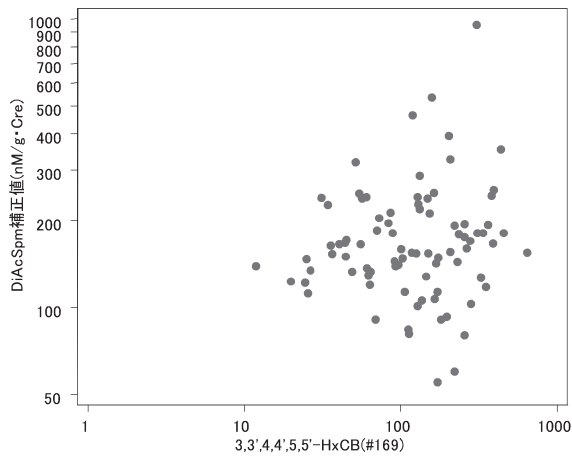


図 2 c 尿中ジアセチルスペルミンと HxCB

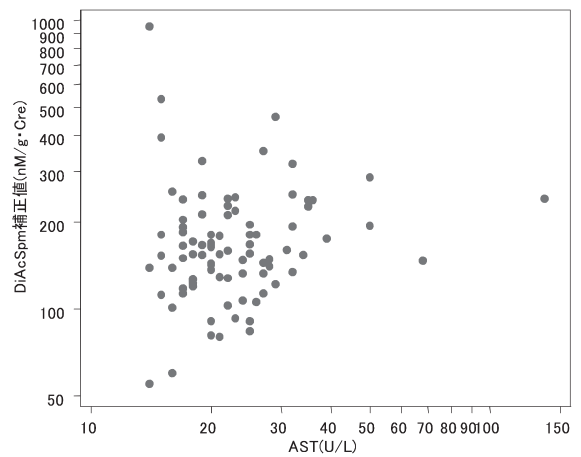


図 2 d 尿中ジアセチルスペルミンと AST

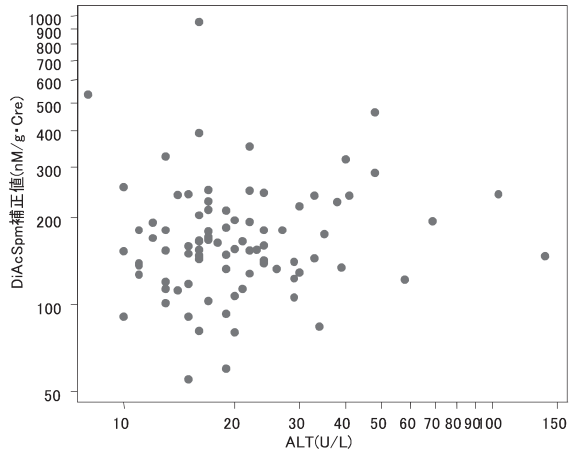


図 2 e 尿中ジアセチルスペルミンと ALT

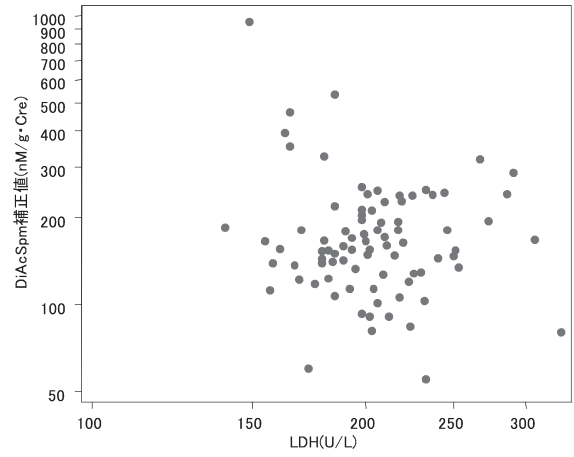


図 2 f 尿中ジアセチルスペルミンと LDH

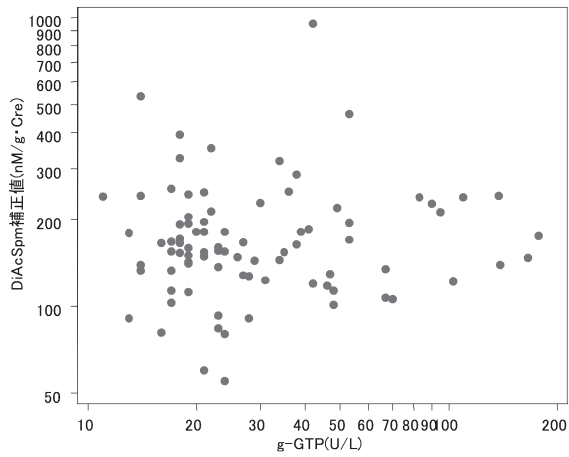


図 2 g 尿中ジアセチルスペルミンと  $\gamma$ -GTP

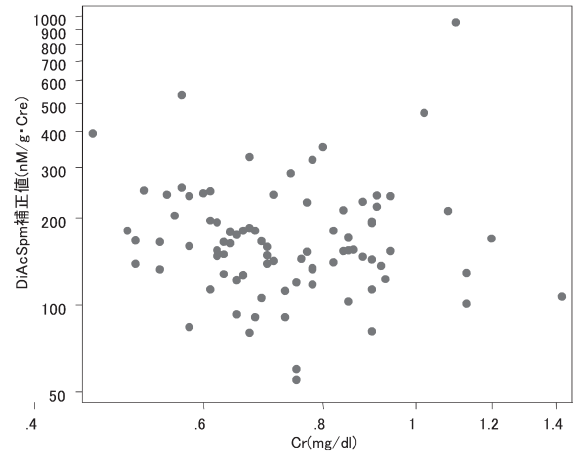


図 2 h 尿中ジアセチルスペルミンとクレアチニン

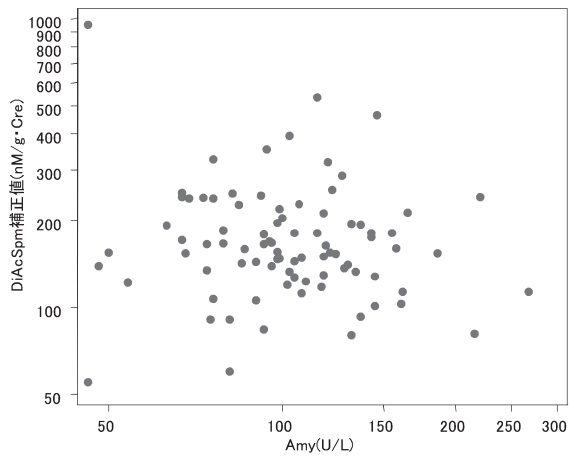


図 2 i 尿中ジアセチルスペルミンとアミラーゼ

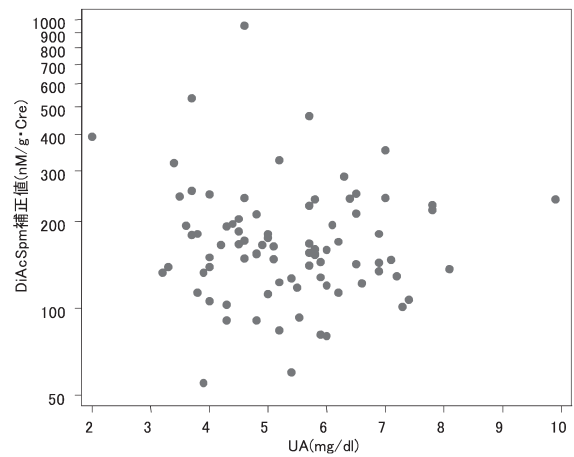


図 2 j 尿中ジアセチルスペルミンと尿酸

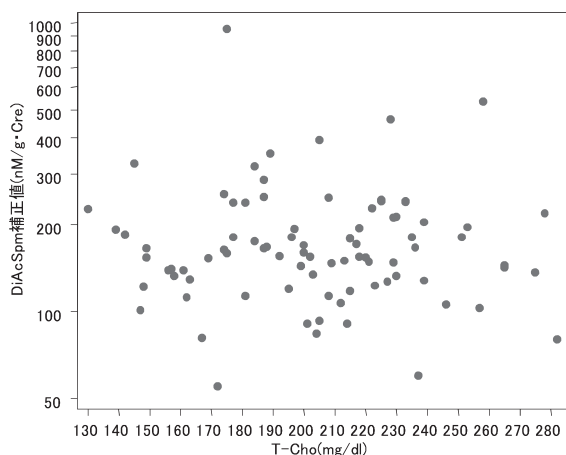


図2k 尿中ジアセチルスペルミンとコレステロール

## 結 果

尿中ジアセチルスペルミン (DiAcSpm) 濃度の平均値は 186 nM/g・Cre, 最大値 951 nM/g・Cre, 最小値 55 nM/g・Cre であった。85 名の測定値の分布を図 1 に示す。正常値は男性で 243 (nM/g・Cre) 以下, 女性 354 (nM/g・Cre) 以下とした。図 1 に示すように, ほとんどが正常値以下の結果であった。解析対象のダイオキシン類レベル (血液脂質中濃度), 生化学検査値を表 2 に示し, 各検査項目と DiAcSpm 濃度の散布図を図 2 に示す。表 3 に回帰解析の結果 (性・年齢調整回帰係数) を示す。表 3 に示すように, 尿中 DiAcSpm 濃度と, 今回解析されたダイオキシン類及び生化学検査値との関連は, いずれも統計学的に有意ではなかった。

## 考 察

ポリアミンは核酸その他の物質との広汎な相互作用を通じて蛋白質合成, 核酸合成の過程に影響を与え, 細胞増殖およびその制御に重要な役割を果たすと考えられている。活発に増殖する組織における代謝活性化を反映して, 癌患者においては尿中ポリアミン排泄量が増加する傾向が認められる<sup>4)</sup>。その中でも N1, N12-ジアセチルスペルミン, N1, N8-ジアセチルスペルミジンという 2 種類のジアセチルポリアミン (DiAcSpm) は健常者の尿中にはごく僅かしか存在しないが, 尿路悪性腫瘍 (前立腺癌, 腎癌, 精巣腫瘍など) の患者の尿中で高頻度に, また著明に上昇することがわかった<sup>5)6)</sup>。一方, 大腸癌について, 腫瘍マーカー

としての DiAcSpm, CEA の陽性率を検討したところ, いずれの病期においても DiAcSpm は CEA よりも高い陽性率を示し, 特に, stage 0 および stage I の比較的早期の癌に対しては DiAcSpm の陽性率は CEA の 6 倍であったと報告され<sup>7)</sup>, その他の癌についても腫瘍マーカーになりうると期待されている。油症患者においては, 先に述べたように慢性的に酸化状態にあるとされ, 以前より癌の発生が危惧されている。本研究では福岡県の 85 名を解析対象としたが, 正常値以上を示した症例はわずかに 7 名であり, 血液中 PCB, やダイオキシン類との関連は認められなかった。

## 参 考 文 献

- 1) 油症の健診と治療の手引き 2004 全国油症治療研究班・追跡調査班。
- 2) Oakley GG, Devanaboyina U, Robertson LW and Gupta RC: oxidative DNA damage induced by activation of polychlorinated biphenyls (PCBs): implications for PCB-induced oxidative stress in breast cancer. *Chem. Res. Toxicol.* 9, 1285-1292, 1996.
- 3) Shimizu k et al Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. *J Appl. Toxicol.* 2006 Dec 22; [Epub ahead of print].
- 4) Russell, DH: Increased polyamine concentrations in the urine of human cancer patients. *Nature New Biol.* 233, 144-145, 1971.
- 5) Hiramatsu, K, Sugimoto M, Kamei S, Hoshino M, Kinoshita K, Iwasaki K and Kawakita M: Determination of amounts of polyamines excreted in urine: demonstration of N1, N8-diacetylspermidine and N1, N12-diacetylspermine as components commonly occurring in normal human urine. *J. Biochem.* 117, 107-112, 1995.
- 6) Sugimoto, M, Hiramatsu K, Kamei S, Kinoshita K, Hoshino M, Iwasaki K and Kawakita M: Significance of urinary N1, N8-diacetylspermidine and N1, N12-diacetylspermine as indicators of neoplastic diseases. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 121, 317-319, 1995.
- 7) 高橋慶一, 平松恭子, 川喜田正夫, 森武生, 山口達郎, 松本寛, 宮本英典, 玉森佳子: 臨床病理 52, 332-335, 2004.

(受付 2007-4-2)

## 油症認定患者血中 Total Antioxidant Power の検討

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

清水和宏, 小川文秀, 佐藤伸一

### Estimation of Total Antioxidant Power in the Serum of Yusho Victims

Kazuhiro SHIMIZU, Fumihide OGAWA and Shinichi SATO

*Department of Dermatology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1, Sakamoto, Nagasaki, 852-8501, JAPAN*

**Abstract** Polychlorinated biphenyls (PCB) causes the release of superoxide during the metabolic process. Therefore, Yusho victims are thought to be exposed to oxidative stress caused by PCB, because high concentrations of PCB are still detected in the serum of Yusho victims. Recently, total antioxidant power (TAP) has been proposed as one of excellent markers of defense capacity against oxidative stresses. In order to estimate the antioxidant capacity in Yusho victims, we measured serum TAP in certified Yusho victims and age-matched non-certified subjects. The mean values of serum TAP were  $0.479 \pm 0.017$  in certified Yusho victims and  $0.397 \pm 0.013 \mu\text{M}$  in non-certified subjects, respectively. There was a significant difference in the serum values of TAP between certified Yusho victims and uncertified subjects. TAP was reported to increase in the case of severe oxidative stress and PCB can give rise to an oxidative stress in Yusho victims. Therefore, it was supposed that TAP could increase in the oxidative stress of Yusho probably by some negative feedback mechanisms. The exact mechanism is still unclear, and further examinations should be conducted in the future.

#### はじめに

1968年カネミ油症事件発生後35年以上経過し、初期に認められた激しい症状はほとんど認められなくなっている。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB), Polychlorinated quarterphenyls (PCQ) 及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF) を含む dioxin 類の混在している事がわかってはいたが、近年 dioxin 類の微量濃度測定が可能になった事により油症患者認定の新たな認定基準として追加されている<sup>1)</sup>。PCBはその代謝過程において superoxide を産生する事が報告されており<sup>2)</sup>、PCB高値を示す油症患者は酸化ストレスを長期間受け続けていることになる。実際我々は油症患者尿中に脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane が有意に高い事を報告している<sup>3)</sup>。今回は酸化ストレスに対する予備能の指標として Total Antioxidant Power (TAP) を選択し血中の値を測定する事により油症患者の酸化ストレスに対す

る状況を評価すべく検討した。

#### 研究方法

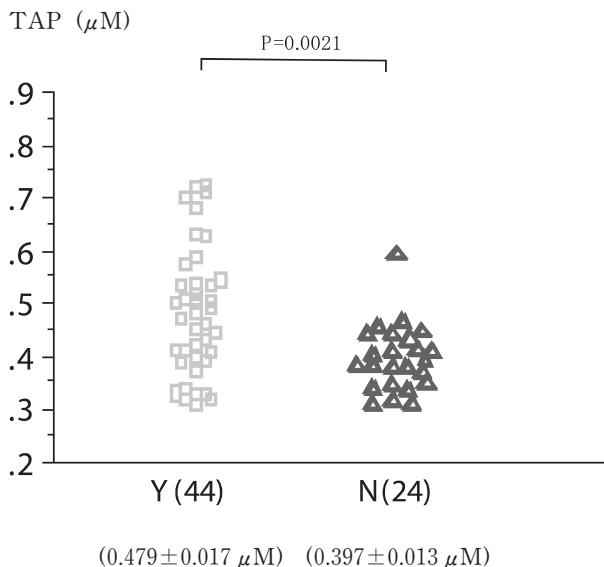
①対象：2005年7月の長崎玉之浦地区油症検診受診者のうち同意を得られた認定患者44名及び未認定患者24名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し TAP 測定用サンプルとした。

②血中 TAP 値測定：血中 TAP 値は Colorimetric Microplate assay for Total Antioxidant Power (OXFORD BIOMEDICAL RESEARCH 社) を用いて測定した。

③統計的処理：測定した TAP 値を Mann-Whitney's U test にて検討した。

#### 研究結果

長崎、玉之浦より油症患者44名、未認定患者24名の平均年齢は各々  $71.3 \pm 1.1$  及び  $65.6 \pm 2.6$  才で有意差を認めなかった。血中 TAP 値は各々  $0.479 \pm 0.017$  及び  $0.397 \pm 0.013 \mu\text{M}$  で油症認定患者と未認定患者間に有意差を認めた。



### 考 察

TAP は血清中の抗酸化酵素や抗酸化物質の総和として酸化ストレスに対する防御能がどの程度あるかを  $\text{Cu}^{++}$  を  $\text{Cu}^{+}$  に還元する事によって測定するものである。よっておおまかな酸化ストレスに対する防御能を知る目安になるものと考えられる。以前我々は玉之浦地区油症患者において脂質酸化のマーカーである 8-Isoprostane 値の有意な高値を尿で確認し、油症が慢性酸化ストレスである事、その上昇が PCB に起因している可能性を報告した。今回油症認定患者血清中の TAP が未認定患者より有意に高い事を確認したが、antioxidant の中でどの要素がどの程度関与して TAP の有意な上昇にむすびつたのかは不明である。すでに種々の酸化ストレスにおいて血清 TAP の変化が報告されている<sup>4)</sup>。Chuang らは敗血症において血清 TAP の有意な上昇を確認し死亡例において更なる上昇を報告している<sup>5)</sup>。彼らはその上

昇のメカニズムの可能性として compensating mechanism をあげている。油症認定患者における有意な上昇も何らかの negative feedback mechanism が働きその結果有意な上昇に帰結した可能性が考えられる。今回の検討においても油症認定患者における antioxidant condition の異常が確認された事になり、油症は慢性酸化ストレス状態であるという事を裏付ける証拠と考えられる。更なる検討が油症患者の QOL 向上に繋がる様に役立てていきたい。

### 参 考 文 献

- 1) 油症の健診と治療の手引き：全国油症治療研究班・追跡調査班，2004。
- 2) Oakley GG, Devanaboyina U, Robertson LW and Gupta RC: Oxidative DNA Damage Induced by Activation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications for PCB-Induced Oxidative Stress in Breast Cancer. *Chem. Res. Toxicol.*, 9: 1285-1292, 1996.
- 3) Shimizu k, Ogawa F, Thiele JJ, Bae SJ and Sato S: Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. *J Appl. Toxicol.* 2006 Dec 22; [Epub ahead of print]
- 4) Martin-Galllan P, Carrascosa A, Gussinye M and Dominquez C: Estimation of lipoperoxidative damage and antioxidant status in diabetic children: relationship with individual antioxidants. *Free Radic. Res.*, 2005 39 (3): 933-942, 2005.
- 5) Chuang C-C, Shiesh SC, Chi CH, Tu YF, Hor LI, Shieh CC and Chen MF: Serum total antioxidant capacity reflects severity of illness in patients with severe sepsis. *Crit. Care* 10 (1), [Epub] 2006.

(受付 2007-4-3)



## カネミ油症検診者の血清アルドラーゼ

<sup>1)</sup> 全国カネミ油症研究班

<sup>2)</sup> 長崎大学医歯薬学総合研究科 保健学専攻

吉村俊朗<sup>1)2)</sup>, 中野治郎<sup>2)</sup>, 片岡英樹<sup>2)</sup>

### Decreased Serum Aldolase Levels in Yusho

Toshiro YOSHIMURA<sup>1)2)</sup>, Jiro NAKANO<sup>2)</sup> and Hideki KATAOKA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> *The Study Group for Yusho is supported by the Ministry of Health, Welfare and Labor, Japan.*

<sup>2)</sup> *Department of Health Sciences, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University*

**Abstract** We measured serum aldolase levels in Yusho sufferers annually between the years 2000 and 2005. We observed a decrease in serum aldolase levels in 47.7% of the patients studied. We researched the relations among serum aldolase, serum creatine kinase, blood polychlorinated biphenyls, blood polychlorinated quaterphenyls, blood polychlorinated dibenzofurans and toxic equivalent quantity statistically. We conclude that a high concentration of blood polychlorinated biphenyls might play a role in the decrease of serum aldolase levels in Yusho sufferers.

### はじめに

1968年、熱交換目的に使用されていた塩化ビフェニル (polychlorinated biphenyls : PCBs) が米ぬか油に混入し、西日本の広範囲に食中毒として油症が発生した<sup>1)</sup>。また、米ぬか油の製造工程での高熱処理によって PCBs と塩素化ベンゼンは熱分解され、ポリ塩化ジベンゾフラン (polychlorinated dibenzofurans ; PCDFs) やポリ塩化ジベンゾダイオキシン (polychlorinated dibenzo-p-dioxins ; PCDDs) が生成される。汚染された米ぬか油には、PCBs やコプラナー PCB だけでなく、ポリ塩化クアターフェニール (polychlorinated quaterphenyl ; PCQ), PCDFs, PCDDs およびそれらの関連物質も含まれていた。

これまでに我々は、カネミ油症検診者では血清クレアチン・キナーゼ (以下、血清 CK) 値の上昇や血清アルドラーゼ (以下、血清 ALD) 値の低下が高頻度に認められることを報告した<sup>2)</sup>。そして血清 CK 値の上昇は、運動量もしくは BUN 等と

相関が認められていて、血中 PCBs 濃度高値がその要因の一つである可能性を報告してきた<sup>3)~5)</sup>。

今回、カネミ油症検診者の血液を 2000 年から 2005 年の期間、調査し、個々人の血清 ALD の経過と変動、ならびに血清 CK との関連性、血液 PCBs, PCQ, PCDFs 濃度、などとの関係を検討したので報告する。

### 対象と方法

2000 年～2005 年までのカネミ油症検診者のうち、血清 ALD を 4 回以上測定した 73 名 (男性 24 名, 女性 49 名) を対象とした。

血清 ALD 値に基づき、次の 4 群に分類し、検討した。正常群：毎回正常範囲 (1.9～4.7 U/l) であった検診者。一時低下群 (低頻度)：1 回のみ、低値であった検診者。一時低下群 (高頻度)：少なくとも 2 回以上、低値であった検診者。低下群：毎回の検診で低値であった検診者。これら各群の血清 CK 値、血中 PCBs, PCQ, PCDFs 濃度および TEQ を比較検討した。また、地域別でも血清 ALD 値の比較を行った。長崎地区 (34 名, 延べ 115 名), 玉之浦地区 (58 名, 延べ 217 名), 奈留地区 (41 名, 延べ 111 名) の 3 つの受診地においても、血清 ALD 値, PCBs, PCQ, PCDFs 濃

Address for Correspondence: Toshiro YOSHIMURA, M.D.  
Department of Health Sciences, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University 1-7-1, Sakamoto, Nagasaki, 852-8520, Japan  
E-mail: toshiroy@nagasaki-u.ac.jp

度, TEQ を比較検討した。

### 統計学的処理

一元分散分析, PLSD の Fisher 法を適用し, 危険率 5%未満で, 各群の血清 CK 値, 血中 PCBs, PCQ, PCDFs 濃度, TEQ を比較検討した。

### 結 果

#### 1. 対象となった検診者の年齢

a) 血清 ALD を 4 回以上測定し, 対象となった検診者の平均年齢は  $68.2 \pm 9.9$  (男性  $70.5 \pm 11.5$  (41~88 歳), 女性  $67.0 \pm 9.0$  (41~88 歳)) であった。

b) 地区別での血清 ALD の比較の対象となった検診者は平均年齢  $67.8 \pm 10.3$  (男性  $68.7 \pm 12.0$  (32~82 歳), 女性  $67.4 \pm 9.5$  (40~88 歳)) であった。玉之浦地区の平均年齢は  $70.8 \pm 8.2$  (男性  $71.7 \pm 10.3$  (44~81 歳), 女性  $70.4 \pm 7.3$  (58~88 歳)), 奈留地区の平均年齢は  $68.5 \pm 9.5$  (男性  $71.2 \pm 6.6$  (58~82 歳), 女性  $66.1 \pm 11.1$  (40~78 歳)), 長崎地区の平均年齢は  $61.7 \pm 12.3$  (男性  $56.7 \pm 17.9$  (32~78 歳), 女性  $63.3 \pm 10.2$  (41~82 歳)) であった。

#### 2. 血清 ALD 値の変化と血清 CK 値

2000 年~2005 年でのカネミ油症検診者のうち, 血清 ALD を 4 回以上測定した検診者を血清 ALD 値に基づき, 4 群に分類した。対象となった検診者 73 名について検討した(表 1)。血清 ALD 値の変化に伴い各群の血清 CK 値変動の有無を検討をしたが, 有意差を認めなかった(図 1)。

#### 3. 血清 ALD 値の変化と血中 PCBs, PCQ 濃度

血清 ALD 値が常に低下している群および高頻度に低下している群の 2 群は, 血清 ALD 値に異常の無い正常群と比較し, 血中 PCB 濃度が有意に高値を示した。血中 PCQ 濃度には各群間で有意な差を認めなかった(図 2)。

#### 4. 血清 ALD 値の変化と血中 PCDFs 濃度, TEQ

血清 ALD 値が常に低下している群および高頻度, 低頻度低下しているいずれの群も, 血清 ALD 値に異常の無い正常群と比較し, 血中 PCDFs 濃度, TEQ 共に高い値を示したが, 統計学的に有意

差を認めなかった(図 3)。

#### 5. 地域別での血清 ALD 値, 血清 CK 値, PCBs, PCQ, PCDFs 濃度, TEQ の比較

長崎地区と比較し, 玉之浦地区, 及び奈留地区の血清 ALD の値は有意に低下していた(図 4)。血清 CK 値を検討すると, 男性では玉之浦地区, 奈留地区で長崎地区に比べ有意に高値を示したが, 女性では差がなかった(図 5)。また, 血中 PCBs の濃度に関しては, 玉之浦地区が最も高く, 奈留地区がこれに次ぎ長崎地区が有意に低い。PCQ の濃度も同様だが, 統計的な有意差は玉之浦地区と長崎地区でのみ認められた(図 6)。また, PCDFs 濃度および, TEQ に関して同様に検討すると, 玉之浦地区が長崎地区に比較して有意に高かった(図 7)。

### 考 察

今回, 検診の度に血清 ALD が低値を呈する群と高頻度に血清 ALD 値が低値を呈する群で, 正常群と比較して, 血中 PCBs 濃度では高値を示した。しかし, 血中 PCQ 濃度には差がなかった。また, PCDFs 濃度と TEQ は, 血清 ALD 正常群と比較し, 高くなかった。この結果からは, 血清 ALD 値の低下には, 血中 PCBs 濃度が関与していることが示唆される。

ALD は六炭糖であるフルクトース 1,6 ビスリン酸 (FDP) を開環縮合させる反応に関与したり, 肝臓においてフルクトース 1-リン酸 (F1P) を可逆的に触媒する酵素である。糖代謝において重要な役割を演じている分子量約 16 万の酵素で A, B, C の 3 種類のアイソザイムからなる<sup>6)</sup>。全ての細胞に存在しているが, 特に筋肉, 肝臓, 脳に多く存在する。それぞれ筋型である A 型, 肝臓型である B 型, 脳型である C 型に分かれる<sup>7)</sup>。A 型(筋型)はフルクトース 1,6 ビスリン酸 (FDP) に対して高い親和性を持ち, 解糖系からエネルギー産生を行っている。B 型(肝型)は FDP と F1P 共に同等に親和性を持ち, 等しく触媒する。FDP と F1P を共に基質にすることは糖の新生に有益である。C 型は A 型と B 型の間隔的な性質で脳・脊髄などの神経細胞に多く含まれる。血清 ALD は, 通常, 活性測定条件に用いられている測定条件は, FDP を基質として UV 法にて測定されている。



表1 血清 ADL 値に基づく分類 (6 年分)

	n	性別		地区別		
		男性	女性	長崎	玉之浦	奈留
正常群	19名 (26.4%)	5名	14名	10名	7名	2名
一時低下群 (低頻度)	21名 (27.8%)	3名	18名	6名	11名	4名
一時低下群 (高頻度)	26名 (36.1%)	13名	13名	4名	9名	13名
低下群	7名 (9.7%)	3名	4名	1名	5名	1名
合計	73名 (100.0%)	24名	49名	21名	32名	20名

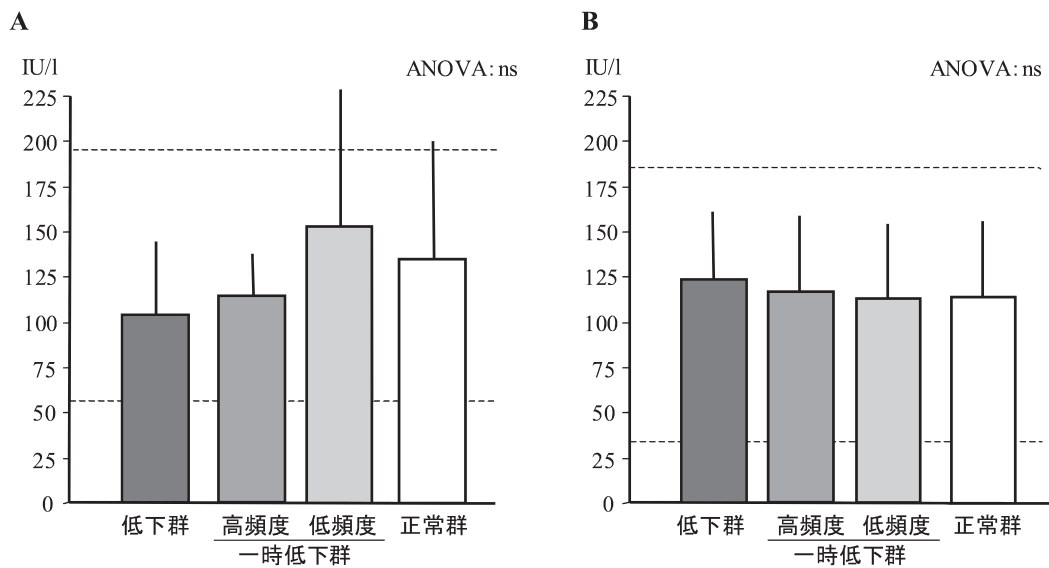


図1 各群の血清 CK 値 (血清 ALD 値に基づく分類)

A: 男性, B: 女性. 平均±標準偏差. グラフ中に血清 CK 値正常範囲を点線で示している.

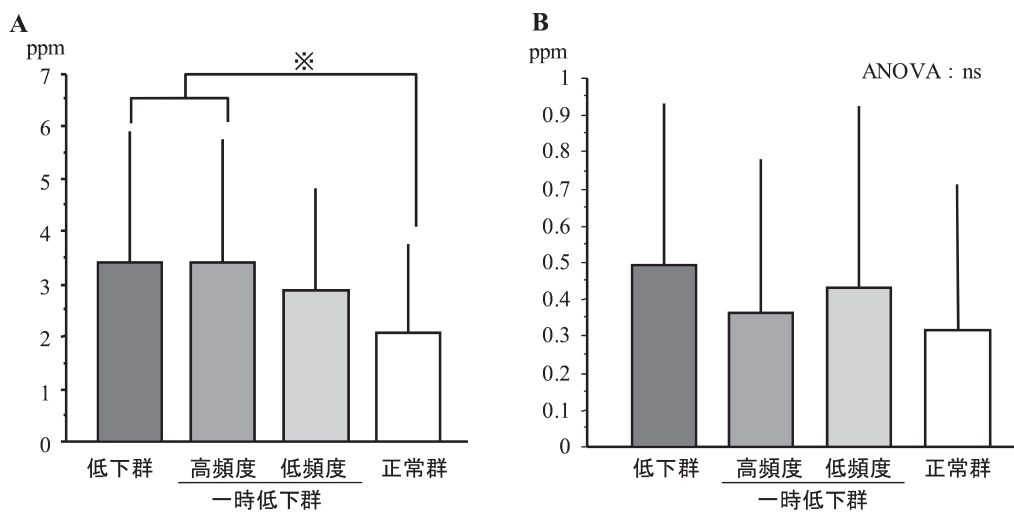


図2 各群の血中 PCBs・PCQ 濃度 (血清 ALD 値に基づく分類)

A: 血中 PCB 濃度, B: 血中 PCQ 濃度. 平均±標準偏差. ※: P<0.05

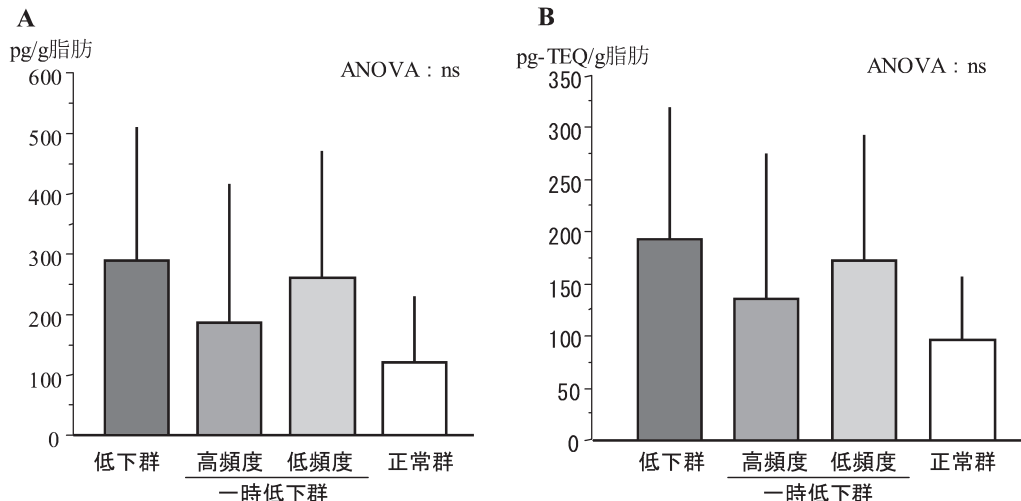


図3 各群の血中PCDFs濃度・TEQ (血清ALD値に基づく分類)  
A: PCDFs濃度, B: 平均±標準偏差.

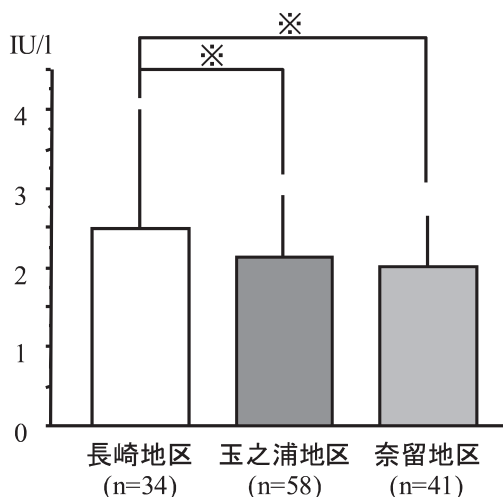


図4 地区別の血清ALD値  
A: カネミ油症検診者, B: 健康人. 平均±標準偏差. ※ P<0.05

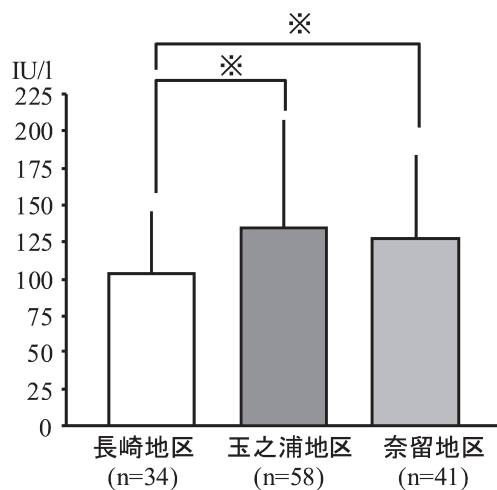


図5 地区別の血清CK値  
A: カネミ油症検診者, B: 健康人. 平均±標準偏差. ※ P<0.05

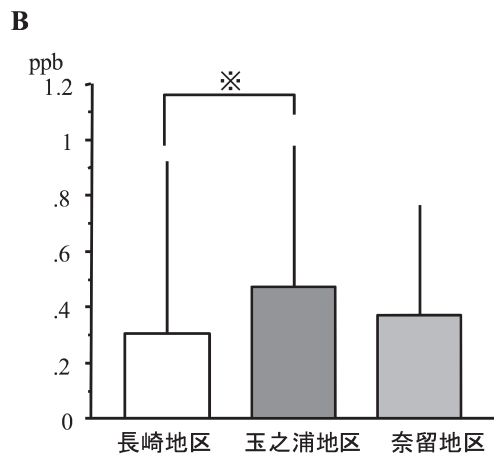
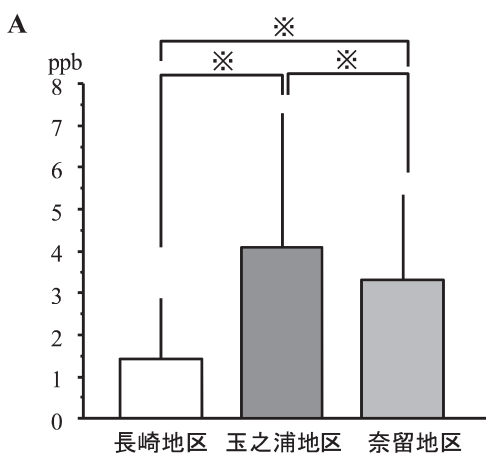


図6 地区別の血中PCBs, PCQ濃度  
A: 血中PCB濃度, B: 血中PCQ. 平均±標準偏差.  
※ P<0.05

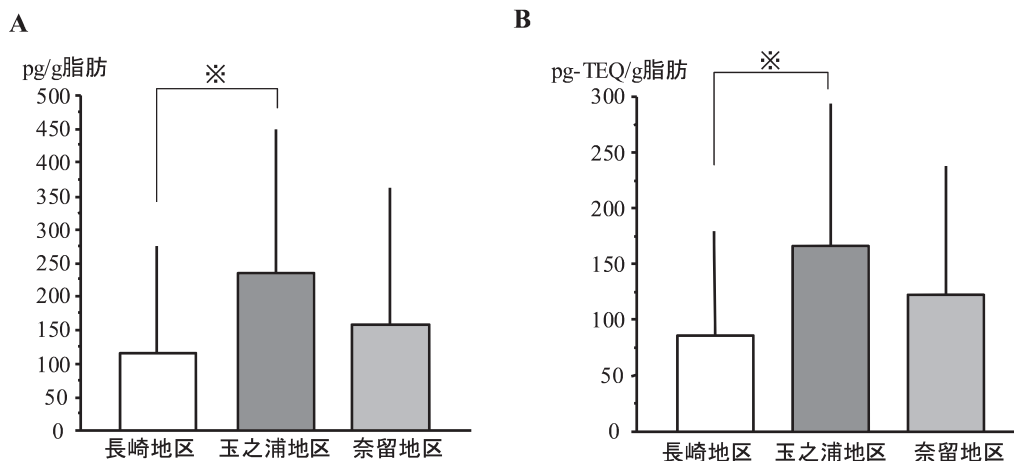


図7 地区別の血中 PCDFs, TEQ 濃度  
A: 血中 PCDFs 濃度, B: 血中 PCQ 濃度, 平均±標準偏差。  
※ P<0.05

従って、筋組織に多い A 型の酵素活性測定に適した条件である<sup>8)</sup>。血清 ALD 値の年齢による差では、成人においては、20~39 歳, 40~59 歳, 60~70 歳の 3 群間の平均値と標準偏差に男女ともに有意差を認めていない<sup>9)</sup>。そして、解糖系と糖新生系のいずれにおいても関与する酵素である。

したがって、ここで測定した血清 ALD は、A 型の酵素活性が主であると、推定される。PCB126 は FDP と F1P を基質とした ALD 活性を阻害する<sup>10)11)</sup>。従来、臨床では血清 ALD は、進行性筋ジストロフィー症、多発筋炎などの筋疾患、甲状腺機能低下症に伴う筋疾患、肝疾患<sup>7)</sup>、白血病などの悪性腫瘍の際、高値を呈する疾患に注目されてきた<sup>12)</sup>。血清 ALD 値が低下する疾患としては、遺伝性果糖不耐症<sup>13)</sup>、Tay-Sacks 病などがあり、発生頻度は極めて少ない。また、エストロゲンの投与で血清 ALD 値は低下する<sup>14)</sup>。B 型の ALD が欠損する遺伝性果糖不耐症では、高尿酸血症、低血糖、易刺激性、発育障害、意識障害などの慢性期症状が知られている。カネミ油症検診者では、発症初期には、全身倦怠感、食欲不振、微熱感、頭重感などの症状が報告されているが<sup>15)</sup>、様々な愁訴を説明できないかどうか今後詳細に見ていく必要がある。

地域別で検討した結果、地区間に差が認められた。長崎地区の検診者に比べ、玉之浦地区や奈留地区の検診者の血清 ALD は有意に活性低下が認められた。また、玉之浦地区および奈留地区での

血清 CK 値は、長崎地区に比べ有意に高値をしめしている。加えて、血液 PCBs, PCQ, PCDFs および TEQ の値は、玉之浦地区で有意に高かった。ALD が解糖系、糖新生系の酵素にも関与していることから、何らかの運動負荷が加わった時に、糖原病類似の代謝異常が生じ、血清 CK 値の上昇が生じていることも推測できる。現在までのところ、幸いなことに肝機能との相関もなく、臨床的にも問題はない。

## 結 論

カネミ油症検診者で認められる血清 ALD 値の低下の原因は、主に PCBs が関係している可能性が高い。血清 ALD 値低下による臨床症状は明らかではないが、カネミ油症検診の際、注意しておく必要がある。

## 参 考 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A: Epidemiologic study on Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. *Environ Health Perspect* 1: 119-128, 1972.
- 2) 吉村俊朗, 沖田実, 中野治郎, 白石裕一, 岩永洋, 友利幸之介, 岡本真須美: カネミ油症検診者に見られる血清クレアチンキナーゼとアルドラーゼの異常. *福岡医誌* 94: 97-102, 2003.
- 3) 吉村俊朗, 沖田実, 東登志夫, 上山裕文, 伊藤聖: カネミ油症検診者におけるクレアチンキ

- ナーゼ上昇の意義. 福岡医誌 88 : 216-219, 1997.
- 4) 吉村俊朗, 沖田実, 川副巧成, 中野治郎, 中尾洋子: カネミ油症検診者における血清クレアチンキナーゼ上昇の要因に関する検討. 福岡医誌 90 : 246-250, 1999.
  - 5) 吉村俊朗, 沖田実, 福田卓, 藤本武士, 中尾洋子: カネミ油症検診者における血清CK上昇の意義—ラット筋細胞膜の freeze fracture 法による変化—. 福岡医誌 92 : 123-234, 2001.
  - 6) Salvatore F, Izzo P and Paoletta G: Aldolase gene and protein families; structure, expression and pathophysiology, in Horizons in Biochemistry and Biophysics, vol. 8, ed by Blasi F, New York, John Wiley & Sons, 611-665, 1986.
  - 7) Asaka M and Alpert E: Subunit-specific radioimmunoassay for aldolase A, B, and C subunits: clinical significance. Ann N Y Acad Sci 417 : 359-367, 1983.
  - 8) 菅野剛史: アルドラーゼ 内科 61 (6) : 1015-1016, 1988.
  - 9) 椎名晋一, 保崎清人, LinSoon Poh: 正常値・異常値酵素 (3) アルドラーゼ. 総合臨床 34 (増刊) : 1838-1841, 1985.
  - 10) Ishii Y, Kato H, Hamamura M, Ishida T, Ariyoshi N and Oguri K: Significant suppression of rat liver aldolase B by a toxic coplanar polychlorinated biphenyl, 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl. Toxicology 116, 193-199, 1997.
  - 11) Kato H, Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N and Oguri K: Significant suppression of aldolase B, carbonic anhydrase III and alcohol dehydrogenase in liver cytosol of rats treated with highly toxic coplanar PCB. JPN Toxicol Environ Health 43 : 20, 1997.
  - 12) Sibley JA and Fleisher GA: The clinical significance of serum aldolase. Staff Meet Mayo Clin 29 : 591-604, 1954.
  - 13) Chambers RA and Pratt RT: Idiosyncrasy to fructose. Lancet 2 : 340, 1956.
  - 14) 渡邊 修, 納光 宏: V. 酵素 3. アルドラーゼ. 総合臨床 40 : 278-282, 1991.
  - 15) 奥村 恂: 内科的症状と所見. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆(編): 油症研究—30年の歩み—初版, 九州大学出版会, 福岡, 2000, pp. 165-181. (受付 2007-4-2)

## 油症患者血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の 4 年間の傾向

<sup>1)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup> 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

高尾佳子<sup>1)</sup>, 小野塚大介<sup>1)</sup>, 片岡恭一郎<sup>1)</sup>, 戸高 尊<sup>2)</sup>,  
平川博仙<sup>1)</sup>, 梶原淳睦<sup>1)</sup>, 吉村健清<sup>1)</sup>

### Trend of 2,3,4,7,8-PeCDF Concentrations in the Blood of Yusho Patients over Four Years

Yoshiko TAKAO<sup>1)</sup>, Daisuke ONOZUKA<sup>1)</sup>, Kyoichiro KATAOKA<sup>1)</sup>, Takashi TODAKA<sup>2)</sup>,  
Hironori HIRAKAWA<sup>1)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup> and Takesumi YOSHIMURA<sup>1)</sup>

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

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

**Abstract** In the Yusho medical checkup, measurement of dioxin has been performed since 2001. Although the time trend of dioxin concentrations in blood from 2001 to 2005 has been reported for the whole measurement candidate, details in the trend are not known. Therefore, to verify the trend, we divided the Yusho patients into four quartile groups based on the dioxin concentrations. About 39 years have passed since Yusho occurred, and it is said that a big change in the concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF in blood is now no longer seen. However, when the Yusho patients were divided into the four groups, a downward tendency was even now found in the higher dioxin groups, but not in the lower dioxin groups.

### はじめに

全国油症患者追跡検診において、1986年度検診時より検診の統一が図られた。油症においては、以前よりダイオキシン類の影響は指摘されており、測定法の開発によって2001年度検診からダイオキシン類の測定が導入された<sup>1)</sup>。その後、2001、2002年度の検診受診者のダイオキシン類測定希望者と、1999年に無作為抽出された福岡市住民の血液中ダイオキシン類測定値の比較が行われ、2004年9月29日には新たな油症診断基準として血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が追補された<sup>2)3)</sup>。

血液中ダイオキシン類測定については、2001年度検診より継続して測定が行われ、今年度(2006年度)の検診で6年目となる。各年度別全測定者の傾向については、追跡調査として報告されている<sup>4)5)</sup>。この報告は、同じ集団を対象としていないため、単純な経年比較は行えない。そこで同じ集団を対象とし、ダイオキシン類の中でも油症診断基準の一つとなっている2,3,4,7,8-PeCDFに着目し経年変化を追った。

経年変化については、台湾油症患者3人、福岡油症患者5人のPCB, PCDF異性体の長期間における濃度変化が調査され、2,3,4,7,8-PeCDFの体内半減期は、台湾油症患者(中毒発生後0.6~15.6年)の場合、2.7~3.6年、福岡油症患者(中毒発生後14.0~29.1年)の場合、5.2~14.3年と報告されている<sup>6)</sup>。油症発生から約39年が経過し、血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度は、ここ数年において、経年的にほとんど変化がないと言われている。そこで、蓄積されたデータをもとに経年的な変化について解析を行い、油症患者血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の2002~2005年度4年間の傾向を報告する。

### 対象と方法

同じ集団を対象に経年比較するため、2005年度までに検診を受診した事のある者1153人(男性517人、女性636人)のうち、2002~2005年度の4年連続で血液中ダイオキシン類濃度の測定を希望し、2005年度検診時点までに油症患者として認定されていた138人(男性66人、女性72人)を

対象とした。2001年度の測定は、福岡県班の受診者に限られたため除外した。年齢は2005年度検診終了後の2006年3月31日現在で算出した。2,3,4,7,8-PeCDFの測定値は、血中重量あたりの濃度を使用した。

年度、男女別に血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を算出した。また、血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の高低によりグループ分けを行い、血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を算出した。高低グループについては、2002年度の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を四分位で分け、値の低い方から、Group 1～Group 4の4つのグループとした。

### 結果と考察

今回対象とした138名の性・年齢階級別内訳は表1に示す。平均年齢は68.3歳で最年少は38歳、最高齢は92歳である。経年的な傾向把握において、測定値の再現性は重要である。血液中ダイオキシン濃度の測定は、2001年度より同一の機関で行われており、年度間における測定の再現性についても非常に高い一致が示されている<sup>2)</sup>。このため、年度間の測定誤差の影響はないと考えた。

各年度の全体及び男女別の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を表2に示す。4年間の平均値は、

対象者全体で見た場合、0.69 pg/g から 0.63 pg/g と経年的に減少傾向を示した。男女別で見た場合は、男性については0.36 pg/g から 0.30 pg/g と経年的に減少傾向を示し、女性については2002年度から2003年度にかけては、0.004 pg/g の増加が見られるものの、4年間においては0.99 pg/g から 0.93 pg/g と減少傾向を示した。濃度の高低によるグループ別の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を表3に示す。血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の高低で分けた場合では、濃度の低いGroup 1, Group 2は4年間で0.01 pg/g の減少にとどまり、濃度の高いGroup 3においては0.07 pg/g, Group 4においては0.18 pg/g の減少が見られ、濃度の高いGroupは低いGroupに比べると減少傾向が強く現れていると言える。

### 総括

同じ集団を対象とし、4年間の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の傾向を解析した。油症発生から約39年が経過し、血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度に大きな変化は見られなくなっているものの、全体的には経年的に減少傾向が認められ、男女別においては、同じような減少傾向を示し、濃度別では濃度の低いグループに比べ、高いグループで

**Table 1** The items according to sex and age group (Four-year longitudinal measurements from 2002 to 2005)

Age*1	Male		Female		Total	
	n	%	n	%	n	%
30-39	0	0.0	1	1.4	1	0.7
40-49	4	6.1	2	2.8	6	4.3
50-59	11	16.7	12	16.7	23	16.7
60-69	14	21.2	20	27.8	34	24.6
70-79	26	39.4	31	43.1	57	41.3
80 or more	11	16.7	6	8.3	17	12.3
Total	66	100.0	72	100.0	138	100.0

\*1 The age uses as of March 31, 2006.

**Table 2** Blood levels of 2,3,4,7,8-PeCDF in Yusho Patients examined in 2002-2005 (Four-year longitudinal measurements from 2002 to 2005)

	Year of health examination	Mean	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g)			
			SD	Minimum	Maximum	Median
Total (n=138)	2002	0.69	0.90	0.01	5.01	0.36
	2003	0.67	0.94	0.01	5.56	0.33
	2004	0.64	0.89	0.01	5.63	0.32
	2005	0.63	0.86	0.01	5.10	0.33
Male (n=66)	2002	0.36	0.48	0.02	2.77	0.17
	2003	0.31	0.41	0.02	2.47	0.18
	2004	0.30	0.38	0.02	2.20	0.16
	2005	0.30	0.38	0.02	2.18	0.16
Female (n=72)	2002	0.99	1.08	0.01	5.01	0.63
	2003	0.99	1.15	0.01	5.56	0.57
	2004	0.96	1.09	0.01	5.63	0.57
	2005	0.93	1.05	0.01	5.10	0.55



**Table 3** Blood levels of 2,3,4,7,8-PeCDF in subgroup of Yusho Patients examined in 2002-2005 (Four-year longitudinal measurements from 2002 to 2005)

		2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g)						
Year of health examination	Group*2	n	Mean	SD	Minimum	Maximum	Median	
Total	2002	Group 1	34	0.06	0.02	0.01	0.09	0.06
		Group 2	35	0.19	0.07	0.10	0.35	0.17
		Group 3	35	0.59	0.15	0.37	0.88	0.60
		Group 4	34	1.95	1.03	0.93	5.01	1.52
	2003	Group 1	34	0.05	0.02	0.01	0.10	0.05
		Group 2	35	0.18	0.08	0.07	0.40	0.18
		Group 3	35	0.54	0.15	0.30	0.84	0.53
		Group 4	34	1.92	1.17	0.22	5.56	1.55
	2004	Group 1	34	0.05	0.03	0.01	0.13	0.05
		Group 2	35	0.18	0.07	0.06	0.36	0.16
		Group 3	35	0.54	0.15	0.26	0.81	0.54
		Group 4	34	1.82	1.11	0.19	5.63	1.59
	2005	Group 1	34	0.05	0.03	0.01	0.12	0.05
		Group 2	35	0.18	0.07	0.06	0.35	0.16
		Group 3	35	0.52	0.15	0.27	0.87	0.50
		Group 4	34	1.77	1.06	0.19	5.10	1.61
Male	2002	Group 1	24	0.06	0.02	0.02	0.09	0.06
		Group 2	21	0.19	0.07	0.10	0.35	0.18
		Group 3	14	0.58	0.14	0.37	0.79	0.59
		Group 4	7	1.47	0.69	0.93	2.77	1.14
	2003	Group 1	24	0.05	0.02	0.02	0.10	0.05
		Group 2	21	0.19	0.08	0.07	0.40	0.18
		Group 3	14	0.52	0.15	0.30	0.74	0.54
		Group 4	7	1.17	0.69	0.22	2.47	1.14
	2004	Group 1	24	0.06	0.03	0.02	0.13	0.05
		Group 2	21	0.18	0.07	0.06	0.35	0.17
		Group 3	14	0.51	0.15	0.26	0.71	0.51
		Group 4	7	1.08	0.61	0.19	2.20	0.94
	2005	Group 1	24	0.05	0.03	0.02	0.12	0.05
		Group 2	21	0.19	0.08	0.06	0.35	0.17
		Group 3	14	0.48	0.12	0.27	0.76	0.47
		Group 4	7	1.10	0.61	0.19	2.18	1.07
Female	2002	Group 1	10	0.05	0.02	0.01	0.07	0.06
		Group 2	14	0.17	0.08	0.10	0.33	0.15
		Group 3	21	0.60	0.16	0.37	0.88	0.60
		Group 4	27	2.07	1.07	0.95	5.01	1.61
	2003	Group 1	10	0.05	0.02	0.01	0.07	0.05
		Group 2	14	0.17	0.08	0.08	0.35	0.15
		Group 3	21	0.56	0.15	0.35	0.84	0.50
		Group 4	27	2.12	1.19	0.81	5.56	1.94
	2004	Group 1	10	0.05	0.02	0.01	0.08	0.05
		Group 2	14	0.17	0.08	0.09	0.36	0.15
		Group 3	21	0.55	0.14	0.34	0.81	0.55
		Group 4	27	2.02	1.14	0.82	5.63	2.01
	2005	Group 1	10	0.05	0.02	0.01	0.08	0.05
		Group 2	14	0.17	0.07	0.09	0.33	0.14
		Group 3	21	0.55	0.16	0.35	0.87	0.53
		Group 4	27	1.94	1.09	0.78	5.10	1.72

\*2 The group division according to quartile. They are a group 1, a group 2, a group 3, and a group 4 to the order from the lower one.

減少傾向が強く現れていた。今回は同じ集団に対して経年的に比較を行うため、4年連続測定者を対象とし、平均値の減少傾向を確認した。一人ひとり個別に見れば、4年間の濃度の増減は様々であり、さらなる解析を行い傾向の把握に努めたい。また、半減期を求めることで、個々人や、血液中濃度別、男女別による減衰傾向を導き、当時の摂取量や今後の推移の予測を行うことで傾向把握に寄与できると考える。

## 謝 辞

本研究は平成18年度厚生労働科学研究費補助

金に負うものである。ここに記して謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New Protocol of Dioxins Analysis in Human Blood, Fukuoka Acta Med 94: 148-157, 2003.
- 2) 徳永章二, 飯田隆雄, 古江増隆: 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念, 福岡医誌 96: 135-145, 2005.
- 3) 古江増隆, 上ノ土武: 油症診断基準 (2004年9月29日補遺) の策定の経緯, 福岡医誌 96:

- 124-134, 2005.
- 4) 飯田隆雄, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001年), 福岡医誌 94: 126-135, 2003.
  - 5) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T: Follow-up Survey of Dioxins Concentrations in the Blood of Yusho Patients in 2002-2003, Fukuoka Acta Med 96: 249-258, 2005.
  - 6) 増田義人: 油症を起こした原因化学物質, 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆(編), 油症研究 30年の歩み: 47-74, 2000.  
(受付 2007-4-3)



## カネミ油症患者における，ダイオキシン濃度と， 最近及び過去の臨床症状の関係

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院 企画情報運営部

<sup>2)</sup> 日本 NCR 株式会社 テラデータ事業本部

<sup>3)</sup> 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

松本 伸哉<sup>1)2)</sup>，神奈川芳行<sup>1)</sup>，田島 文一<sup>2)</sup>，上ノ土 武<sup>3)</sup>，  
柴田 智子<sup>3)</sup>，古江 増隆<sup>3)</sup>，今村 知明<sup>1)</sup>

### Relationship between Blood Dioxin Levels and Present / Past Clinical Symptoms in Kanemi Yusho Patients

Shinya MATSUMOTO<sup>1)2)</sup>，Yoshiyuki KANAGAWA<sup>1)</sup>，Bunichi TAJIMA<sup>2)</sup>，Takeshi UENOTSUCHI<sup>3)</sup>，  
Satoko SHIBATA<sup>3)</sup>，Masutaka FURUE<sup>3)</sup> and Tomoaki IMAMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of Planning Information and Management, The University of Tokyo Hospital.*

<sup>2)</sup> *Teradata Division, NCR Japan Ltd.*

<sup>3)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University*

**Abstract** [Background] Kanemi Yusho was a food poisoning incident caused by rice bran oil that occurred in western Japan, particularly in northern Kyushu, in 1968. It is difficult to determine the symptoms in patients after many years since the occurrence. Techniques for measuring blood dioxins have advanced recently. More accurate data measurement has now become possible, and techniques for mass data analysis, such as data mining, have also advanced. It has also become possible to find unknown characteristics, even in an object group with elusive characteristics, by checking all the combinations in all the patients.

[Aim] There are already several reports on the incidence of symptoms in Yusho patients. These reports are limited to symptoms in a single period, and there has been no analysis taking into account the time that has elapsed. Here, we evaluated the relationship between recent and past symptoms and 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) levels in the same subject patient, in order to demonstrate the correlation between PeCDF levels and symptoms at a time point close to the incident.

[Methods] Subjects were examined for symptoms of Yusho and had blood PeCDF levels measured, both recently and in the past. Combinations were extracted using association analysis of data mining technique for comparison, which had strong correlations between the presence or absence of symptoms in the medical examination, tests including blood test, dermatological examination, dental examination and ophthalmologic examination in recent years (2001-2004) and the blood PeCDF levels and those between the presence or absence of past (1986-1989) symptoms and recent blood PeCDF levels.

[Results] Subjects with higher PeCDF levels were more likely to present with pigmentation, a symptom included in the diagnostic criteria for Yusho. Pigmentation was a commonly found symptom in the past. Past pigmentation was a common symptom in the present.

[Discussion] PeCDF levels were measured recently and therefore should not be compared directly with past symptoms. However, among the symptoms included in the diagnostic criteria, past symptoms tended to have a stronger relationship with PeCDF levels than did recent symptoms. We suggest that the present PeCDF level is strongly related to the past symptoms since the present PeCDF level is correlated with the past PeCDF level due to constant emission

---

Address for Correspondence: Shinya MATSUMOTO Teradata Division, NCR Japan, Ltd. 1-21-2 Shinkawa, Chuo-ku Tokyo 104-0033, Japan

Phone: +81 3 6759 6198 Fax: +81 3 3553 1037

E-mail: shinyamatsumoto-ky@umin.ac.jp

rate. More specifically, if the past PeCDF level is strongly related to the past symptoms, it can indirectly be concluded that the present PeCDF level is also strongly related to the past symptoms. Thus, the present PeCDF level cannot be related to the past symptoms directly but can indirectly.

[Conclusions] Combining recent and past symptoms further demonstrated that clinical symptoms are strongly related to PeCDF toxicity. This may have resulted from the increase in symptoms with aging, however, it was demonstrated that the symptoms of each patient were relieved and become obscure.

## はじめに

近年データマイニングなどの大量データの分析手法の進歩は著しい。特に、これまでが取り扱いが困難であった規模の多くの症状症候からすべての組合せを精査し、その全ての組合せを評価することが可能となっている<sup>1)</sup>。

カネミ油症事件は、1968年に西日本、特に北部九州を中心として発生した米糠油による食品中毒である<sup>2)</sup>。当初、米ぬか油の製造工程において熱媒体として利用されていた polychlorinated biphenyls (PCBs) がその原因物質とされていたが、その後の調査研究により、PCBが熱により変性してできたダイオキシン類の一種である、2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofurans (PeCDF) 等による健康影響も疑われるようになり、現在では、カネミ油症の主な原因物質は、PCBs 及びその類縁物質と考えられている<sup>2)~6)</sup>。

最近の PeCDF 等のダイオキシン類 (dioxins) における測定技術の発達に伴い、通常の油症一斉検診で行う採血量と同じ程度の血液量で、血中の PeCDF 等の濃度測定が可能となったことを受けて、2001年度の油症検診より、その測定を希望する認定患者及び健診受診者に対して測定が開始されている<sup>7)8)</sup>。

今までも、油症と各症状について集計の報告がなされ集計結果の比較も幾つか報告されている<sup>9)</sup>が、個々の報告ごとに対象患者が違い、直接比較することは問題がある。本研究では、同一の対象患者に対して、最近の症状および過去の症状と PeCDF 濃度の関係を明らかにし、PeCDF 濃度と事件発生当初に近い時点での症状との関係を明らかにすることを目的とする。ただし、現在の PeCDF 濃度は排出率の問題があり、過去の症状と現在の測定値の間に直接的な関係はなく、本来は参考値とすべきであるが、体外への排泄速度が

一定である<sup>2)</sup>ことから、実証として有効であると考えられる。

## 方 法

### 1 対象と検診項目

カネミ油症事件発生後、1986年から油症認定患者を対象に、複数の都道府県において健康診断(以下「油症健診」という。)が実施されてきた。対象は、1986年度から1989年度と2001年度から2004年度の両期間において油症患者一斉検診を各々1回以上受診し、PeCDF値を測定した油症患者の内科検診、血液検査等検査、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診における症状の有無を対象データとした。認定患者/未認定患者の両方を対象とした。両期間ともに受診している対象者は、302人であった。各患者で1986年から1989年と2001年から2004年の両期間において内科検診、血液検査等検査、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診の各項目も各年度からの代表値を適宜求め、PeCDF値との関連性を分析した。油症健診の検査項目は、内科検診55項目、皮膚科検診21項目、眼科検診5項目、歯科検診109項目、血液検査105項目の計241項目から構成されている<sup>2)8)</sup>。

### 2 研究方法

本研究では、データマイニング手法の中の関連性分析<sup>10)</sup>を用いた。マーケットバスケット分析という用語でも知られおり、商品購入の際の併売傾向を分析する手段としても用いられている。商品など存在するか否かを示す項目をアイテムと呼び、それをまとめる買い物籠などをグループと呼んでいる。要因と疾患の結びつきを評価する手法として従来からロジスティック回帰分析手法がよく利用されているが、要因が既に絞られている場合に、疾患との関係を評価するものであり、多数の症状や検査結果、徴候から組合せを発見するための手

法には向いていない。これに対し、関連性分析は、データ項目の組合せを網羅的に評価する手法として最も相応しい手法である。

### 3 関連性分析による症候の抽出方法

本研究では、臨床所見は項目とみなし患者はグループとみなしている。グループは項目をひとつにまとめるものである。図1は臨床所見（症候、検査結果、血液検査結果など）と病気の例を示している。3つの臨床所見をもっている患者群と病気を持った患者群との関係について説明する。この例では、全体の477名中で101名の患者が3つの臨床所見「昭和43年以降の既往歴<有>」「性別<女性>」「かつての色素沈着<有>」を持っており、「PeCDF 50 ppb 以上」と診断された222人の患者がいた。73人の患者がそれらの臨床所見を持っており、かつ「PeCDF 50 ppb 以上」と診断されていた。関連性分析手法を用いて、左サポート、右サポート、サポート、確信度、リフト、Z値の数値を計算した。左サポート（前提確率）は臨床所見を示した患者の割合である： $101/477=0.2117$ 。右サポート（事前確率）は病気にかかっていた患者の割合である： $222/477=0.4654$ 。サポート（同時確率）は臨床所見を有して、かつ、病気にかかっていた患者の割合である： $73/477=0.1530$ 。信頼度（事後確率）は臨床所見を有している患者の中で病気にかかっている患者の割合である： $73/101=0.7228$ 。リフト値（改善率）は事後確率を事前確率で割った値である： $0.7228/0.4654=1.5530$ 倍。統計学では、尤度比はパワーを評価するのにしばしば使用される。サポート確率が0に近い場合には、尤度比はリフト値と一致する。また、サポート確率が小さい場合には、尤度比とリフト値は偶然性の影響を受ける欠点があるので、サポート値を同時に考慮に入れることが必要である。Z値は同時に発生していることに関する情報を示す値である。臨床所見と病気の間で関係がないならば、リフト値は1であることが期待される。つまり、臨床所見を有して、病気を持っている患者の数の分布は、確率が臨床所見の確率と病気の確率の積となる二項分布であるとみなすことができる。数が多い場合には、二項分布の計算をするのが困難なので、より簡単な代替手段として正規分布を使って、Z値を使用する。

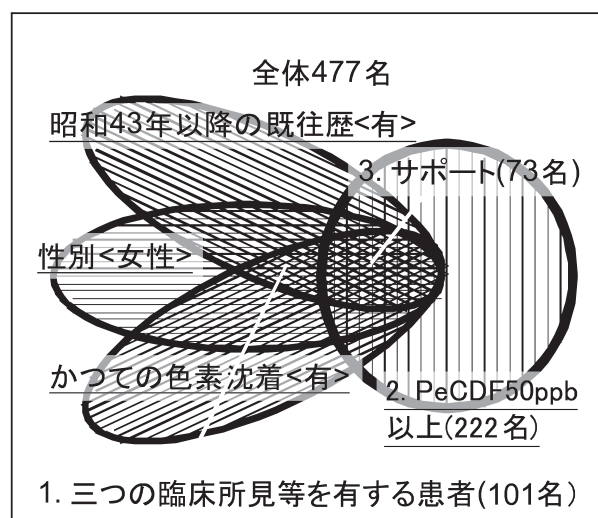


図1 三徴候と病気の関連性（ベン図）

本研究では、油症の原因物質のひとつと考えられている PeCDF の濃度の高低を「病気の発症」とみなして、最近の症状と過去の症状の双方と関連性分析を実施した。また、同一の症状に対して、最近と過去の症状で、相違を調査する。

### 4 検診結果の分類について

油症の認定は、「油症診断基準」（表1）に基づき、油症検診の結果や原因油の摂取状況等を総合的に勘案して判定されている<sup>2)</sup>。診断基準は、大きく「発病条件」、「重要な所見」、「参考となる症状と所見」より構成されている。

この中でも、「重要な所見」に含まれる「ざ瘡様皮疹」や「色素沈着」が、診察を行う医師により重症度の判断が若干異なることがあるのに対して、「血液 PCB の性状および濃度の異常」、「血液 PCQ の性状および濃度の異常」、「血液 PeCDF の濃度の異常」については、測定結果として数値で表すことが可能であり、認定か否かを判断する上で重要な役割を果たしている。

関連性分析を行うに当たり、数値データそのものを利用した場合、油症患者における特徴を把握することが難しくなることから、数値データについては、データが正常範囲内か異常値かの分類を行った。一般的な血液検査結果については、研究班が検診に際して使用している基準値を用いて分類した。内科、皮膚科、歯科、眼科の各診察所見については、異常の有無及び強さで分類した。

PCB の性状については、ガスクロマトグラフ解

析によって、油症患者ではそのパターンが一般の人と異なることが知られている。油症患者特有のパターンを「A」、一般人のパターンを「C」、AとCの間を「B」、さらに、BとCの間を「BC」と、4つのパターンに分類されている。

polychlorinated quarterphenyl (PCQ) 濃度については、「0.1 ppb 以上」は異常に高い濃度、「0.02 ppb (検出限界) 以下」は通常みられる濃度、その間の「0.03～0.09 ppb」は境界領域濃度とされていることから、濃度別に3段階に分類を行った。

さらに、PeCDF 濃度については、昨年度の診断

基準の改定により新たに診断基準に追加されたが、その中で、「50 pg / g lipids 以上：高い濃度」とされたことより、PeCDF 濃度については「50 pg / g lipids 以上」と「50 pg/g lipids 未満」の2つに分類を行った。以降は簡略化のため、それぞれ「50 以上」「50 未満」と表記する。

## 分析結果

関連性分析の結果、関連性の高い組み合わせが見つかった。関連性が高い組合せとして Z 値が 1.645 (有意水準片側 5%) 以上のルールを表に示してある。

表1 油症診断基準 (2004年9月29日補遺) 油症治療研究班

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

### 発病条件

PCB の混入したカネミ米ぬか油を摂取していること。

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

### 重要な所見

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

### 参考となる症状と所見

1. 自覚症状
 

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

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

参照1 今までの研究により、血中 PCQ の濃度については次のとおり結論した。

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

参照2 血中 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は年齢および性別に関連するが、おおむね 50 pg/g lipids 以上は高い濃度と考えられる。年齢・性調整値も勘案して考慮する。なお高い精度を保つために、測定は油症研究班が適切と認めた精度管理が行われている検査機関にて行なう。

- 註1. 以上の発病条件と症状、所見を参考にし、受診者の年齢および時間的経過を考慮のうえ総合的に診断する。
2. この診断基準は油症であるか否かについての判断の基準を示したものであって必ずしも油症の重症度とは関係ない。
  3. 血液 PCB の性状と濃度の異常および血液 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) の濃度の異常については、地域差、職業などを考慮する必要がある。



表2は、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度<50 以上>との関連性が単独で高い最近の項目を示している。「PeCDF <50 以上>」と「PCB パターン <A>」との関連が最も強い結果となった。症状の項目としては、「かつての色素沈着 <有>」や「尿酸 <高>」が現われている。

表3は2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 <50 以上> との関連性が高い過去の項目を示している。「PCB パターン <A>」と「PCB パターン <B>」との関連が強いという結果になった。また、「尿酸 <高>」も現われている。

表4は、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度<50 以上>と関連性の高い最近と過去の症状をZ値で比較して示してある。最近の症状と過去の症状を比べると、「PCB パターン <A>」と「尿酸 <高>」のZ値は最近の方が小さく、過去の値の方が鮮明な関係がある。また、「PCB パターン <B>」は過去にしか現われておらず、過去のほうが強かったことがわかる。

表5は2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 <50 未満> との関連性が単独で高い最近の項目を示している。「PCB パターン <C>」との関連が強いという結果になった。症状として、「アルブミン <高>」というものも現われている。

表6は、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度<50 未満>との関連性が単独で高い過去の項目を示している。「PCB パターン <C>」との関連性が強い結果となった。また、「歯牙形成不全 <有>」との関連が強いという結果になった。

表7は、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度<50 未満>と関連性の高い最近と過去の症状をZ値で比較して示してある。最近の症状と過去の症状を比べると、「PCB パターン <C>」のZ値は最近のほうが小さく、過去のほうが鮮明な関係がある。また、「歯牙

形成不全 <有>」や「肝腫 <+>」などは、過去にしか現われていない。

### 考 察

「PCB パターン <A>」は、「PeCDF <50 以上>」との関連性が強く、「PCB パターン <C>」は、「PeCDF <50 未満>」との結果が強かった。更に、「PCB パターン <B>」は、過去の「PeCDF <50 以上>」との関連があるという結果であったが、最近はそのような傾向は見られない。つまり、最近のPCBパターンよりも過去のPCBパターンと関連性が強い結果になっており、最近のPCBパターンより過去のPCBパターンの方がより鮮明な関連性があったことがわかった。PCBパターンは、ダイオキシン類の濃度が絶対量として計測できなかった時代に、ガスクロマトグラフィーを用いて、相対量を計測し、ピークの状況から判断していたものである。「PCB パターン <A>」は、油症特有のパターンとして知られており、「PCB パターン <C>」は一般人のパターンであり、「PCB パターン <B>」は、それらの中間のパターンである。これらのPCBパターンも時間経過とともに変化し、一般人のパターンに近づいていることが推察された。また、尿酸とかつての色素沈着で関連性が現われている。色素沈着については、診断基準において指摘されている。今回関連性がみられたのは、「かつての色素沈着」である。これは、過去に色素沈着があったことを示すものであり、現症状が過去の症状に変化していくことが推察される。尿酸について今までの研究においては、関連性は指摘されていない。今回、関連性が見られた理由は、検査期間中に1回でも異常を示した患者はその計測値が異常であるとみなしており、偶然性の影響を受けやすい検査項目であることが起

表2 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 <50 以上> との関連性が単独で高い最近の症状等項目

症状等	左サポート	右サポート	サポート	確信度	リフト値	Z 値
PCB パターン <A>	0.411	0.566	0.318	0.774	1.367	3.513
かつての色素沈着 <有>	0.487	0.566	0.325	0.667	1.177	1.901
尿酸 <高>	0.301	0.566	0.209	0.692	1.223	1.755

表3 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 <50 以上> との関連性が単独で高い過去の症状等項目

症状等	左サポート	右サポート	サポート	確信度	リフト値	Z 値
PCB パターン <A>	0.427	0.566	0.338	0.791	1.396	3.891
尿酸 <高>	0.205	0.566	0.156	0.758	1.339	2.135
PCB パターン <B>	0.272	0.566	0.192	0.707	1.249	1.846

表4 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 &lt;50 以上&gt; と関連が高い項目の Z 値比較

	過去の Z 値	最近の Z 値
PCB パターン <A>	3.891	3.513
尿酸 <高>	2.135	1.755
PCB パターン <B>	1.846	≤1.65
かつての色素沈着 <有>	≤1.65	1.901

表5 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 &lt;50 未満&gt; との関連性が単独で高い最近の症状等項目

症状等	左サポート	右サポート	サポート	確信度	リフト値	Z 値
PCB パターン <C>	0.185	0.434	0.166	0.893	2.058	5.439
歯牙形成不全 <有>	0.017	0.434	0.017	1.000	2.305	1.930
肝腫 <+>	0.073	0.434	0.050	0.682	1.572	1.795
尿蛋白 <異常>	0.142	0.434	0.086	0.605	1.394	1.756
栄養 <痩せ>	0.023	0.434	0.020	0.857	1.976	1.710
無機リン <低>	0.040	0.434	0.030	0.750	1.729	1.677
眼瞼結膜色素沈着 <+以上>	0.070	0.434	0.046	0.667	1.537	1.646

表6 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 &lt;50 未満&gt; との関連性が単独で高い過去の症状等項目

症状等	左サポート	右サポート	サポート	確信度	リフト値	Z 値
PCB パターン <C>	0.182	0.434	0.156	0.855	1.970	4.937
喫煙有無 <有>	0.169	0.434	0.113	0.667	1.537	2.623
アルブミン <高>	0.046	0.434	0.036	0.786	1.811	2.019
下歯肉色素沈着 <褐色>	0.162	0.434	0.099	0.612	1.412	1.968
血糖 <低>	0.033	0.434	0.026	0.800	1.844	1.771
総ビリルビン <高>	0.119	0.434	0.073	0.611	1.409	1.659

表7 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 &lt;50 比較&gt; と関連が高い項目の Z 値の比較

	過去の Z 値	最近の Z 値
PCB パターン <C>	5.439	4.937
歯牙形成不全 <有>	1.930	≤1.65
肝腫 <+>	1.795	≤1.65
尿蛋白 <異常>	1.756	≤1.65
栄養 <痩せ>	1.710	≤1.65
無機リン <低>	1.677	≤1.65
眼瞼結膜色素沈着 <+以上>	1.646	≤1.65
喫煙有無 <有>	≤1.65	2.623
アルブミン <高>	≤1.65	2.019
下歯肉色素沈着 <褐色>	≤1.65	1.968
血糖 <低>	≤1.65	1.771
総ビリルビン <高>	≤1.65	1.659

因していると推察される。PeCDF 値は女性のほうが強い関連性がみられる<sup>1)</sup>。このため、女性の尿酸の正常域が低く、偶然の影響を受けやすく異常とみなされる可能性が高い。症状が消えかかっている中で鋭敏に症状の組合せを見つけ出すために、平均値ではなく1度だけでも異常状態を示した場合には異常であるとみなしており、偶然性を考慮して結果を判断する必要がある。

「PeCDF <50 未満>」において、最近の症状として「下歯肉色素沈着 <褐色>」が現われているが、過去の症状では現われていない。これは、PeCDF の血中濃度が低い患者に症状が顕著に現われるということは、通常の医学的な見地からは考えられ

ない状況であり、例えば、診察医により、色素沈着の所見のとり方に違いが出るなどの、何らか別の要因があるものと推察される。

PeCDF 濃度が測定されるようになったのは最近のことであり、各患者の過去の PeCDF 濃度の測定結果は存在しない。本研究では、現在の PeCDF 濃度と過去の症状との比較を行った。本来、PeCDF 濃度と過去の症状は、時期が違いため、直接比較することには問題がある。しかし、PeCDF の排出速度が一定である<sup>2)</sup>こと、および、油症一斉検診として、各患者を特定することが可能な、コホートスタディであるため、比較することに意味はあると考えられる。

## 結 論

今回の分析では、PeCDFと現在及び過去の臨床症状との関連性の強弱について検討した。最近の症状より過去の症状の方が、より診断基準に近い項目についてPeCDFの濃度との関連性が強く出る傾向がみられた。現在PeCDF濃度が高い患者は過去においてもPeCDF濃度が高く、過去の症状と関係があると推察される。この前提において考えると、最近の症状よりも過去の症状のほうが鮮明にPeCDFの毒性との関係を示していることがわかった。各患者の症状が軽減されたこと、もしくは加齢による症状の増加により症状の鮮明さが薄れていることが明らかとなった。

## 謝 辞

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

## 参 考 文 献

- 1) Imamura T, Matsumoto S, Kanagawa Y, Tajima B, Matsuya S, Furue M and Oyama H: A technique for identifying three diagnostic findings using association analysis. *Medical and Biological Engineering and Computing* 45: 51-59, 2007.
- 2) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M: Overview of Yusho. *Journal of Dermatological Science Supplement* 1, S3-S10, 2005.
- 3) Yoshimura T: Yusho in Japan. *Ind Health* 41: 139-148, 2003.
- 4) 豊田正武, 内部博泰, 柳 俊彦, 河野洋一, 堀 就英, 飯田隆雄: 日本における食事経由のPCDDs, PCDFs及びCoplanar PCBsの摂取量. *食品衛生学会誌* 40 (1): 98-110, 1999.
- 5) 今村基雄, 増田義人, 平山千里: 絶食による血液PCB濃度の変化. *医学のあゆみ* 101, 2: 78-79, 1977.
- 6) 飯田隆雄, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001年): *福岡医学雑誌* 94 (5): 126-135, 2003.
- 7) 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 飯田隆雄: ヒト血液中ダイオキシン類分析の超高感度ならびに迅速化に関する検討: *福岡医学雑誌* 94 (5): 148-157, 2003.
- 8) Kanagawa Y and Imamura T: Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood levels of PCDFs in patients with Yusho. *Journal of Dermatological Science Supplement* 1: S85-S93, 2005.
- 9) Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S and Furue M: Relationship Between Clinical Features and Blood Levels of Pentachlorodibenzofuran in Patients with Yusho: *Environment Toxicology* 22 (2): 124-131, 2007.
- 10) Agrawal R, Imielinski T and Swami AN: Mining association rules between sets of items in large databases. *ACM SIGMOD International Conference on Management of Data*, Washington, D.C., pp 207-216, 1993.
- 11) 徳永章二, 飯田隆雄, 古江増隆: 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念. *福岡医学雑誌* 96 (5): 135-145, 2005.  
(受付 2007-4-3)

## 油症患者の既往歴頻度と血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルとの関連

<sup>1)</sup>九州大学大学院医学研究院 予防医学分野

<sup>2)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

徳永章<sup>1)</sup>, 柴田智子<sup>2)</sup>, 古江増隆<sup>2)</sup>

### The Past History of Diseases and Symptoms among the Yusho Patients, and Its Association with Blood Lipid Concentration of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran

Shoji TOKUNAGA<sup>1)</sup>, Satoko SHIBATA<sup>2)</sup> and Masutaka FURUE<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Preventive Medicine,

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

**Abstract** A nation-wide questionnaire survey on the past history of diseases and symptoms was conducted in 2005. The questionnaire was administered by mail to the 1258 registered Yusho patients, inquiring about the past incidence of 15 regions of malignant neoplasm, 42 diseases, and 5 symptoms. Out of the 717 patients responded to the questionnaire, 34 patients born after the Yusho outbreak were excluded, leaving 683 patients as the study subjects. Their mean age (SD) was 62.7 (14.0) years, ranging from 39 to 97 years old. Seven percent of the patients acknowledged the past history of malignant neoplasm in one or more regions. More than 40% admitted the past history of dental diseases, pain of joints, numbness of limbs, fatigue, headache, cough and sputum. Osteoporosis and myoma of the uterus, respectively, were reported by 22.8% and 15.6% of women. 14.2% of men reported prostatic hypertrophy. Logistic regression analysis was performed to estimate the association of the past history of diseases with the blood lipid level of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran adjusting for sex and age. In the whole study subjects, 306 patients were measured the PeCDF level once or more in the years from 2001 to 2005. We found statistically significant elevation of the proportion of the patients with the past history of prostatic hypertrophy with increasing blood lipid level of 2,3,4,7,8-PeCDF ( $P=0.03$ ). The marginally significant positive association between the proportion of the patients with the past history of hypertension and 2,3,4,7,8-PeCDF was observed ( $P=0.06$ ).

### はじめに

1968年のカネミ油症事件発生後、現在まで油症患者の健康状態に関して様々な調査結果が報告されている<sup>1)</sup>。油症患者を対象とした後ろ向きコホート研究では、油症患者で肝がん死亡率が高いことが示唆されたものの、他の疾病の死亡率に一般住民との差は見られなかった<sup>2)</sup>。自覚症状については、油症全国検診において全身倦怠感、頭痛、咳嗽・喀痰などの有訴率で40%以上の高い値が報告されている<sup>3)4)</sup>。

本研究では、2005年に全国の油症認定患者に対

して行われた調査票調査による油症患者健康調査の結果から、疾患と自覚症状の既往歴の頻度を報告するとともに、それらの既往歴と血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルとの関連を検討した。

### 対象と方法

健康調査は2005年に調査票により行われた。設問は57の疾病および自覚症状の既往歴の有無を問うている(補遺参照)。この調査票には骨粗鬆症についての設問も含まれていた<sup>5)</sup>。調査時までには把握された全国の油症認定患者1258名に調査票を郵送した。一部は郵送後に電話で健康状態の確認を行った。調査は油症相談員3名により行われ、回答は自由意志によった。油症相談員は、それぞれ、福岡県、長崎県、広島県在住で、油症患者に

Address for Correspondence: Shoji TOKUNAGA  
Department of Preventive Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan (email: toksan@med.kyushu-u.ac.jp).



対して調査票調査の経験があり、油症患者の置かれた社会的状況や彼らの心情に慎重に配慮しながら調査を行った。電子情報化されたデータファイルを暗号化するなどの方法により個人情報を保護した。

転居などで連絡がつかない、あるいは調査拒否の 541 名を除き 717 名が回答した。油症発生後に出生した 34 名を除いた結果、解析対象者は 683 名であった。本人記入は 419 人で、残りは相談員による電話インタビュー、近親者（主に母親）による記入などであった。

既往歴頻度は男女別及び合計で集計し、その割合を示した。血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベル(以下、PeCDF レベルと略す)は、2001 年度から 2005 年度の毎年の測定値について体内半減期<sup>6)</sup>を考慮して 2005 年度のレベルを推定した。複数回測定された場合は、その平均値を各個人の PeCDF レベルとした。調査票解析対象者のうち、306 名について PeCDF レベルが得られた。既往歴の頻度が非常に低いと回帰モデルによる関連の推定が困難であるため、男女ともに 10 人以上に既往歴のあった項目について多重ロジスティック回帰解析を行った。

多重ロジスティック回帰では既往歴の有無を応答変数とし、性・年齢を統計学的に調整した PeCDF レベルの常用対数に対するオッズ比とその 95%信頼区間を推定した。性・年齢の調整では、ロジスティック・モデルに性を男女の 2 値変数、年齢を連続変数として説明変数に加えた。年齢については、無変換の値、対数変換後の値、及び、ダミー変数とした場合についてモデルに入れて検討したが、既往歴の有無と PeCDF レベルとの関連はいずれの場合も実質的に同一であったため、無変換の値により調整した。

全て両側検定で、 $P < 0.05$  の場合に統計学的に有意と判定し、 $P$  値が 0.05 の近傍の場合、限界的に統計学的に有意 (marginally significant) と表現した。統計学的解析は Stata 9.2 (Stata Corp., TX, USA) を用いた。

## 結 果

対象者の特性について表 1 に示す。平均年齢(標準偏差)は 62.7 (14.0) 歳で、39 から 97 歳まで分布していた。男女はほぼ同数であった。認定地は福岡県が最も多く 315 人 (46.1%) で、長崎県の 265 人 (38.8%)、広島県の 59 人 (8.6%) が続

き、その他の県は 44 人 (6.4%) であった。

表 2 a にガン及び白血病、リンパ腫の既往歴の頻度を示す。子宮ガン(女性の 2.3%)以外の部位で 2%未満が、いずれかの部位では 7%が既往ありと回答した。他の疾病や症状の既往歴 (%) を表 2 b に示す。頻度の高いものは、歯周病・虫歯 (70.6)、関節痛 (65.2)、手足のしびれ・いたみ (63.3)、全身のだるさ (59.3)、頭痛 (53.7)、せき・たん (46.0) で、これらは 40%以上の回答者が既往を訴えた。頻度が 30%台であったのは、水虫、高血圧、鼻炎、胃炎で、20%台であったのは、白内障、不整脈、花粉症、貧血、10%台であったのは膀胱炎、高脂血症、胃潰瘍、肝機能異常、骨粗しょう症、喘息であった。性別で集計すると骨粗しょう症が女性で 22.8%と男性 (3.0%) より高頻度に見られた。男女特有の疾病では、女性の子宮筋腫 (15.6%) と男性の前立腺肥大 (14.2%) の既往歴が比較的高頻度であった。

解析対象者の 2,3,4,7,8-PeCDF レベル (血液脂質中濃度, pg/g Lipid) の幾何平均値 (下方・上方四分位数) は 85.5 (25.3 ~ 307.3) pg/g (lipid) で、3.3 から 2121.6 pg/g (lipid) まで分布していた。

28 の疾病と症状について関連を解析したが、ほとんどの疾病と症状で既往歴頻度と血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルの関連は統計学的に有意でなかった。前立腺肥大の既往はオッズ比 (95%信頼区間) が 2.77 (1.14 ~ 6.76) と統計学的に有意な正の関連が見られた ( $P = 0.03$ )。他には、高血圧の既往がオッズ比 (95%信頼区間) が 1.53 (0.97 ~ 2.39) と統計学的に限界的に有意な関連が見られたにとどまった ( $P = 0.06$ )。

表 1 対象者の特性

患者背景	性		計	
	男性 (%)	女性 (%)		
年齢				
	39	8 (2.4)	4 (1.2)	12 (1.8)
	40-49	80 (23.7)	65 (18.8)	145 (21.2)
	50-59	82 (24.3)	64 (18.5)	146 (21.4)
	60-69	52 (15.4)	71 (20.5)	123 (18.0)
	70-79	78 (23.1)	90 (26.0)	168 (24.6)
	80-89	33 (9.8)	47 (13.6)	80 (11.7)
	90-97	4 (1.2)	5 (1.4)	9 (1.3)
認定地				
	福岡県	140 (41.5)	175 (50.6)	315 (46.1)
	長崎県	137 (40.7)	128 (37.0)	265 (38.8)
	その他	60 (17.8)	43 (12.4)	103 (15.1)
計	337 (100)	346 (100)	683 (100)	

表2a 既往歴の頻度 (その1)

ガンなどの部位	性		計 (%)
	男性 (%)	女性 (%)	
食道ガン	1 (0.3)	0 (0.0)	1 (0.1)
胃ガン	6 (1.8)	3 (0.9)	9 (1.3)
腸のガン	4 (1.2)	1 (0.3)	5 (0.7)
肺ガン	7 (2.1)	2 (0.6)	9 (1.3)
肝臓ガン	2 (0.6)	0 (0.0)	2 (0.3)
胆のうガン	3 (0.9)	0 (0.0)	3 (0.4)
すい臓ガン	3 (0.9)	0 (0.0)	3 (0.4)
子宮ガン	- (-)	8 (2.3)	8 (2.3)
卵巣ガン	- (-)	2 (0.6)	2 (0.6)
膀胱ガン	4 (1.2)	2 (0.6)	6 (0.9)
前立腺ガン	5 (1.5)	- (-)	5 (1.5)
皮膚ガン	1 (0.3)	0 (0.0)	1 (0.1)
甲状腺ガン	1 (0.3)	6 (1.7)	7 (1.0)
白血病	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
リンパ腫	2 (0.6)	5 (1.4)	7 (1.0)
上記いずれかに「あり」と回答	23 (6.8)	25 (7.2)	48 (7.0)

表2b 既往歴の頻度 (その2)

	性		計 (%)
	男性 (%)	女性 (%)	
高血圧	110 (32.6)	132 (38.2)	242 (35.4)
脳卒中	6 (1.8)	4 (1.2)	10 (1.5)
脳梗塞	19 (5.6)	19 (5.5)	38 (5.6)
心筋梗塞	6 (1.8)	10 (2.9)	16 (2.3)
狭心症	24 (7.1)	32 (9.2)	56 (8.2)
不整脈	84 (24.9)	91 (26.3)	175 (25.6)
喘息	37 (11.0)	47 (13.6)	84 (12.3)
肺線維症	4 (1.2)	4 (1.2)	8 (1.2)
胆のう炎	10 (3.0)	26 (7.5)	36 (5.3)
B型肝炎	13 (3.9)	12 (3.5)	25 (3.7)
C型肝炎	7 (2.1)	9 (2.6)	16 (2.3)
肝機能異常	64 (19.0)	45 (13.0)	109 (16.0)
その他の肝炎	18 (5.3)	21 (6.1)	39 (5.7)
すい臓炎	10 (3.0)	13 (3.8)	23 (3.4)
胃炎	98 (29.1)	121 (35.0)	219 (32.1)
胃潰瘍	65 (19.3)	46 (13.3)	111 (16.3)
十二指腸潰瘍	43 (12.8)	21 (6.1)	64 (9.4)
膀胱炎	23 (6.8)	104 (30.1)	127 (18.6)
子宮内膜症	- (-)	30 (8.7)	30 (8.7)
子宮筋腫	- (-)	54 (15.6)	54 (15.6)
卵巣のう腫	- (-)	17 (4.9)	17 (4.9)
前立腺肥大	48 (14.2)	- (-)	48 (14.2)
高脂血症	60 (17.8)	67 (19.4)	127 (18.6)
糖尿病	36 (10.7)	31 (9.0)	67 (9.8)
痛風	41 (12.2)	19 (5.5)	60 (8.8)
貧血	51 (15.1)	109 (31.5)	160 (23.4)
腎炎	20 (5.9)	29 (8.4)	49 (7.2)
全身のだるさ	183 (54.3)	222 (64.2)	405 (59.3)
頭痛	148 (43.9)	219 (63.3)	367 (53.7)
関節痛	200 (59.3)	245 (70.8)	445 (65.2)
手足のしびれ・いたみ	193 (57.3)	239 (69.1)	432 (63.3)
せき・たん	163 (48.4)	151 (43.6)	314 (46.0)
骨粗しょう症	10 (3.0)	79 (22.8)	89 (13.0)
白内障	73 (21.7)	126 (36.4)	199 (29.1)
緑内障	6 (1.8)	22 (6.4)	28 (4.1)
甲状腺炎	4 (1.2)	34 (9.8)	38 (5.6)
花粉症	75 (22.3)	89 (25.7)	164 (24.0)
鼻炎	117 (34.7)	114 (32.9)	231 (33.8)
アトピー性皮膚炎	19 (5.6)	35 (10.1)	54 (7.9)
水虫	150 (44.5)	117 (33.8)	267 (39.1)
膠原病	2 (0.6)	7 (2.0)	9 (1.3)
歯周病・虫歯	241 (71.5)	241 (69.7)	482 (70.6)

表3 既往歴頻度と血中脂質2,3,4,7,8-PeCDF レベル\*の関連

既往歴	オッズ比 (95%信頼区間)	P 値
ガン (いずれか)	0.74 (0.35-1.54)	0.42
高血圧	1.53 (0.97-2.39)	0.06
脳梗塞	1.36 (0.61-3.04)	0.45
狭心症	0.73 (0.38-1.40)	0.34
不整脈	0.74 (0.47-1.19)	0.21
喘息	0.91 (0.51-1.63)	0.75
肝機能異常	0.88 (0.52-1.49)	0.64
胃炎	0.98 (0.64-1.51)	0.94
胃潰瘍	0.72 (0.42-1.24)	0.24
十二指腸潰瘍	1.33 (0.64-2.78)	0.44
膀胱炎	0.68 (0.42-1.12)	0.13
子宮内膜症	0.55 (0.23-1.31)	0.18
子宮筋腫	1.31 (0.65-2.61)	0.45
前立腺肥大	2.77 (1.14-6.76)	0.03
高脂血症	1.30 (0.80-2.11)	0.29
糖尿病	0.78 (0.40-1.50)	0.45
貧血	0.83 (0.52-1.31)	0.42
腎炎	0.60 (0.30-1.19)	0.14
全身のだるさ	1.07 (0.68-1.68)	0.78
頭痛	0.94 (0.60-1.46)	0.78
関節痛	1.04 (0.64-1.69)	0.88
手足のしびれ・いたみ	1.23 (0.75-2.00)	0.41
せき・たん	0.99 (0.65-1.51)	0.96
白内障	1.00 (0.61-1.62)	0.99
花粉症	1.10 (0.67-1.80)	0.71
鼻炎	1.18 (0.76-1.85)	0.46
水虫	0.95 (0.62-1.46)	0.82
歯周病・虫歯	1.08 (0.67-1.75)	0.75

\* 2001年度から2005年度に測定された血中脂質ダイオキシン類レベルより、体内半減期を考慮して2005年度の血中脂質ダイオキシン類レベルを推定した。(詳細は本文参照)

## 考 察

これまでの分析疫学的研究から一般住民との比較により、油症患者において肝がん死亡の増加<sup>2)</sup>、台湾の YuCheng 患者で皮膚アレルギー、甲状腺腫、頭痛で有病率の増加<sup>7)</sup>、及び、肝硬変、肝疾患による死亡の増加<sup>8)9)</sup>などが報告されている。しかし、今回の調査結果から疾患の有病率について一般住民との比較を検討する事は困難であり、結果の解釈も極めて難しい。得られた結果は一度でも疾病に罹患、あるいは、症状を自覚した者の頻度で、現時点での有病率を示すものではない。また、予後不良な疾病では罹患した者の多くが死亡している可能性があるため罹患率を推定できない。罹患開始時期も罹患している時期も不明なため、年齢調整も不可能であった。一般集団を対象とした比較可能な既往歴のデータも見つからず、今回の調査結果を一般集団と比較する事はできなかった。しかしながら今回の調査により全国の油症患者が訴えている疾患とその頻度が把握でき、今後の油症患者の健康管理の基礎資料として役立つ事が期待される。

自覚症状については、1986年から1997年までの全国油症検診に参加した認定患者の有訴率は、全身倦怠感(60～76%)、頭重・頭痛(52～68%)、しびれ感(52～71%)、咳嗽及び喀痰(41～57%)と報告されている<sup>4)</sup>。今回の調査結果は既往歴で、ある時間断面の有訴率と厳密な比較ができないが、今回の調査項目でこれらに該当する、全身のだるさ、頭痛、手足のしびれ・いたみ、せき・たんの既往歴を比較すると、上記の有訴率の範囲内かほぼ同等であった。情報取得の方法に問診と調査票調査の違いがあり、対象者に検診参加者と認定油症患者の違いがあるが、両調査結果の違いが小さかった事は興味深い。

血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルとの関連が統計学的に有意であったのは前立腺肥大の既往歴のみであった。前立腺肥大は徐々に進行するのが一般的で、かつ、死亡率を極端に増加させるとは思われなため、既往歴はある程度有病率を反映しているかもしれない。今回の解析結果は前立腺肥大のリスクが 2,3,4,7,8-PeCDF レベルにより増加する可能性を僅かながら示唆している。

高血圧の既往歴は血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルと正の関連が観察され、関連は統計学的に限界的に有意であった。高血圧のリスク要因である血清脂質と血中脂質 2,3,4,7,8-PeCDF レベルの間に関連<sup>10)</sup>が報告されている事を考慮すると、高血圧と 2,3,4,7,8-PeCDF レベルの関連に留意しておくべきであろう。

今回の調査をもとに、油症患者の疾病罹患率や有病率、そして、症状の有訴率について、一般集団と比較可能な詳細な調査、あるいは、患者対照研究やコホート研究のような分析疫学的研究が将来なされる事を期待したい。

## 謝 辞

油症相談員の飯尾靖枝、只熊幸代、山根美喜子各氏に謝意を表する。

## 参 考 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y and Okumura M (eds): Yusho -a human disaster caused by PCBs and related compounds-. Kyushu University Press, 1996.
- 2) Ikeda M and Yoshimura T: Survival of patients, In Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M (eds): Yusho -a human disaster caused by PCBs and related compounds-. pp.315-323, Kyushu University Press, 1996.
- 3) 廣田良夫, 徳永章二, 片岡恭一郎, 篠原志郎. 油症患者の自覚症状と血中 PCB 濃度—発生 25 年後の検診結果より—. 福岡医学会雑誌, 88: 220-225, 1997.
- 4) Tokunaga S and Kataoka K: Association between blood concentration of polychlorinated biphenyls and manifestations of symptoms and signs in chronic “Yusho” patients from 1986 to 1997. Fukuoka Acta Med. 92: 122-133, 2001.
- 5) 岩本幸英, 福士純一: 油症骨・関節病変の臨床的研究. 古江増隆(編): 厚生労働省科学研究費補助金「熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究」平成 18 年度総括・分担報告書, 2007.
- 6) Masuda Y: Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. J Derm Sci. 1: S 11-S 20, 2005.
- 7) Guo YL, Yu ML, Hsu CC and Rogan WJ: Chloracne, goiter, arthritis, and anemia after polychlorinated biphenyl poisoning: 14-year follow-up of the Taiwan Yucheng cohort. Environ Health Perspect. 107: 715-719, 1999.
- 8) Yu ML, Guo YL and Hsu CC: Increased mortality from chronic liver disease and cirrhosis 13 years after the Taiwan “Yucheng” (“oil-disease”) incident. Amer J Ind Med. 31: 172-175, 1997.
- 9) Tsai PC, Ko YC, Huang W, Liu HS and Guo YL: Increased liver and lupus mortalities in 24-year follow-up of the Taiwanese people highly exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. Sci Total Env. 374: 216-222, 2007.
- 10) Tokunaga S and Kataoka K: Fukuoka A longitudinal analysis on the association of serum lipids and lipoproteins concentrations with blood Polychlorinated Biphenyls level in chronic “Yusho” patients. Fukuoka Acta Medica. 94: 110-117, 2003.

(受付 2007-4-3)

大変失礼なお願いで申し訳ございません。本人、住所、お名前の表記に誤りがございましたら、ご訂正いただけますようお願い申し上げます。

様

油症認定の皆様へ

1968年の油症発生から37年の月日が経過いたしました。ご連絡することが可能な認定者の方を対象として、2002年に健康調査を行いました。皆様方が多くの疾患で通院中であることが分かっています。そこで、今回再調査を行いたいと存じます。何卒、ご協力を賜りますようお願い申し上げます。

全国油症治療研究班班長 九州大学皮膚科教授 古江博隆 電話 092-642-5582  
 油症相談員 飯尾 靖枝 電話 090-XXX-XXXX (福岡県在住)  
 油症相談員 只熊 幸代 電話 080-XXX-XXXX (長崎県在住)  
 油症相談員 山根美智子 電話 080-XXX-XXXX (広島県在住)

●この用紙の記入者

本人 ・ 本人以外【お名前： \_\_\_\_\_、 続柄： \_\_\_\_\_】

●油症相談員から、(健康状態の確認のため) 追ってお電話をかけさせていただきます。ご了承ください。連絡可能な電話番号を教えてください。

連絡先 自宅・実家・その他( )	電話番号 ( )	-
---------------------	----------	---

●できれば、かかりつけの病院の名前と電話番号、医師の名前を教えてください。可能ですら書き入れてください。

かかりつけ病院名： \_\_\_\_\_

電話番号： \_\_\_\_\_

かかりつけ医師の名前： \_\_\_\_\_

この調査は、今後の治療を考える上で、とても大切です。20分間の時間をいただきます。是非すべての項目にご回答くださいますようお願い申し上げます。回答は返信用封筒に入れて送付してください。ご協力を深く感謝申し上げます。

●いまだにかかった病気についてお聞きします。あてはまるものには丸をつけてください。わからないところは、できればかかりつけの医師に確認して書き入れてください。空欄を使って、病気の名前を具体的に書き入れてください。

1. ガン	0あり, ガンの名前:	1なし
2. 脳・神経の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
3. 眼の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
4. 口の中の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
5. 鼻・のどの病気	0あり, 病気の名前:	1なし
6. 耳の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
7. 甲状腺の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
8. 肺の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
9. 心臓の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
10. 高血圧や血管の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
11. 肝臓・胆のう・すい臓の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
12. 腎臓・膀胱の病気	0あり, 病気の名前:	1なし
13. 食道・胃・腸の病気	0あり, 病気の名前:	1なし

裏面へ続きます。→



14. 血液の病氣	0 あり, 病氣の名前:	1 なし
15. 子宮・卵巣の病氣	0 あり, 病氣の名前:	1 なし
16. 陰部の病氣	0 あり, 病氣の名前:	1 なし
17. 肛門の病氣	0 あり, 病氣の名前:	1 なし
18. 皮膚の病氣	0 あり, 病氣の名前:	1 なし
19. その他の病氣	0 あり, 病氣の名前:	1 なし

● こつそしょうしょう ざんざんの有無をチェックするための問診

現在の身長 ( cm ) 体重 ( kg )  
 若い頃に比べて身長が低くなったか ( はい, いいえ )  
 何 cm くらい低くなったか ( cm )  
 腰や背中が痛みがあるか ( あり, なし )  
 腰や背中が曲がってきたか ( あり, なし )  
 転倒や些細なことでも骨折したことがあるか ( あり, なし )

● かんたんのつら ( 骨硬化を含む ) の有無と程度をチェックするための問診  
かんたんのつらはありますか ( あり, なし )  
 あればその部位は? ( 膝, 足首, 股関節, 手首, 手の指, 肘, 肩, その他: )

● 今度は具体的な病名を以下にあげてみました。繰り返しになりますが、いままでにかかった病気であてはまるものはいくつでも丸をつけてください。わからないところは、できればわかりやすい医師に確認してください。

20. 食道がん ( <u>い</u> )	25. 胆のうがん ( <u>た</u> )	25. 胆のうがん ( 0 あり, 1 なし )
21. 胃がん ( <u>い</u> )	26. すい臓がん ( <u>ぞう</u> )	26. すい臓がん ( 0 あり, 1 なし )
22. 腸のがん ( <u>ち</u> )	27. 子宮がん ( <u>じ</u> )	27. 子宮がん ( 0 あり, 1 なし )
23. 肺がん ( <u>はい</u> )	28. 卵巣がん ( <u>らんぞう</u> )	28. 卵巣がん ( 0 あり, 1 なし )
24. 肝臓がん ( <u>か</u> )	29. 膀胱がん ( <u>ぼうこう</u> )	29. 膀胱がん ( 0 あり, 1 なし )

30. 前立腺がん ( <u>ぜんりつせんがん</u> )	0 あり, 1 なし	54. 子宮筋腫 ( <u>し</u> )	0 あり, 1 なし
31. 皮膚がん ( <u>い</u> )	0 あり, 1 なし	55. 卵巣のう腫 ( <u>らんそう</u> )	0 あり, 1 なし
32. 甲状腺がん ( <u>こうじょうせん</u> )	0 あり, 1 なし	56. 前立腺肥大 ( <u>ぜんりつぜんびだい</u> )	0 あり, 1 なし
33. 白血病 ( <u>はつ</u> )	0 あり, 1 なし	57. 高脂血症 ( <u>こうしつしやう</u> )	0 あり, 1 なし
34. リンパ腫 ( <u>りんぱしゅ</u> )	0 あり, 1 なし	58. 結核病 ( <u>けつ</u> )	0 あり, 1 なし
35. 血小板減少症 ( <u>こく</u> )	0 あり, 1 なし	59. 肺病 ( <u>つう</u> )	0 あり, 1 なし
36. 胆管石 ( <u>たんのう</u> )	0 あり, 1 なし	60. 貧血 ( <u>ひんけつ</u> )	0 あり, 1 なし
37. 胆嚢炎 ( <u>たんのうえん</u> )	0 あり, 1 なし	61. 腎炎 ( <u>じんえん</u> )	0 あり, 1 なし
38. 心筋梗塞 ( <u>しんきんこうそく</u> )	0 あり, 1 なし	62. 全身のたるみ ( <u>ぜんしん</u> )	0 あり, 1 なし
39. 狭心症 ( <u>せきしんじやう</u> )	0 あり, 1 なし	63. 頭痛 ( <u>づうとう</u> )	0 あり, 1 なし
40. 不整脈 ( <u>ふせいみやく</u> )	0 あり, 1 なし	64. 関節腫 ( <u>かんせつしゅ</u> )	0 あり, 1 なし
41. 喘息 ( <u>ぜんそく</u> )	0 あり, 1 なし	65. 手足のしびれ, いたみ ( <u>てあし</u> )	0 あり, 1 なし
42. 肺線維症 ( <u>はいせんいしやう</u> )	0 あり, 1 なし	66. せき・たん ( <u>せき</u> )	0 あり, 1 なし
43. 胆のう炎 ( <u>たんのうえん</u> )	0 あり, 1 なし	67. 骨粗しょう症 ( <u>こつそしょう</u> )	0 あり, 1 なし
44. D 型肝炎 ( <u>たんぼうがえん</u> )	0 あり, 1 なし	68. 白内障 ( <u>はくわいしやう</u> )	0 あり, 1 なし
45. C 型肝炎 ( <u>しんがたかんえん</u> )	0 あり, 1 なし	69. 緑内障 ( <u>りよくわいしやう</u> )	0 あり, 1 なし
46. 肝機能異常 ( <u>かんえん</u> )	0 あり, 1 なし	70. 甲状腺炎 ( <u>こうじょうせんえん</u> )	0 あり, 1 なし
47. その他の肝炎 ( <u>かんえん</u> )	0 あり, 1 なし	71. 花粉症 ( <u>かふりしやう</u> )	0 あり, 1 なし
48. すい臓炎 ( <u>いざん</u> )	0 あり, 1 なし	72. 鼻炎 ( <u>びやうえん</u> )	0 あり, 1 なし
49. 胃炎 ( <u>いざん</u> )	0 あり, 1 なし	73. アトピー性皮膚炎 ( <u>あといーせいびひえん</u> )	0 あり, 1 なし
50. 自律神経失調症 ( <u>じやくりしきじやうけいしじやう</u> )	0 あり, 1 なし	74. 痔瘻 ( <u>し</u> )	0 あり, 1 なし
51. 十二指腸潰瘍 ( <u>じゆうにじゆうけいしやう</u> )	0 あり, 1 なし	75. 膠原病 ( <u>こうげんびやう</u> )	0 あり, 1 なし
52. 膀胱炎 ( <u>ぼうこうえん</u> )	0 あり, 1 なし	76. 間質性腎炎 ( <u>かんしやうせいじんえん</u> )	0 あり, 1 なし
53. 他に事務局へ連絡したいことをお書きください。	0 あり, 1 なし		

\* 以上です。ご協力ありがとうございました。

## 油症における性腺機能の検討

北九州津屋崎病院 内科  
辻 博, 池田 正春

### Serum Levels of Estradiol, Progesterone and Prolactin in Patients with Yusho

Hiroshi TSUJI and Masaharu IKEDA

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

**Abstract** To evaluate chronic effect of polychlorinated biphenyls (PCB) and polychlorinated dibenzofurans (PCDF) on sex hormones and prolactin, serum levels of estradiol, progesterone and prolactin were studied in 71 female patients with Yusho and 23 controls in 2006. A negative correlation was found between blood PCB concentrations and estradiol levels. There were no significant correlations between blood PCDF concentrations and estradiol levels, progesterone levels or prolactin levels. However, the mean serum estradiol level was significantly lower in 29 patients with high PCDF concentration (higher than 200 pg/g lipid in blood) than in 30 patients with low PCDF concentration (lower than 200 pg/g lipid in blood). We conclude that abnormality of estradiol levels may be associated with blood PCB concentration and blood PCDF concentration in patients with Yusho.

### はじめに

本邦において1968年4月頃よりポリ塩化ビフェニル(PCB)混入ライスオイル摂取により北九州を中心に発生した油症では、発症当初の重症例の検査所見において種々の異常が報告されている<sup>1)</sup>。そして、その原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)の毒性影響が大きいと考えられている<sup>2)3)</sup>。油症発生以来38年が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内のPCB濃度およびPCDF濃度が今なお高く血中PCBの組成には未だに特徴的なパターンが認められ<sup>4)5)</sup>、慢性中毒に移行していると推定される。PCDFは、狭義のダイオキシンのポリ塩化ジベンゾパラジオキシン(PCDD)、コプラナーPCBとともにダイオキシン類と総称されており、これらの物質の毒性は細胞質に存在するアрил炭化水素受容体(Ah受容体)を介すると考えられている。しかしながら、その機構の詳細は未だ不明である。近年、PCB、ダイオキシン類が、ホルモンの合成、分泌、輸送、受容体との結合、作用あるいは不活化等を阻害することにより生体の恒常性維持、生殖、発達、行動に關与す

る正常なホルモン作用を障害する外因性の物質、内分泌攪乱物質として注目されている。

そこで、今回は油症一斉検診の女性受診者において性腺機能検査としてエストラジオール、プロゲステロンおよびプロラクチンを測定し、油症におけるPCBおよびPCDFの性腺機能への影響について検討した。

### 対象および方法

平成18年度福岡県油症一斉検診の女性受診者98名にアンケートによるインフォームドコンセントを実施し、エストラジオール、プロゲステロンおよびプロラクチンの測定に同意が得られた受診者96名中、15歳以上の94例を対象者とした。対象者の内訳は油症患者71例、未認定患者12例、観察1例、初回受診者10例で、平均年齢は64.3±13.5歳(23-87歳)であった。

検診の内容は自覚症状、既往歴、家族歴、理学的所見、検尿、赤血球沈降速度、末梢血液検査、血液生化学検査、胸部レントゲン検査、心電図および腹部超音波検査などよりなり、採血は午前中の空腹時に行なった。性腺機能検査としてエストラジオールおよびプロゲステロンは電気化学発光

測定法 (electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA) 法 (エクルーシス試薬 E2 II およびエクルーシス試薬プロゲステロン II, ロシュ・ダイアグノスティックス社) により, プロラクチンは化学発光免疫測定法 (chemiluminescence immunoassay, CLIA) 法 (アーキテクト・プロラクチン, アボットジャパン社) により測定した。また, PCB の測定は福岡県保健環境研究所, 福岡市衛生試験場, 北九州市環境科学研究所および第一薬科大学物理分析で, PCDF の測定は福岡県保健環境研究所で行なった。

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

## 結 果

平成 18 年度福岡県油症一斉検診においてエストラジオール, プロゲステロンおよびプロラクチンの測定に同意が得られた 15 歳以上の女性受診者 94 例中, プロゲステロン値が異常を示したものはみられなかったが, エストラジオール値が 10 pg/mL 以下の低下を示したものを 48 例 (51.1%) と多く認めた。また, プロラクチンの低下を 15 例 (16.0%) に, 上昇を 4 例 (4.3%) に認めた。

油症における性腺機能と PCB の関連をみるために女性受診者 94 例について血中 PCB 濃度とエストラジオール値, プロゲステロン値およびプロラクチン値との相関について検討した。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関を認めた ( $r=0.5517$ ,  $P<0.001$ )。血中 PCB 濃度とプロゲステロン値 ( $r=-0.1482$ ) およびプロラクチン値 ( $r=-0.0814$ ) の間に相関をみなかったが, 血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に有意の負の相関を認めた ( $r=-0.3051$ ,  $P<0.005$ )。そして, この相関は 50 歳以上の女性受診者 78 例についてもみられ, 血中 PCB 濃度とエストラジオール値の間に有意の負の相関を認めた ( $r=-0.2330$ ,  $P<0.05$ )。

性腺機能を測定しえた 15 歳以上の女性受診者 94 例中, 平成 17 年度福岡県油症一斉検診を受診し血中 PCDF 濃度を測定したものは 59 例であった。血中 PCDF 濃度を測定した女性受診者 59 例について, 血中総 PCDF 濃度とエストラジオール値, プロゲステロン値およびプロラクチン値との相関について検討した。血中総 PCDF 濃度とエス

**Table 1** 血中総 PCDF 低濃度群および高濃度群における血清エストラジオール, プロゲステロンおよびプロラクチン値

No.	総 PCDF 濃度	
	<200 pg/g 脂肪 30	≥200 pg/g 脂肪 29
エストラジオール (pg/mL)	41.7±78.9	10.7±2.1*
プロゲステロン (ng/mL)	0.94±4.02	0.15±0.11
プロラクチン (ng/mL)	12.8±10.3	10.6±15.1

\* :  $P<0.05$  vs. 総 PCDF 濃度<200 pg/g 脂肪。

トラジオール値 ( $r=-0.1886$ ), プロゲステロン値 ( $r=-0.1111$ ) およびプロラクチン値 ( $r=-0.1156$ ) の間に相関をみなかった。次に, 血中総 PCDF 濃度 200 pg/g 脂肪未満の女性受診者 30 例を総 PCDF 低濃度群, 血中総 PCDF 濃度 200 pg/g 脂肪以上の女性受診者 29 例を総 PCDF 高濃度群として両群間のエストラジオール値, プロゲステロン値およびプロラクチン値について検討を行なった。総 PCDF 低濃度群の平均総 PCDF 濃度は 69.9±56.3 pg/g 脂肪, PCDF 高濃度群の平均総 PCDF 濃度は 720.7±504.3 pg/g 脂肪であった。エストラジオール値は総 PCDF 低濃度群 41.7±78.9 pg/ml に比べ高濃度群 10.7±2.1 pg/ml と有意の低下を認めた ( $P<0.05$ ) (Table 1)。しかし, プロゲステロン値は総 PCDF 低濃度群 0.94±4.02 ng/ml に対して高濃度群 0.15±0.11 ng/ml, プロラクチン値は総 PCDF 低濃度群 12.8±10.3 ng/ml に対して高濃度群 10.6±15.1 ng/ml であり, いずれも両群間に差はみられなかった。

## 考 察

油症は原因油の分析から原因物質として PCDF の毒性影響が大きいと考えられている<sup>2)3)</sup>。PCDF を含むダイオキシン類は内分泌攪乱化学物質として注目されている。1976 年にイタリア北部のセバソで発生したダイオキシン類汚染事故では, 事故後に出生が女兒に偏る傾向が報告されている<sup>6)</sup>。また, ダイオキシン類が子宮内膜組織に対しエストロゲンと同様の作用をすることにより子宮内膜症を引き起こす可能性が報告されている。Rier ら<sup>7)</sup> はアカゲザルに 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin を 4 年間投与し, 投与終了 10 年後に腹腔鏡を施行し子宮内膜症の頻度および重症度を評価した。そして, 子宮内膜症の頻度およ



び重症度が2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin投与量に関連することを報告している。そして、卵巣を摘除したマウスにおいてもAh受容体アゴニストがエストロゲンと同様に子宮内膜細胞を増殖することが報告されており<sup>8)</sup>、ダイオキシン類は生体内においてAh受容体を介しエストロゲンと同様の作用をすると考えられる。

油症患者におけるホルモン影響については甲状腺機能が検討されており、油症発生16年後の1984年度福岡県油症一斉検診において対照者に比ベトリヨードサイロニンおよびサイロキシンの上昇を認めることが報告されている<sup>9)</sup>。また、油症発症28年後の1996年の甲状腺機能検査において、甲状腺ホルモンは血中PCB濃度3.0ppb以上のPCB高濃度群と3.0ppb未満のPCB低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体が高濃度群の41例中8例(19.5%)と低濃度群の40例中1例(2.5%)に比べ高頻度に認められた<sup>10)</sup>。ダイオキシン類の性腺機能への影響についてはダイオキシンに暴露した男性においてテストステロンの低下と黄体形成ホルモン(LH)および卵胞刺激ホルモン(FSH)の上昇が報告されている<sup>11)</sup>。しかしながら、油症におけるPCBおよびPCDFの性腺機能への影響についての詳細は未だ不明である。

今回の検討では女性受診者にエストラジオール値の低下を51.1%と高頻度に認めたが、エストラジオール値の低下は受診者の平均年齢が64.3歳と高齢であり、多くが閉経後と考えられる50歳以上の女性受診者が94例中78例と多いためと考えられた。そして、女性受診者の血中PCB濃度とエストラジオール値の間に有意の負の相関を認めた。血中PCB濃度と年齢の間に有意の正の相関を認めることより血中PCB濃度とエストラジオール値の相関に閉経によるエストラジオール値の低下が関与している可能性が考えられる。しかし、閉経後の50歳以上の女性についても相関が認められることよりエストラジオール値の低下には閉経のみではなくPCBが関与していると考えられる。また、血中総PCDF濃度とエストラジオール、プロゲステロンおよびプロラクチンとの関連についての検討では血中総PCDF濃度とエストラジオール、プロゲステロンおよびプロラクチンの間に有意の相関をみなかった。しかし、血中総

PCDF濃度200pg/g脂肪未満の総PCDF低濃度群および200pg/g脂肪以上の総PCDF高濃度群の検討においてプロゲステロン値およびプロラクチン値は両群間に差はなかったが、エストラジオール値は総PCDF低濃度群に比べ総PCDF高濃度群において有意の低下を認めた。エストラジオール値の低下にPCDFが関与している可能性が考えられた。

油症におけるPCBおよびPCDFの性腺機能への影響について検討し、PCBおよびPCDFがエストラジオール値を低下させる可能性が示唆された。今回の検討では血中PCDF濃度を測定した女性受診者が59例と少数であった。血中PCDF濃度を測定した受診者を増加し、さらなる検討が必要と考えられた。

## 総 括

平成18年度福岡県油症一斉検診を受診した15歳以上の女性受診者94例を対象に油症におけるPCBおよびPCDFの性腺機能への影響について検討した。血中PCB濃度とプロゲステロン値およびプロラクチン値の間に相関をみなかったが、エストラジオール値との間に有意の負の相関を認めた。また、血中総PCDF濃度とエストラジオール、プロゲステロンおよびプロラクチンの間に相関をみなかった。しかし、血中総PCDF濃度200pg/g脂肪以上の総PCDF高濃度群および血中総PCDF濃度200pg/g脂肪以下の低濃度群の検討においてプロゲステロン値およびプロラクチン値は両群間に差はみられなかったが、エストラジオール値は総PCDF低濃度群に比べ総PCDF高濃度群において有意の低下を認めた。

## 参 考 文 献

- 1) 奥村恂, 勝木司馬之助: いわゆる油症(塩化ビフェニール中毒)の臨床的研究, とくに内科的所見について. 福岡医誌 60: 440-446, 1969.
- 2) 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.
- 3) Oishi S, Morita M and Fukuda H: Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 43: 13-22, 1978.

- 4) 飯田隆男, 芥野岑男, 高田智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人: ヒトの血液中におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリ塩化クアテルフェニルについて. 福岡医誌 72: 185-191, 1981.
- 5) 増田義人, 山口早苗, 黒木広明, 原口浩一: 最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニル異性体. 福岡医誌 76: 150-152, 1985.
- 6) Mocarelli P, Brambilla P, Gerthoux PM, Patterson DG Jr and Needham LL: Change in sex ratio with exposure to dioxin. Lancet 348: 409, 1996.
- 7) Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP and Becker JL: Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Fundam. Appl. Toxicol. 21: 433-441, 1993.
- 8) Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Toyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y and Kato S: Modulation of oestrogen receptor signaling by association with the activated dioxin receptor. Nature 423: 545-550, 2003.
- 9) 村井宏一郎, 辻 博, 梶原英二, 赤木公博, 藤島正敏. 油症患者の甲状腺機能. 福岡医誌 76: 233-238, 1985.
- 10) 辻 博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一, 橋口衛, 藤島正敏: 油症患者における甲状腺機能: 油症発生28年後の検討. 福岡医誌 88: 231-235, 1997.
- 11) Egeland GM, Sweeney MH, Fingerhut MA, Wille KK, Schnorr TM and Halperin WE: Total serum testosterone and gonadotropins in workers exposed to dioxin. Am. J. Epidemiol. 139: 272-281, 1994.

(受付 2007-4-3)

## 油症患者における歯周疾患ならびに 口腔内色素沈着の疫学的調査 (第六報)

<sup>1)</sup>九州大学大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯内疾患制御学研究分野

<sup>2)</sup>九州歯科大学口腔病理学講座

<sup>3)</sup>奥村歯科医院

橋口 勇<sup>1)</sup>, 吉嶺 嘉人<sup>1)</sup>, 前田 英史<sup>1)</sup>, 後藤 康治<sup>1)</sup>, 石河 真幸<sup>1)</sup>,  
藤井 慎介<sup>1)</sup>, 友清 淳<sup>1)</sup>, 福山 宏<sup>2)</sup>, 奥村 英彦<sup>3)</sup>, 赤峰 昭文<sup>1)</sup>

### An Epidemiologic Examination on the Prevalence of the Periodontal Diseases and Oral Pigmentation in Yusho Patients in 2006

Isamu HASHIGUCHI<sup>1)</sup>, Yoshito YOSHIMINE<sup>1)</sup>, Hidefumi MAEDA<sup>1)</sup>, Yasuharu GOTOU<sup>1)</sup>,  
Masaki ISHIKAWA<sup>1)</sup>, Shinsuke FUJII<sup>1)</sup>, Atsushi TOMOKIYO<sup>1)</sup>, Hiroshi FUKUYAMA<sup>2)</sup>,  
Hidehiko OKUMURA<sup>3)</sup> and Akifumi AKAMINE<sup>1)</sup>

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

<sup>2)</sup> *Department of Oral Pathology Kyushu Dental  
College, Kitakyushu, Fukuoka 803-8580*

<sup>3)</sup> *Okumura Dental Clinic, Nagasaki*

**Abstract** An epidemiologic examination was carried out to reveal the prevalence of the periodontal diseases and oral pigmentation in patients with Yusho in 2006. The results obtained were as follows. 1) 98 patients out of 106 patients with Yusho, who were measured periodontal pocket depth according to Ramfjord' methods, had at least one tooth with periodontal pocket deeper than 3 mm. Similarly, 343 teeth out of a total 494 examined teeth showed periodontal pocket with more than 3 mm depth. 2) Oral pigmentation was observed in 61 patients out of 116 patients with Yusho. In this study, gingival pigmentation was most predominant among oral pigmentation. The prevalence of oral pigmentation in male patients seemed to be somewhat higher than that in female patients. In addition, this examination revealed that the patients below the age of sixty had a high prevalence of oral pigmentation. These results indicated that PCB-related compounds may be responsible for the higher prevalence of both periodontal diseases and oral pigmentation.

### はじめに

我々は従来より福岡県で年一回行われる油症患者の一斉検診において、油症患者の口腔内所見について追跡調査を行ってきた。その結果、油症患者における最も顕著な口腔内所見として口腔粘膜の色素沈着が認められ<sup>1)</sup>、また歯周疾患罹患率が高いことを報告してきた<sup>2)~5)</sup>。そこで、平成18年度の福岡県における油症患者の一斉検診時の結果を基に、口腔内疾患特に歯周疾患や口腔内色素沈着の罹患状況について検討を行った。

### 検診方法

平成18年度の福岡県油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象として、問診、視診やX線診(パントモグラフ)と同時に歯周ポケット診査を行った。歯周ポケット診査はRamfjordが提唱している方法に準じて行った。すなわち、上顎右側第一大臼歯、上顎左側中切歯、上顎左側第一小臼歯、下顎右側第一小臼歯、下顎右側中切歯、下顎左側第一大臼歯を対象歯として、各歯牙の近心頬側歯肉溝に約25gの荷重下でポケット

表1 油症患者の年代別受診者数

年代	性別		計
	男性	女性	
30~49	2 (2)	9 (9)	11 (11)
50~59	12 (12)	7 (7)	19 (19)
60~69	12 (12)	20 (19)	32 (31)
70~79	19 (17)	25 (22)	44 (39)
80~89	3 (1)	7 (5)	10 (6)
計	48 (44)	68 (62)	116 (106)

( ) : 歯周ポケット診査対象歯が少なくとも1歯以上残存している患者数

表2 主訴の内訳

主訴*	男性 (名)	女性 (名)	計 (名)
歯痛	13	6	19
歯肉出血	6	4	10
歯肉腫脹	3	7	10
歯牙挺出感	4	3	7
歯牙動揺	4	0	4
知覚過敏	0	3	3
その他	3	8	11

\* 重複回答有り

表3 3 mm以上の歯周ポケットの分布状態

罹患歯数	性別												計(名)		
	0		1		2		3		4		5			6	
年代	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
30~49	0	0	0	1	1	4	0	1	0	1	0	0	1	2	11
50~59	1	2	1	0	0	1	0	0	1	2	5	2	4	0	19
60~69	2	1	1	1	2	2	1	2	2	5	2	5	2	3	31
70~79	0	2	4	7	3	8	3	1	3	0	4	2	0	2	39
80~89	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	2	6	6
計(名)	3	5	7	10	6	15	4	4	6	9	11	10	7	9	106

表4 部位別の3 mm以上の歯周ポケットを有する歯牙数

	部位	6]	1]	4]	4]	1]	6]	計
男性	罹患歯数	22	22	25	29	28	26	152
	総被検歯数	29	30	29	36	40	31	195
	%	75.9	73.3	86.2	80.6	70.0	83.9	77.9
女性	罹患歯数	26	31	39	42	26	27	191
	総被検歯数	43	53	52	55	55	41	299
	%	60.5	58.5	75.0	76.4	47.3	65.9	63.9
計	罹患歯数	48	53	64	71	54	53	343
	総被検歯数	72	83	81	91	95	72	494
	%	66.7	63.9	79.0	78.0	56.8	73.6	69.4

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

探針 PCP-11 (Hu-Friedy 社) を挿入し, 3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙について mm 単位で測定した。また, パントモグラフを用いて歯槽骨吸収の程度や残存歯の状態の把握を行った。

## 結 果

平成 18 年度に歯科を受診した油症認定患者は男性 48 名, 女性 68 名, 計 116 名であった (表 1)。問診にて口腔内の病変ないし不快症状を訴えた患者数は 45 名で, その内訳としては, 歯痛, 歯肉出血や歯肉腫脹といった歯髓や歯周組織の炎症が多かったが, 口腔内色素沈着による審美障害の訴えはなかった (表 2)。

歯周ポケット診査は, 無歯顎患者ならびに歯周

診査対象歯を全て喪失している患者を除いた 106 名 (男性 44 名, 女性 62 名) を対象として行った (表 1)。深さ 3 mm 以上の歯周ポケットを 1 歯でも有している患者は 98 名 (92.5%) と非常に高い割合を示した (表 3)。同様に 3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は, 494 の総被検歯のうち 343 歯 (69.4%) であり, 男女別にみると男性の罹患率が高い値を示した (表 4, 図 1)。また 3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙を部位別に比較すると, 上顎左側第一小臼歯が 79% と最も罹患率が高く, 次いで下顎右側第一小臼歯, 下顎左側第一大臼歯, 上顎右側第一大臼歯, 上顎左側中切歯と続き, 最も罹患率の低い下顎右側中切歯でも約 57% と高い値を示した (表 4)。一方, 4 mm 以上

の歯周ポケットを有する歯牙は85歯で、総被検歯に占める割合は17.2%と低かった。年齢別にみると、70代の患者を除き、加齢と共に歯周ポケット罹患率は上昇しており、歯牙残存率と負の相関を示した(図1)。歯種別の歯牙残存率をみると、加齢と共に大白歯の残存率が他の歯牙に比べて低い値を示した(図2)。

口腔粘膜に色素沈着を有する者は、男性29名(60.4%)、女性32名(47.1%)、計61名(52.6%)で、男性の方が高い発現傾向を示した。また、60歳未満の患者では30名中22名(73.5%)に色素沈着が認められたのに対し、60歳以上では86名中39名(45.3%)にしか認められず、加齢と共に色素沈着の発現率は低下する傾向がみられた(図3)。

部位別にみると、歯肉の色素沈着が最も多く、次いで頬粘膜、口唇の順で認められた。色素沈着の程度をみると、+が最も多く、以下±, ++, +++の順であった(図3)。色素沈着の発現率を経年的にみると、平成5(1993)年度までは低下していたが、それ以降は上昇している。平成15(2003)年度と平成18(2006)年度の色素沈着発現率を部位別に比較すると、歯肉では同程度であるが、頬粘膜では上昇していた(図4)。平成15年度と平成18年度における年代別の頬粘膜色素沈着発現率を比較すると、いずれの年代でも平成18年度において発現率の増加が認められ、また、男性で多く発現する傾向にあった(図5)。

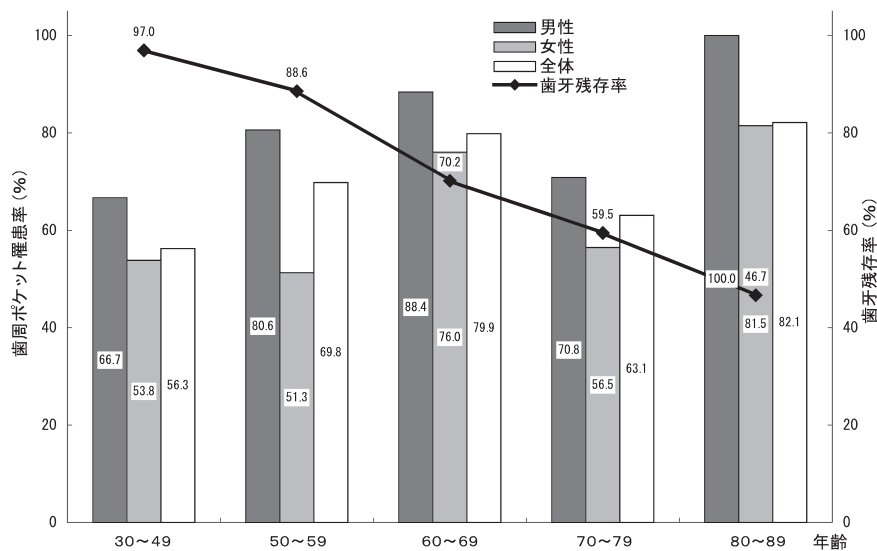


図1 年代別にみた3mm以上の歯周ポケット罹患率と歯牙残存率

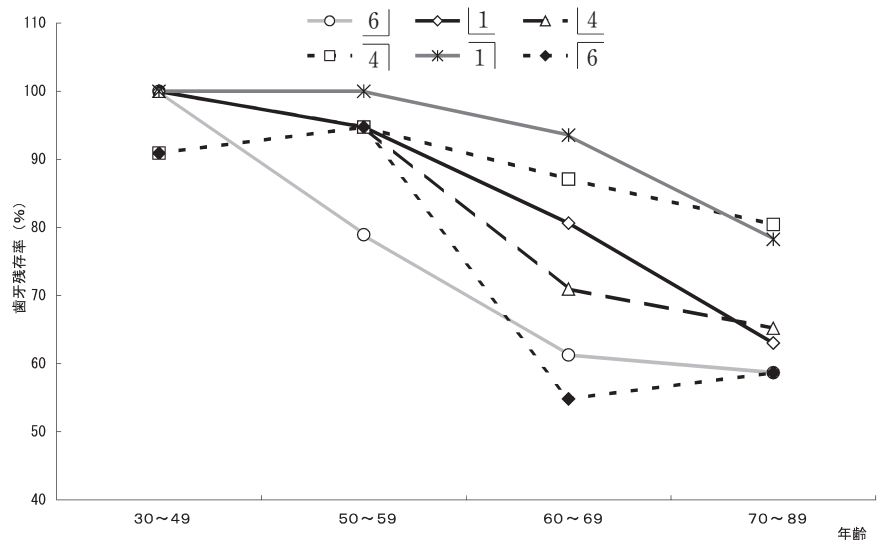


図2 年代別、歯種別の歯牙残存率

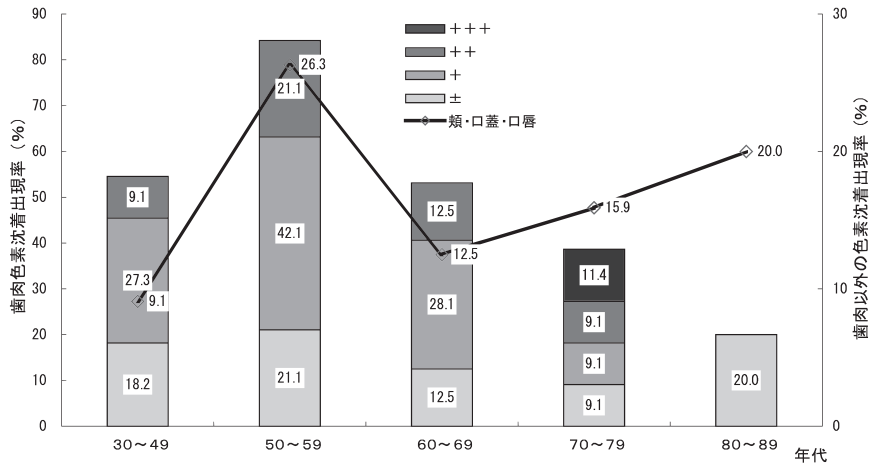


図3 年代別にみた色素沈着出現率

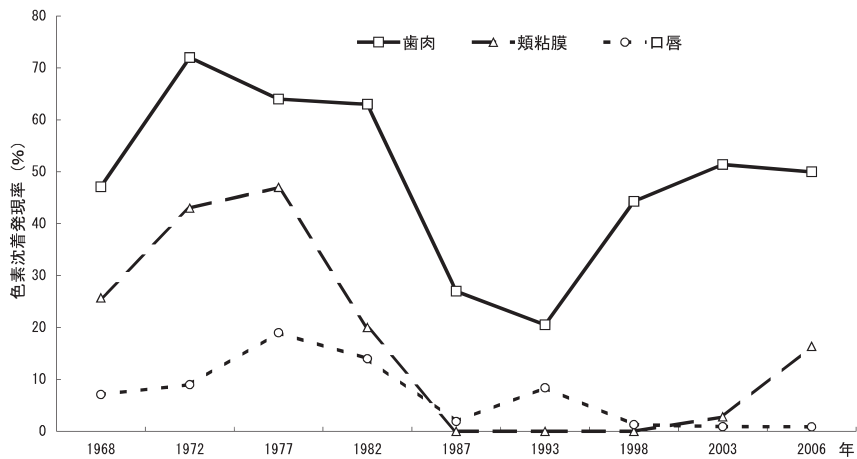


図4 部位別にみた色素沈着発現率の経年的変化

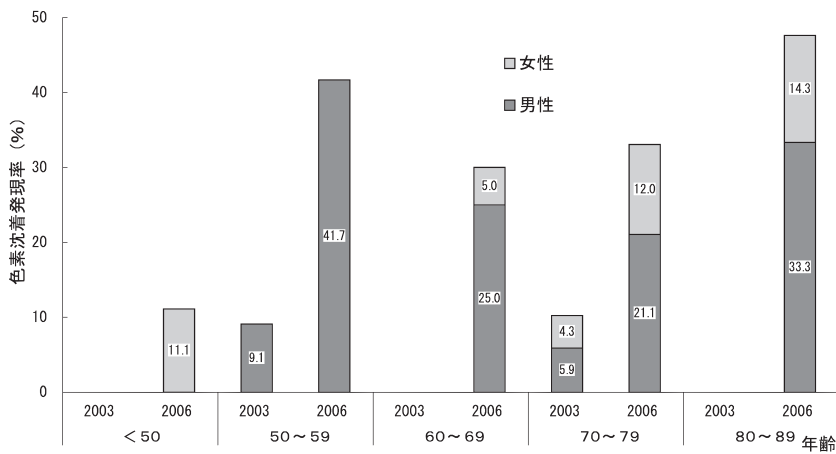


図5 2003年ならびに2006年における頬粘膜色素沈着発現率



## 考 察

3 mm 以上のいわゆる病的歯周ポケットを1歯でも有している患者の割合は92.5%で、平成16年度(73.3%)、平成17年度(83.1%)に比べて増加していた。同様に3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙の割合も69.4%に達し、平成16年度(46.3%)、平成17年度(56.9%)に比べて増加していた。しかし、歯周ポケット診査を受けた患者一人当たりの診査対象歯牙数は4.66歯で、平成16年度(4.55歯)、平成17年度(4.63歯)と変化はみられなかった。しかし、歯周ポケット診査を受けた患者中に占める60歳以上の患者の割合を比較すると、本年度は72%で平成17年度(74%)とほぼ同じであったが、平成16年度(67%)より高い値を示した。高齢者ほど歯周ポケット罹患率が高くなることから、歯周ポケット罹患率の増加は油症患者の高齢化に起因すると考えられる。部位別に比較すると、前歯や小臼歯に比べて大臼歯の罹患率が高かった過去の報告<sup>2)</sup>と異なり、大臼歯よりも小臼歯で高い値を示しており、また、前歯においても過半数の歯牙に歯周ポケットが認められた。実験的PCB中毒によって骨の代謝異常が惹起されることが報告<sup>6)</sup>されていることから、PCB等の中毒によって歯槽骨の代謝異常が生じたため高い罹患率を示した可能性が考えられる。しかし、ほとんどが深さ4 mm未満であったことから、患者の高齢化に伴う現象と考えるのが妥当であろう。また、男性で罹患率が高かったが、歯周病のリスクファクターとして喫煙が知られており、生活習慣の差によるものと考えられる。今回、小臼歯が最も高い罹患率を示した原因として、咬合負担過重が考えられる。即ち、加齢と共に他の歯種に比べて大臼歯が喪失する割合が高くなっており、小臼歯のみでの咬合あるいは小臼歯が義歯の鉤歯となり、咬合性外傷が生じた結果と思われる。今後益々患者の高齢化が進むことから、患者の口腔内健康を守るために適切な口腔衛生指導はもちろん、適切な咬合の維持や生活習慣の改善についても指導を行っていく必要があると考えられる。

今回の検診において口腔内の色素沈着の発現率は52.6%であり、過去の報告<sup>2)~5)</sup>と同様に発現率は女性に比べて男性で高く、また60歳以上の患者に比較して60歳未満の患者で高い傾向を示した。

体内に蓄積されたPCB等の原因物質が減少していることに伴い、眼科や皮膚科領域では特異的な色素沈着は経年的に減少していることが報告されている<sup>7)8)</sup>。しかし、今回得られた発現率は平成15年度(52.4%)とほぼ同様の値を示し、色素沈着の発現率の低下は認められなかった。また、平成15年度に比べると、歯肉の色素沈着発現率はやや減少傾向にあるものの、頬粘膜においては発現率の上昇がみられた。奥村ら<sup>9)</sup>は、血中濃度に比べて、頬粘膜中のPCQ濃度とPCB濃度はそれぞれ約91倍と36倍と非常に高いことを報告している。また、福山ら<sup>10)</sup>は色素沈着を有する女性患者に物理的な色素沈着除去療法を行ったところ、術後2ヶ月から1年で色素沈着の再発がみられたことを報告している。口腔内におけるPCB等の濃度が高いため、あるいは色素沈着の再発が生じたために、口腔内色素沈着の発現率が高いのかもしれない。しかし、色素沈着の消失に関する詳細な機序に関しては不明な点が多く、今後更なる検索が必要と思われる。

## 結 論

油症患者における歯周組織疾患の罹患状態や口腔内色素沈着の発現頻度の経年的変化を把握するために、平成18年度油症一斉検診受診者を対象に口腔内診査を行い、以下の結果が得られた。

1, 深さ3 mm以上の歯周ポケットを1歯でも有している患者は、被験者106名中98名(92.5%)と非常に高い割合を示した。同様に3 mm以上の歯周ポケットを有する歯牙は、494の総被検歯のうち343歯(69.4%)であったが、そのほとんどは深さ4 mm未満であった。

2, 口腔内色素沈着の発現率は52.6%であった。部位としては、歯肉の色素沈着がほとんどで口蓋の色素沈着は認められなかった。傾向としては、女性より男性の発現率が高く、また若年者に比較して高齢者に多く認められた。

これらの結果は、PCBやPCB関連物質が歯周炎や口腔内色素沈着に関与していることを示唆しているかもしれない。

## 参 考 文 献

- 1) 青野正男, 岡田 宏: 油症患者の口腔所見について, 福岡医誌 60: 468-470, 1969.

- 2) 橋口 勇, 鳥谷芳和, 阿南 壽, 前田勝正, 赤峰昭文, 青野正男, 福山 宏, 奥村英彦: 油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査, 福岡医誌 86: 256-260, 1995.
- 3) 橋口 勇, 古川和洋, 赤峰昭文, 福山 宏, 奥村英彦: 油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査 (第三報), 福岡医誌 90: 150-153, 1999.
- 4) 橋口 勇, 山座孝義, 小石裕子, 後藤康治, 吉嶺嘉人, 赤峰昭文, 福山 宏, 奥村英彦: 油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査 (第四報), 福岡医誌 92: 115-119, 2001.
- 5) Hashiguchi I, Yoshimine Y, Gotou Y, Maeda H, Wada N, Akamine A, Fukuyama H and Okumura H: An epidemiologic examination on the prevalence of the periodontal diseases and oral pigmentation in Yusho patients in 2002. Fukuoka Acta Med. 94: 81-86, 2003.
- 6) 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.
- 7) 本房昭三, 堀 嘉昭, 利谷昭治, 旭 正一: 1989, 1990 年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状, 福岡医誌 82: 345-350, 1991.
- 8) 向野利彦, 大西克尚: 油症患者の眼症状, 福岡医誌 82: 342-344, 1991.
- 9) 奥村英彦, 益田宣弘, 赤峰昭文, 青野正男: 油症患者の頬粘膜における PCB, PCQ 濃度, PCB パターンおよび CB%比について, 福岡医誌 78: 358-364, 1987.
- 10) 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.  
(受付 2007-4-2)

## 福岡県油症検診（2006年度）受診者における血液 PCB 濃度と性状

<sup>1)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup> 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>3)</sup> 社団法人 日本食品衛生協会

<sup>4)</sup> 財団法人 北九州生活科学センター

堀 就英<sup>1)</sup>, 安武大輔<sup>1)</sup>, 戸高 尊<sup>2)</sup>, 平川博仙<sup>1)</sup>,  
井上 英<sup>3)</sup>, 梶原淳睦<sup>1)</sup>, 中川礼子<sup>1)</sup>, 芦塚由紀<sup>1)</sup>,  
飯田隆雄<sup>4)</sup>, 吉村健清<sup>1)</sup>

### Blood PCB Concentrations and their Characteristics Examined in Fukuoka 2006 Annual Inspection for Yusho

Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>, Daisuke YASUTAKE<sup>1)</sup>, Takashi TODAKA<sup>2)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>1)</sup>,  
Suguru INOUE<sup>3)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Reiko NAKAGAWA<sup>1)</sup>, Yuki ASHIZUKA<sup>1)</sup>,  
Takao IDA<sup>4)</sup> and Takesumi YOSHIMURA<sup>1)</sup>

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

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

<sup>3)</sup> *Japan Food Hygiene Association, Tokyo 050-0001, Japan*

<sup>4)</sup> *Kitakyushu Life Science Center, Fukuoka 804-0003, Japan*

**Abstract** We analyzed sixty-eight PCB isomers and determined their concentrations and characteristics in fifty-eight individual blood samples collected during the annual Yusho inspection in 2006. The method used in this study consists of a rapid GPC clean-up and sensitive PCB isomer-specific identification with HRGC/HRMS. As a result, the highest total PCB concentration in inspected subjects was 6.6 ppb on a blood weight basis, which was 8.1 times higher than that of a control blood sample. When blood PCB patterns were compared among twenty-seven persons in undergoing examinations both 2004 and 2006, the longitudinal classifications in the respective individuals hardly changed between these years. Mean concentrations of each PCB isomer in the blood of pattern A subjects (n=4) were compared with those in the blood collected from Fukuoka prefecture residents (n=127). Consequently, the respective blood concentrations of PCB # 157, # 156, # 189, # 137, # 195, # 170, # 99 were obviously higher than those of Fukuoka residents, while those of PCB # 118, # 105 was evidently lower than those of Fukuoka residents.

### はじめに

油症患者の血液抽出物をガスクロマトグラフで測定して得られる波形（クロマトグラム）には特徴があり、その形状は一般健常者のものと部分的に異なることが知られている。この事象は患者体内に残留する PCB の異性体組成が一般健常者と異なることを意味している。端的に言えば、ガス

クロマトグラフで分離し同定・定量した 2,3',4,4',5-pentaCB (PCB # 118) 及び 2,3,3',4,4',5-hexaCB (PCB # 156) の各濃度を、2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB # 153) 濃度を基準として各々の比を算出すると、前者は一般健常者に比べて有意に低く、後者は高い<sup>1)</sup>。これらの特徴は患者特有の症状（ざ瘡様皮疹など）の重症度と強く関連することが示されている<sup>2)</sup>。患者血液に見いだされる PCB の特異的な残留は、過去に原因ライスオイルを摂取したことを良好に反映する指標であり、その所見は油症診断上重要な意義を有している。1972 年、油症診断基準に「血中 PCB 濃度の性状及び濃度の異

Address for Correspondence: Tsuguhide HORI  
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,  
39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan  
TEL +81-92-921-9946 FAX +81-92-928-1203  
E-mail hori@fihes.pref.fukuoka.jp

常」が追加され、現在は認定患者及び未認定者を対象に自治体が年一回の検診を実施し、この際受診者の血液を採取して PCB 分析を行うに至っている。

PCB は使用・製造が禁止された現在も多くの媒体（土壌、大気、生物試料等）から高頻度に検出される環境汚染物質である。ヒトは PCB を主に食事経路で日々摂取しており、現代人の血中 PCB 濃度は加齢に伴い増加する傾向を示している<sup>3)</sup>。これらの事実は油症患者の体内に“原因ラيسオイル”と“環境汚染”という由来の異なる PCB が混在し、徐々に“環境汚染型”PCB の比率が高まることを示唆している。結果として油症における「高濃度の PCB 残留と特異的な異性体組成」という特徴が次第に薄れ、今後の患者識別や重症度判定の精度に影響を及ぼす可能性がある。また油症発生から 38 年余りが経過し、患者体内に高濃度に残留していた PCB は徐々に排泄され、健常者との明らかな相違を認めにくくなっている。さらに最近の油症検診では、事件発生後に患者・未認定者から出生した次世代以降の受診者が増え、検査対象が PCB 濃度の低い若年層に拡大している。そこで我々は油症診断の正確性を維持するための一環として、血液 PCB 測定法を改良して分析精度を向上させるための検討を行ってきた<sup>4)5)</sup>。2004 年には血液中の PCB 異性体 68 種類を異性体別に分離して、これらを迅速かつ精密に定量する方法を確立した<sup>6)</sup>。また同年度に本手法を用いて福岡県内に在住する 60 才以上の一般住民 127 名から同意を得て提供された血液中の PCB を分析し、一般健常者における血液 PCB 濃度の実態把握を行った<sup>7)</sup>。今回、同様の手法を用いて 2006 年度の福岡県油症検診受診者のうち 58 名から採取した血液を分析して PCB 濃度と性状を明らかにするとともに、油症患者における PCB 各異性体の残留特性を調べたので報告する。

## 実験方法

### 1. 分析試料

2006 年度に福岡県内の油症一斉検診を受診しインフォームドコンセントを得た 58 名について血液 PCB 測定を実施した。58 名の内訳は認定患者 15 名と未認定者 43 名であった。未認定者の内訳は所見なし (OB) 23 名、初回受診者 18 名及び

経過観察者 2 名であった。血液 PCB の性状の解析（パターン解析）では、対照血液として福岡県内に在住する一般成人 10 名から提供された血液を等量ずつ混合したものをを用いた。血中 PCB の性状が対照血液と大きく異なる場合は「A」、対照と区別できない場合「C」、その中間タイプとして「B」または「BC」と分類した<sup>1)</sup>。

### 2. 分析方法

測定試料の調製は既報<sup>6)</sup>に準じて行った。68 種類の PCB 同族体 (3~10 塩素化物) を分析対象とした。以下、分析対象化合物を IUPAC 番号で表記して示す；3 塩化物 (TriCB, 成分数 3) : # 29, # 28, # 37. 4 塩化物 (TetraCB, 成分数 11) : # 52, # 49, # 47, # 44, # 71, # 63, # 74, # 70, # 66, # 56/60. 5 塩化物 (PentaCB, 成分数 13) : # 95, # 92, # 101, # 99, # 117, # 87, # 85, # 110, # 107, # 123, # 118, # 114, # 105. 6 塩化物 (HexaCB, 成分数 18) : # 151, # 135, # 147, # 139, # 134, # 165, # 146, # 132, # 153, # 141, # 137, # 130, # 164, # 138, # 128, # 167, # 156, # 157. 7 塩化物 (HeptaCB, 成分数 11) : # 179, # 178, # 182, # 183, # 181, # 177, # 172, # 180, # 191, # 170, # 189. 8 塩化物 (OctaCB, 成分数 8) : # 202, # 200, # 201/198, # 203, # 195, # 194, # 205. 8 塩化物 (NonaCB, 成分数 3) : # 208, # 207, # 206. 10 塩化物 (DecaCB, 1 種類) : # 209.

### 3. 装置及び条件

GPC システム：オートサンプラー MIDAS, デガッシングユニット DG 660 B, 送液ポンプ PU 614-F, UV デテクター UV 702, フラクションコレクター FC 693 (いずれも GL サイエンス(株)製)。

GPC カラム：MSpak GF-310 4 D (内径 4.6 mm, 長さ 150 mm, 昭和電工(株)製)

GPC 移動相 (流速)：アセトン (0.1 ml/min)。

高分解能ガスクロマトグラフ・高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS)：HP 6890 ガスクロマトグラフ (Agilent 社製), 質量分析計 AutoSpec Ultima (Micromass 社製)。

HRGC/HRMS の測定条件は既報<sup>6)</sup>に示した通りであった。



## 実験結果及び考察

### 1. 油症検診受診者の血液 PCB 濃度と性状

受診者 58 名の PCB 分析結果をもとにパターン解析を実施した。結果として、認定患者 15 名のうち 4 名は A パターンに、4 名が B パターンに、3 名が BC パターンに、4 名が C パターンに分類された。OB 23 名では 1 名が BC パターンとなり、その他は全て C パターンとなった。初回受診者 18 名のうち 2 名は B パターンに、4 名が BC パターンに、12 名が C パターンに分類された。観察者は 2 名とも C パターンに分類された。

A パターンに分類された 4 名の総 PCB 濃度(全血重量あたり)は 0.73~6.6 ppb (平均 2.8 ppb) の範囲であり、4 名はいずれも認定患者であった。同様に B パターン (6 名) では 0.48~2.4 ppb (平均 1.3 ppb), BC パターン (8 名) で 0.22~2.3 ppb (平均 1.2 ppb), C パターン (40 名) で 0.052~3.2 ppb (平均 0.97 ppb) の範囲であった。一方、対照血液試料の総 PCB 濃度は 0.82 ppb であった。受診者 58 名における総 PCB 濃度の最高値は 6.6 ppb であり、これは対照血液に対して 8.1 倍高い値であった。

今回、検診受診者 58 名のうち 27 名について 2004 年度に引き続いて再び分析を行うことができた。両年のパターン判定結果は 27 名のうち 23 名で一致していた。判定が不一致であった 4 名の内訳は患者 3 名, OB 1 名であった。このうち患者 1 名で 2004 年度が B であったものが 2006 年度に BC となった他は BC-C 間の変移であり、2004 年と 2006 年の判定結果を同一人で比較した場合に大きな違いは認められなかった。この結果より近年の検診受診者の血液 PCB の残留特性に大きな変化は見られないこと、2004~2006 年にまたがるパターン判定の精度が維持されていることが示唆された。

2006 年度の検診受診者 58 名と 2004 年度に調べた福岡県の一般住民 127 名の PCB 濃度<sup>7)</sup>を Table 1 に示した。認定患者における 6~8 塩化物 (HexaCBs, HeptaCBs, OctaCBs) の各濃度は他のグループよりも高く、Total hexaCBs の平均濃度は一般住民に対して 1.4 倍、Total heptaCBs は 1.4 倍、Total octaCBs は 1.3 倍であった。一方、未認定者における 3~8 塩化物の

平均濃度はいずれも一般住民よりも低い値となっていた。これは一般住民 127 名の年齢構成が 68~86 才 (平均 68.1 才) であったのに対し、2006 年度の検診受診者は 10~80 才と幅広く、未認定者に多く含まれる低年齢層が PCB 平均濃度を下げる方向へ寄与したものと考えられる。

### 2. 油症検診受診者と一般住民との PCB 異性体濃度の比較

Table 2 は認定患者及び未認定者の一般住民に対する血液 PCB の濃度比を異性体別に算出した結果である。比較する認定患者は 60~81 才 (平均 72.0 才) の 10 名、未認定者は 61~84 才 (平均 68.5 才) の 19 名とし、分析対象の PCB 68 種異性体のうち全血重量あたりの濃度が 10 pg/g 以上を示したものを表示した。

認定患者の各 PCB 異性体の平均濃度は一般住民に対して全般に高い傾向を示した。一般住民に対して濃度が顕著に高かった化合物を濃度比の高い順に挙げると PCB # 157, # 156, # 189, # 137, # 195, # 170, # 99 であり、一般住民に対してそれぞれ 5.1 倍, 4.8 倍, 4.7 倍, 3.2 倍, 2.9 倍, 2.5 倍, 2.5 倍の濃度であった。これらの化合物は油症原因ライスオイルから比較的高濃度に検出されている<sup>8)</sup>。一方、未認定者における PCB 各異性体の平均濃度は一般住民と非常に近接しており、一般住民に対する濃度比は 0.89~1.4 の範囲であった。PCB # 156 は油症患者における特異的かつ高濃度の残留が油症発生から間もなく判明した異性体であり、その残留濃度はパターン判定作業におけるパラメータとして用いられている。同様にパラメータとして使用されている PCB # 118 は油症患者では特異的に低く検出される化合物であり、油症原因物質による酵素誘導作用<sup>9)</sup>により代謝排泄が亢進した結果と考えられている。今回、PCB # 118 と同様に PCB # 105 において濃度比が低くなる傾向が認められた。この化合物も PCB # 118 と同様に酵素誘導の影響を受けている可能性がある。ここに列挙した化合物は原因ライスオイルを摂取したことを示す指標の化合物として注目される。

PCB の食事経由の平均摂取量は、PCB の製造使用中措置がとられた 1974 年以降ゆるやかに減少したが、近年は明確な減少傾向は見られずほぼ横ばいである。1995 年における調査結果では一

**Table 1** Blood PCB concentrations of Yusho patients, Yusho suspected persons and Fukuoka prefecture residents.

Congener	Concentration (pg/g whole blood basis)*								
	Yusho patients (n=15)			Yusho suspected persons (n=43)			Fukuoka pref. residents (n=127)**		
	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean
245-triCB (# 29)	nd	nd	-	nd	nd	-	nd	0.29	0.079
244'-triCB (# 28)	2.6	18	5.7	nd	26	6.4	2.3	43	8.5
344'-triCB (# 37)	nd	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	-
22'55'-tetraCB (# 52)	1.3	9.4	3.9	0.11	19	3.4	1.3	16	4.1
22'45'-tetraCB (# 49)	0.54	2.9	1.5	0.47	4.2	1.8	0.33	2.3	1.0
22'44'-tetraCB (# 47)	0.71	4.3	2.7	nd	5.7	1.7	0.81	4.6	1.9
22'35'-tetraCB (# 44)	nd	3.1	1.2	nd	2.8	0.93	0.35	3.3	1.5
23'4'6-tetraCB (# 71)	nd	1.7	0.63	nd	1.6	0.50	nd	1.2	0.61
234'5-tetraCB (# 63)	nd	1.1	0.35	nd	1.6	0.39	0.057	2.0	0.47
244'5-tetraCB (# 74)	6.8	150	53	1.8	190	48	12	240	64
23'4'5-tetraCB (# 70)	0.17	2.2	0.99	nd	1.4	0.49	0.17	2.2	0.83
23'44'-tetraCB (# 66)	1.37	15	5.5	nd	25	5.7	1.4	40	7.7
233'4'-/2344'-tetraCBs (# 56/60)	0.87	6.4	2.4	nd	10	2.6	0.52	16	2.9
22'35'6-pentaCB (# 95)	nd	4.9	2.7	nd	8.7	2.9	0.86	9.5	2.7
22'355'-pentaCB (# 92)	nd	6.3	1.7	nd	8.9	1.5	0.50	16	2.8
22'455'-pentaCB (# 101)	2.8	13	6.1	0.70	21	5.2	1.3	26	6.1
22'44'5-pentaCB (# 99)	7.7	350	74	2.0	100	30	10	120	40
234'56-pentaCB (# 117)	nd	27	4.1	nd	8.9	1.9	0.63	14	3.0
22'345'-pentaCB (# 87)	nd	6.0	2.5	nd	4.0	1.1	0.63	8.2	2.2
22'344'-pentaCB (# 85)	nd	0.70	0.30	nd	1.4	0.27	0.16	2.8	0.70
233'4'6-pentaCB (# 110)	nd	1.9	1.2	nd	1.8	0.97	0.39	2.9	1.3
233'4'5-pentaCB (# 107)	nd	4.8	2.0	nd	9.2	2.0	0.56	17	3.2
2'344'5-pentaCB (# 123)	nd	2.7	0.95	nd	4.6	1.1	0.24	8.0	1.5
23'44'5-pentaCB (# 118)	9.2	120	54	3.8	200	50	16	360	79
2344'5-pentaCB (# 114)	0.63	23	7.4	nd	16	3.8	1.6	17	5.5
233'44'-pentaCB (# 105)	2.3	26	11	0.87	37	10	3.0	78	17
22'355'6-hexaCB (# 151)	nd	14	3.5	nd	9.2	2.1	0.83	18	4.0
22'33'56-hexaCB (# 135)	nd	2.6	1.0	nd	3.4	0.52	0.43	6.3	1.5
22'34'56-hexaCB (# 147)	nd	5.1	1.2	nd	4.9	0.77	0.14	6.1	1.6
22'344'6-hexaCB (# 139)	nd	7.7	2.9	nd	5.8	1.1	0.44	9.5	2.6
22'33'56-hexaCB (# 134)	nd	nd	-	nd	nd	-	nd	0.55	0.090
233'55'6-hexaCB (# 165)	nd	nd	-	nd	nd	-	nd	nd	-
22'34'55'-hexaCB (# 146)	5.2	190	50	1.2	100	27	15	150	44
22'33'46'-hexaCB (# 132)	nd	3.0	0.77	nd	3.1	0.33	0.044	3.7	0.91
22'44'55'-hexaCB (# 153)	35	1100	360	6.5	650	190	93	880	290
22'3455'-hexaCB (# 141)	nd	1.2	0.30	nd	2.4	0.13	0.12	4.9	1.1
22'344'5-hexaCB (# 137)	1.3	140	23	nd	20	6.9	2.9	33	9.6
22'33'45'-hexaCB (# 130)	nd	92	14	nd	23	5.7	1.9	35	8.4
233'4'5'6-hexaCB (# 164)	7.3	340	76	1.8	120	37	nd	190	62
22'344'5'-hexaCB (# 138)	14	870	200	5.3	280	85	41	420	130
22'33'44'-hexaCB (# 128)	0.59	3.9	1.9	nd	5.1	1.4	0.43	9.2	2.8
23'44'55'-hexaCB (# 167)	1.5	16	8.7	0.41	25	6.5	3.4	47	12
233'44'5-hexaCB (# 156)	2.9	670	92	0.49	58	18	8.9	92	26
233'44'5'-hexaCB (# 157)	1.3	170	24	nd	16	4.8	2.3	21	6.5
22'33'566'-heptaCB (# 179)	nd	2.3	0.88	nd	2.5	0.54	0.13	3.0	0.67
22'33'55'6-heptaCB (# 178)	3.1	50	22	nd	45	14	7.4	62	20
22'344'56-heptaCB (# 182)	14	210	110	1.89	210	63	32	280	90
22'344'5'6-heptaCB (# 183)	2.0	93	33	nd	50	15	6.5	59	20
22'344'56-heptaCB (# 181)	nd	12	1.6	nd	2.3	0.47	nd	0.8	0.23
22'33'4'56-heptaCB (# 177)	4.0	83	27	0.73	65	15	5.1	60	18
22'33'455'-heptaCB (# 172)	1.4	65	14	nd	19	6.0	3.4	31	9.5
22'344'55'-heptaCB (# 180)	30	830	250	4.2	460	120	74	650	190
233'44'5'6-heptaCB (# 191)	1.0	32	5.9	nd	10	1.8	0.85	6.6	2.4
22'33'44'5-heptaCB (# 170)	9.9	550	110	1.6	140	39	22	180	55
233'44'55'-heptaCB (# 189)	0.77	84	12	nd	8.6	2.5	1.3	11	3.3
22'33'55'66'-octaCB (# 202)	1.4	16	7.3	nd	20	5.1	nd	130	9.0
22'33'45'66'-octaCB (# 200)	0.47	3.0	1.7	nd	2.9	0.88	nd	39	2.2
22'33'4'55'6-/22'33'455'6-octaCBs (# 201/198)	5.0	91	34	nd	67	20	12	130	32
22'344'55'6-octaCB (# 203)	3.0	130	33	nd	48	15	8.9	91	25
22'33'44'56-octaCB (# 195)	1.5	53	13	nd	20	5.6	1.9	21	5.8
22'33'44'55'-octaCB (# 194)	5.5	150	39	nd	58	19	8.6	130	27
233'44'55'6-octaCB (# 205)	nd	7.4	1.6	nd	2.3	0.49	0.33	2.7	0.99
22'33'455'66'-nonaCB (# 208)	1.3	8.5	3.5	nd	9.2	2.0	0.44	7.4	2.5
22'33'44'566'-nonaCB (# 207)	nd	6.5	2.0	nd	3.3	0.99	0.18	3.2	1.1
22'33'44'55'6'-nonaCB (# 206)	1.9	33	8.6	nd	12	4.5	2.2	20	6.3
22'33'44'55'66'-decaCB (# 209)	1.9	7.3	4.0	nd	8.0	3.0	1.6	12	4.4
Total triCBs	2.6	18	5.7	nd	26	6.5	2.4	43	8.6
Total tetraCBs	20	170	73	7.1	230	65	18	320	85
Total pentaCBs	29	460	170	13	400	110	41	680	170
Total hexaCBs	69	3600	860	16	1300	390	200	1900	600
Total heptaCBs	67	2000	580	8.6	990	280	160	1290	410
Total octaCBs	17	440	130	0.66	200	66	38	420	100
Total nonaCBs	3.8	48	14	0.045	23	8	2.8	29	9.8
Total PCBs	210	6600	1800	52	3200	920	520	4600	1390

\*nd: not detected (<0.03 pg/g whole blood basis)

\*\*Kajiwara et al. (2005)



**Table 2** Mean concentration ratios of dominant PCB congeners detected in Yusho patients and Yusho suspected persons to those of Fukuoka residents.

Congener	Mean concentration ratio for Fukuoka residents (n=127)	
	Yusho patients (n=10)	Yusho suspected persons (n=19)
244'5-tetraCB (# 74)	1.1	1.3
22'44'5-pentaCB (# 99)	2.5	1.1
23'44'5-pentaCB (# 118)	0.87	1.0
2344'5-pentaCB (# 114)	1.8	1.1
233'44'-pentaCB (# 105)	0.85	0.98
22'34'55'-hexaCB (# 146)	1.5	0.94
22'44'55'-hexaCB (# 153)	1.6	0.99
22'344'5-hexaCB (# 137)	3.2	1.1
22'33'45'-hexaCB (# 130)	2.3	1.0
233'4'5'6-hexaCB (# 164)	1.6	0.92
22'344'5'-hexaCB (# 138)	2.0	0.95
23'44'55'-hexaCB (# 167)	0.95	0.89
233'44'5-hexaCB (# 156)	4.8	1.1
233'44'5'-hexaCB (# 157)	5.1	1.1
22'33'55'6-heptaCB (# 178)	1.4	1.1
22'344'56-heptaCB (# 182)	1.5	1.1
22'344'5'6-heptaCB (# 183)	2.2	1.1
22'33'4'56-heptaCB (# 177)	1.9	1.3
22'33'455'7-heptaCB (# 172)	2.0	0.97
22'344'55'7-heptaCB (# 180)	1.7	1.0
22'33'44'5-heptaCB (# 170)	2.5	1.1
233'44'55'7-heptaCB (# 189)	4.7	1.1
22'33'4'55'6-/22'33'455'6-octaCBs (# 201/198)	1.4	0.94
22'344'55'6-octaCB (# 203)	1.7	0.94
22'33'44'56-octaCB (# 195)	2.9	1.4
22'33'44'55'7-octaCB (# 194)	1.8	1.1
22'33'44'55'6-octaCB (# 206)	1.7	0.97

一般人の食事経由の PCB 摂取量は約 0.5  $\mu\text{g}/\text{day}$  と見積もられている<sup>10)</sup>。また増田らは 2000~2002 年に油症患者 28 名及び一般市民 151 名から採取した血液を分析し、24 種類の PCB 異性体を分離・定量した<sup>11)</sup>。この結果によれば、一般人では各 PCB 異性体濃度と年齢との間に高い相関が見られたが、油症患者では PCB # 118, # 138, # 156, # 180, # 170 の各異性体濃度に年齢との相関を認めなかった。油症患者の体内には食事から日常的に摂取され、結果として年齢との相関を認める PCB 異性体が多く存在し、僅かずつながらその蓄積量は増加している。油症患者に特異的に検出される PCB 異性体の残留状況を把握することは、油症患者の識別性の向上に役立つと考えられる。

## 総 括

2006 年度に福岡県で実施した油症検診受診者のうち 58 名の血液 PCB 分析を実施した。高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) を用い、血液中の PCB 異性体 68 種類を精密に定量した。58 名における総 PCB

濃度の最高値は 6.63 ppb であり、これは対照血液に対して 8.1 倍高い値であった。2004 年度と 2006 年度のパターン判定結果を 27 名について比較したところ、判定結果にほとんど変化は認められなかった。

認定患者 10 名と未認定者 19 名の血中 PCB 各異性体の平均濃度を一般住民 127 名と比較した。一般住民 127 名と比較した。認定患者で顕著に高い濃度で検出された異性体は PCB # 157, # 156, # 189, # 137, # 195, # 170, # 99 であった。一方、顕著に低い濃度を示した異性体は、PCB # 118, # 105 であった。

## 謝 辞

本研究の一部は 2006 年度厚生労働科学研究費補助金 (生活安全研究事業) に負うものである。ここに記して謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) 増田義人, 香川梨絵, 島村京子, 高田真由美, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人の血液中のポリ塩化ビフェニール, 福岡医誌 65: 25-27, 1974.
- 2) 幸田 弘, 増田義人: 九州大学付属病院油症外来患者の血中 PCB 濃度と臨床症状との関係, 福岡医誌 66: 624-628, 1975.
- 3) Hirai T, Fujimine Y, Watanabe S and Nakano T: Congener-specific analysis of polychlorinated biphenyl in human blood from Japanese. Environmental Geochemistry and Health, 27: 65-73, 2005.
- 4) 中川礼子, 中村又善, 平川博仙, 堀 就英, 飯田隆雄: キャピラリーカラム GC/MS による油症患者及び健常者血液中 PCB の分析—パックドカラム ECD/GC 従来法との比較—, 福岡医誌 90: 184-191, 1999.
- 5) 中川礼子, 芦塚由紀, 堀 就英, 平川博仙, 飛石和夫, 飯田隆雄: 血中 PCB パターン判定における従来法と異性体分析法の同等性について, 福岡医誌 94: 144-147, 2003.
- 6) 堀 就英, 飛石和夫, 芦塚由紀, 中川礼子, 戸高尊, 平川博仙, 飯田隆雄: ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 及び高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) による血中 PCB 異性体別分析, 福岡医誌 96: 220-226, 2005.
- 7) 梶原淳睦, 堀 就英, 飛石和夫, 芦塚由紀, 中川礼子, 戸高 尊, 平川博仙, 飯田隆雄: 一般健常人の血中 PCB 異性体分析, 日本食品衛生学会第

- 90 回学術講演会講演要旨集, p 115, さいたま市, 2005 年.
- 8) 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆: 油症研究 30 年の歩み. p 274, 九州大学出版会, 福岡, 2000 年.
- 9) 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.
- 10) 桑原克義, 松本比佐志, 村上保行, 堀伸二郎: 19 年間 (1977 年~1995 年) におけるトータルダイエットスタディー法による大阪在住成人の PCB 及び有機塩素系農薬の 1 日摂取量の推移, *食衛誌* 38: 286-295, 1997.
- 11) 増田義人, 原口浩一, 古野純典: 油症患者における PCB 異性体の 30 数年間にわたる特異な残留, *福岡医誌* 94: 136-143, 2003.  
(受付 2007-4-3)

## 油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs, PCDFs の濃度変遷

<sup>1)</sup> 第一薬科大学 健康化学教室

<sup>2)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>3)</sup> Health and Welfare Canada

増田 義人<sup>1)</sup>, 吉村 健清<sup>2)</sup>, 梶原 淳睦<sup>2)</sup>

John Jake Ryan<sup>3)</sup>

### Trend of PCB / PCDF Concentrations in the Blood of Yusho Patients for 38 Years after the Incidence

Yoshito MASUDA<sup>1)</sup>, Takesumi YOSHIMURA<sup>2)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>2)</sup> and John Jake Ryan<sup>3)</sup>

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

<sup>2)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences  
39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 813-0135*

<sup>3)</sup> *Health and Welfare Canada, Health Protection Branch  
Ottawa, Ontario K1A 0L2, Canada*

**Abstract** Concentrations of 2,3',4,4',5-pentaCB (PCB118), 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB153), 2,3,3',4,4',5-hexaCB (PCB156) and total PCB congeners (PCBs) in the blood of Yusho patients, surveyed by the annual medical examination in Fukuoka Prefecture, have been gradually decreased from 1974 (7 ppb) to 2006 (3 ppb). The patients are classified into 3 types of Yusho, namely, Yusho A: having typical Yusho gas chromatogram (GC) pattern, Yusho B: between Yusho A and Yusho C, and Yusho C: having GC pattern similar to those of Controls. The concentrations of PCB153, PCB156 and PCBs in the blood of Yusho A were higher than those of Yusho B and Yusho C in order. However, the concentrations of PCB118 in the blood of Yusho A were lower than those of Yusho B and Yusho C in order. Simple correlation coefficients between the concentrations of PCB118, PCB153, PCB156 and PCBs in the blood of Yusho patients and their ages at the blood sampling were examined from 1974 to 2006. The significant correlations were rather rare among them from 1974 to 1991, increasing number to 2000, and finally almost all to 2006, as observed in the blood of Fukuoka Controls in 1999 in which all the correlations are significant. However, the correlation coefficients between the concentrations of PCB118 and PCB156 in the blood of Yusho patients have been insignificant throughout from 1974 to 2006 with a few exceptions. By the use of the data of 3 Taiwan Yucheng patients and 5 Fukuoka Yusho patients, chronological concentrations of PCB118, PCB153, PCB156, 2,3,4,7,8-pentaCDF (23478F) and 1,2,3,4,7,8-hexaCDF (123478F) in the blood of Yusho patients were figured out from the outbreak of the poisoning to the present for 38 years. Very high concentrations of PCBs (20-90 ppb) and PCDFs (100-500 ppt) just after the onset were gradually decreased to 0.04-1.3 ppb of PCBs and 0.3-5 ppt of PCDFs in 2005 with the biological half-lives of 3.84, 6.31, 7.24, 4.98 and 4.30 years, respectively. The particular declining mode of the PCB congeners during 38 years and the correlation coefficients between the concentrations of PCB118, PCB153, PCB156, 23478F and 123478F in the blood of Yusho patients indicated that PCB118 concentrations have been decreased by the coexisting PCB156, 23478F and others which have very strong enzyme inducing activities and the PCB118 has been metabolized by the enzyme inducers to hydroxyl-PCBs which firmly bind to transthyretin (thyroxin transport protein) in the blood and disturb the hormonal effects.

Address correspondence: Yoshito MASUDA  
3-6-6 Maimatsubara, Higashi-ku, Fukuoka 813-0042  
Tel: +81-92-682-0396, E-mail: yoshito.masuda@nifty.ne.jp

## はじめに

ポリ塩化ビフェニル (PCB) 中毒事件は北部九州一帯で 1968 年に発生した。カネクロール(日本の PCB 商品名) が混入されたライスオイルを食用油として摂取したために発生したので、油症と呼ばれている。そのライスオイルには PCB だけでなく、PCB の加熱により生成されたポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) およびポリ塩化クオータフェニル (PCQ) も含まれていた事が後になって分かった。結局、油症は PCB, PCDF, PCQ 混合物による中毒であり、今までに認定された患者は 1860 名以上となった<sup>1)2)</sup>。当初は血液中の微量の PCB を分析する方法もなかったが、1973 年頃から血液中の PCB 分析が可能になり<sup>3)</sup>、1974 年頃からは油症一斉検診の際に PCB の分析もできるようになった。油症患者体内から PCDF が検出<sup>4)</sup>されたのは 1977 年ごろであるが、血液中の PCDF を異性体ごとに定性定量分析できた<sup>5)</sup>のは 1997 年ごろであり、一斉検診の時に採取された少量の血液から PCDF が分析できる<sup>6)7)</sup>ようになったのは 2002 年からである。1979 年に台湾で油症と同様の中毒事件が発生した。台湾油症患者では事件直後から血液が提供されて、血液中の微量 PCDF が分析可能になった時に測定したので、PCB, PCDF 異性体ごとの濃度を分析できた<sup>8)</sup>。また、福岡および台湾の油症患者の血液分析データをつなぎ合わせるにより事件発生当時から 30 年間の PCB および PCDF 濃度の変化を推定することができた<sup>9)</sup>。福岡の一斉検診および台湾油症患者で測定された多くの PCB, PCDF 異性体の分析データを総合的に検証して、事件当時から現在に至る PCB, PCDF の濃度変化を観察する。更に、油症患者が摂取した毒性の強い PCB, PCDF 異性体の濃度および患者の年齢との相関関係を調査して、PCB, PCDF が摂取されて 38 年間に患者体内でどのように変化してきたか、それらの異性体ごとの動態を解明する。

## 実験方法

### 血液試料

1974 年より毎年 9 月頃から福岡県の油症一斉検診が行われている。その時に採取された血液を県内の 4 研究機関 (福岡県保健環境研究所, 北九

州環境科学研究所, 福岡市保健環境研究所, 第一薬科大学) で毎年 PCB の分析が行われた。1975, 1994, 1996 年を除く 1974 年から 2006 年までの 30 年分の測定データを調査した。

台湾および福岡の油症患者から供与された血液が冷凍保存されていた。台湾油症患者 3 名の性別および出生年は次の通り, BS: 男, 1962 年, RK: 女, 1954 年, SS: 男, 1946 年, 福岡油症患者 5 名は KK: 女, 1937 年, TS: 女, 1927 年, YUM: 女, 1935 年, TH: 女, 1921 年, HH: 女, 1917 年。PCB および PCDF の分析は第一薬科大学および Health and Welfare Canada で行なわれた。

### PCB 分析方法

1974 年ごろの PCB 定量分析はまだ正確なものではなかった。血液をアルカリ分解して、ヘキサンで抽出し、電子捕獲検出器付ガスクロマトグラフで分析した。カネクロールを標準品として用い、ガスクロマトグラフに現れる 10 本程度のピーク高さの総和を血液 PCB のピーク総和と比較して定量された。従って測定値は正確ではなかったので、有効数字 1 桁で定量値を示した<sup>3)</sup>。ガスクロマトグラム上のピークパターンが油症患者と一般人では異なっていたので、それを見分けるために、農薬 DDE による最も高いガスクロマトピークの後に現れる PCB のピークに順次番号をつけ Peak 1, 2, 3, 4, 5... とした。Peak 1, Peak 2, および Peak 5 はそれぞれ 2, 3', 4, 4', 5-pentaCB (PCB118), 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexaCB (PCB153), および 2, 3, 3', 4, 4', 5-hexaCB (PCB156) に相当する<sup>10)</sup>。そのピーク高さの割合 Peak 1 / Peak 2 および Peak 5 / Peak 2 を求めて油症 PCB のパターン判定に利用された。この方法では全 PCB (PCBs) 濃度は測定されていたが、Peak 1, Peak 2 および Peak 5 の濃度は求められていなかった。Peak 2 は PCB の主成分であり、PCBs 濃度の 15% 位を占める事が多いので、PCBs 濃度の 15% を Peak 2 の濃度とした。Peak 2 に対するピーク高さの割合から計算して Peak 1 および Peak 5 の濃度を求めた。1988 年ごろから、ピークごとの濃度割合が求められているカネクロールを標準とする数値化法<sup>11)</sup> が使われたのでピークごとの PCB 濃度が求められるようになった。最近ではそれぞれの PCB 異性体が標準品として使用されているので、PCB



異性体ごとの濃度が正確に求められている<sup>12)</sup>。検診表には Peak 1 (PCB118 相当), Peak 2 (PCB153 相当), Peak 5 (PCB 156 相当) および PCBs の血液中濃度が記載されるようになった。

### PCDF の分析方法

血液中 PCDF 等の分析は① Health and Welfare Canada 又は②福岡県保健環境研究所において行われた。①の分析法<sup>6)13)</sup>の概略：血液に<sup>13</sup>C-PCDD, <sup>37</sup>Cl-PCDF を内標準物質として加え、ヘキサンなどで抽出し、脂質を取り出し、その溶液を積層シリカゲルカラムおよび活性炭カラムにかけ、ジクロロメタン・トルエン等の溶媒で PCDF 等を流出させ、濃縮して、キャピラリーカラム・二重収束質量分析計 (VG Analytical-7070 EQ) で分析した。②の分析法<sup>6)7)</sup>の概略：新しく開発された微量 PCDD, PCDF の正確な分析法を用いた。血液 5 g に<sup>13</sup>C-PCDF 等の内標準物質を添加し、その脂質を特別な溶媒抽出装置で抽出し、それを積層シリカゲルカラムおよび活性炭カラムにかけ、ジクロロメタン・トルエンなどの溶媒で PCDF 等を分取し、特殊溶媒除去装置付・高分離能ガスクロマトグラフ・高分解能質量分析計 (Hewlett-Packard 6890-A) で定量分析をした。

### 生体半減期の計算

事件後 6000 日 (約 16 年) 頃では台湾油症患者および福岡油症患者の血液が分析されているので、それらのデータより比例関係で福岡油症患者の事件直後 (正確には 233 日後) の血中濃度を求めた。事件直後からの生体内半減期は次の式で計算して求めた。

$$-0.693 \times (T_2 - T_1) / \ln(C_2 / C_1)$$

$T_2 - T_1$  : 事件直後に採血した日から次に採血した日までの経過日数  
 $C_1$  : 事件直後の血液中濃度,  
 $C_2$  : 採血時の血液中濃度

### 統計解析

統計解析にはビジュアル統計ソフト StatFlex (アーテック, 大阪) を使用した。検出限界以下で定量分析できなかった場合は、検出限界値の 1/2 をその濃度として統計計算をした。

## 結 果

### 一斉検診で測定された PCB の濃度変化

福岡県の一斉検診に来られた油症認定患者の PCB は次の 3 種類の血液 PCB パターンに分けられている。すなわち、パターン A (油症特有の PCB ガスクロマトグラムを示す), パターン B (パターン A およびパターン C の中間) およびパターン C (一般人の PCB ガスクロマトグラムに近い) である。油症 A, 油症 B, 油症 C および一般人の血液中 PCBs の平均濃度と最低・最高の濃度を Table 1 に示す。データは 1974 年から 2006 年までの間の 30 回分の記録である。1975 年, 1994 年および 1996 年の 3 回分のデータは入手できなかった。血液 PCB が A パターン, B パターンおよび C パターンである油症患者の平均 PCB 濃度は 1976 年ではそれぞれ 7.39, 4.00 および 3.56 ppb であったものが 30 年後の 2005 年にはそれぞれ 1/2 程度の 3.39, 2.06, 1.53 ppb になっていた。これに対し、一般人では 3.84 ppb であったものがその 1/4 の 0.83 ppb と減少していた。血液中 PCBs の濃度減少率は一般人の方が油症患者よりも大きいように観測される。

PCB118, PCB153, PCB156 および PCBs についてそれぞれの油症患者 A, B, C および一般人における 1974 年から 2006 年までの濃度推移を Fig. 1 に示す。PCBs と PCB153 は全体の期間を通して同じ様な濃度変化で減少している。PCB153 は PCBs の 15% 程度を占める主要な成分であるので必然的にそうなったと考えられる。これらの濃度は油症患者 A で最も高く油症患者 B, 油症患者 C と順次低くなり、一般人ではさらに低い。32 年間の濃度減少は油症患者 A, B および C でははじめの濃度の 33 ~ 44% になっていた。一般人でははじめの濃度の 20 ~ 25% に減少していた。PCB156 は油症患者に特有に高い濃度で残留している PCB であるので油症患者 A で特に高く、油症患者 B および C では順次低くなっている。PCB 分析が始められた 1974 年頃の PCB156 濃度は、その後多少変動しているが、2000 年頃までは同じ様なレベルで維持されており、それ以降は減少傾向にある。PCB118 は他の PCB と異なり、その濃度は油症患者 A で最も低く、一般人の濃度よりも低い、油症患者 B および C では順次高



**Table 1** Concentrations of PCBs in the blood of Yusho Patients having pattern A, B and C and of Controls. The blood samples were collected from 1974 to 2006.

	Yusho A			Yusho B			Yusho C			Control						
	No	Concentration (ppb)			No	Concentration (ppb)			No	Concentration (ppb)			No	Concentration (ppb)		
		Average	Min	Max		Average	Min	Max		Average	Min	Max		Average	Min	Max
1974	18	6.61	3.0	14.0					10	3.10	2.0	5.0				
1976	23	7.39	2.0	16.0	2	4.00	2.0	6.0	18	3.56	1.0	6.0	31	3.84	2.0	8.0
1977	57	6.96	1.0	21.0	16	4.44	1.0	25.0	58	3.33	1.0	20.0	35	3.49	2.0	7.0
1978	65	6.60	1.0	29.0	18	3.14	0.5	7.0	68	2.96	1.0	13.0	37	3.32	2.0	8.0
1979	30	5.83	1.0	24.0	4	2.50	1.0	5.0	14	1.86	1.0	5.0	3	1.67	1.0	2.0
1980	14	8.79	3.0	29.0	7	4.84	0.9	19.0	19	2.68	1.0	5.0	3	2.33	1.0	3.0
1981	14	6.21	2.0	30.0	11	4.00	1.0	10.0	29	3.02	0.5	8.0	12	4.25	2.0	7.0
1982	40	6.48	2.0	25.0	15	3.93	2.0	7.0	31	2.63	0.4	8.0	20	2.85	1.0	5.0
1983	28	7.75	3.0	24.0	5	4.40	2.0	7.0	19	3.00	1.0	6.0	16	3.25	2.0	5.0
1984	64	5.00	1.0	17.0	15	3.87	1.0	10.0	39	3.28	0.6	12.0	9	1.87	1.0	2.9
1985	61	7.33	1.0	25.0	18	3.61	1.0	7.0	60	2.76	0.6	7.0	8	2.66	1.7	4.0
1986	34	7.21	2.0	22.0	12	4.19	1.3	8.0	54	2.82	0.5	6.5	12	2.67	2.0	4.3
1987	48	7.02	2.2	31.0	15	3.26	2.0	5.8	39	3.18	0.8	13.0	12	2.64	1.9	4.0
1988	38	6.35	2.3	32.0	13	4.23	1.8	8.0	50	2.92	0.8	7.9	12	2.00	1.5	3.3
1989	31	6.32	1.0	20.7	23	3.61	1.2	8.3	56	3.52	0.4	11.1	12	2.23	1.2	4.0
1990	39	5.81	1.8	22.0	17	3.97	1.0	10.6	36	2.63	0.5	6.7	12	1.69	0.9	2.7
1991	38	6.13	1.6	16.6	17	4.11	1.3	13.9	40	2.82	1.0	6.4	12	1.65	1.1	2.1
1992	29	6.11	2.0	15.7	16	3.48	1.1	5.6	39	2.57	0.6	5.9	10	1.95	1.2	2.7
1993	37	6.95	1.7	26.8	21	4.22	1.3	13.6	25	3.45	1.6	8.6	12	1.92	1.3	2.7
1995	30	5.63	2.7	23.8	21	2.98	0.6	9.5	34	2.41	0.9	5.4	12	1.36	1.1	1.6
1997	35	3.56	0.9	13.8	22	2.55	1.2	5.0	32	2.29	0.5	6.3	10	1.01	0.4	1.6
1998	33	3.85	0.8	14.1	14	2.59	1.0	5.5	32	1.81	0.5	4.5	12	1.42	1.0	1.9
1999	25	3.56	0.6	10.3	11	2.90	0.8	7.1	36	2.33	0.3	6.3	12	1.43	0.8	2.7
2000	30	4.63	1.7	13.8	13	2.96	1.5	6.5	33	2.69	0.7	5.6	12	1.02	0.6	1.4
2001	20	4.25	1.5	11.4	34	3.69	0.6	17.5	30	2.12	0.6	4.2	12	1.03	0.6	1.4
2002	40	4.01	1.1	13.4	33	2.38	0.5	5.3	45	1.76	0.3	5.4	12	0.95	0.7	1.2
2003	52	3.13	0.7	10.9	38	2.39	0.7	6.5	24	1.47	0.2	3.1	12	0.87	0.7	1.1
2004	27	3.68	1.3	7.5	38	2.27	0.3	5.7	38	1.64	0.2	5.0	12	0.90	0.5	1.3
2005	34	3.39	0.3	8.3	32	2.06	0.8	4.0	27	1.53	0.2	3.7	12	0.83	0.5	1.3
2006	43	2.93	0.3	8.1	41	1.68	0.7	4.1	36	1.91	0.2	7.2	12	0.79	0.4	1.2

\* A case of Yusho B was transferred to Yusho A in 1974

\* Small numbers of Yusho BC (between Yusho B and C) were transferred to Yusho C

くなっている。一般人の PCB118 濃度は 32 年間を通して油症患者と同じ様な状態で減少している。

1985 年の油症患者の血液中 PCB が A, B および C パターン示すものについて、年齢、PCB118, PCB153, PCB156, PCBs の濃度との相関図を Fig. 2 に示し、それらの相関係数をその有意基準と共に表にまとめて Fig. 2 の相関図の下に示す。1995 年および 2005 年の油症患者血液中の同様の相関図と相関係数表を Fig. 3 と Fig. 4 にそれぞれ示す。図の対角線上の正方枠の中にはそれぞれのヒストグラムがある。PCBs, PCB156, PCB153 の濃度は油症患者 A が最も高く、B および C は順次低くなっている。これに対し PCB118 の濃度は油症 A が B および C よりも低い傾向がある。PCBs, PCB156 および PCB153 の濃度にはお互いに強い有意の相関を持っており、その関係は 1985 年から 2005 年まで維持されている。1985 年

の PCBs と PCB153 の相関係数が 1 になっているのは、PCB153 濃度を PCBs の 15% として計算により求められたからである。これに対し PCB118 濃度は前記 PCB 濃度との相関係数が比較的小さく、この傾向は 20 年間変わっていない。血液採取時の油症患者の年齢はこれら PCB 濃度との相関係数は小さいが、2005 年になると相関係数の有意性が高くなってきた。油症患者 C パターンにおいては年齢と PCB 濃度の間に有意の相関がみられた。

一斉検診において測定された油症認定患者の PCB118, PCB153, PCB156, PCBs の血中濃度および採血時の年齢について相互の単相関係数が求められた。1974 年から 2006 までの 30 回分の相関係数表を Table 2 に示す。比較のために福岡一般人<sup>14)</sup>の同じデータも最後に並べている。はじめのころは PCB 濃度相互の間に有意の相関を示すもの

は多くはなかったが、2001年以降では有意の正の相関を示すものが殆どになった。PCB118濃度とPCB156濃度の間には有意の相関を示すことは殆どなく、1976および1980年には有意な負の相関が観測されたこともあり、2006年においても有意の相関を示さなかった。このような影響は38年後も継続して残留している。年齢とPCB濃度の間には2000年までは有意の相関関係を示すことが少なかったが、その後は有意の相関関係がだんだんと強くなり、一般人血液の年齢とPCB濃度の相関関係のデータ(1999年)に近づいている。

台湾および福岡の油症患者の血液中 PCB および PCDF の濃度変化

台湾油症患者3名 (BS, SS, RK) および福岡油症患者5名 (KK, TS, YUM, TH, HH) について、中毒発生から38年間に測定された血液中のPCB118, PCB153, PCB156, 2,3,4,7,8-pentaCDF (23478 F) および1,2,3,4,7,8-hexaCDF (123478 F) の濃度変化をそれぞれ Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8 および Fig. 9 に示す。中毒発生から14~20年(5100~7300日)経過した時期には台湾油症患者および福岡油症患者両者のPCBお

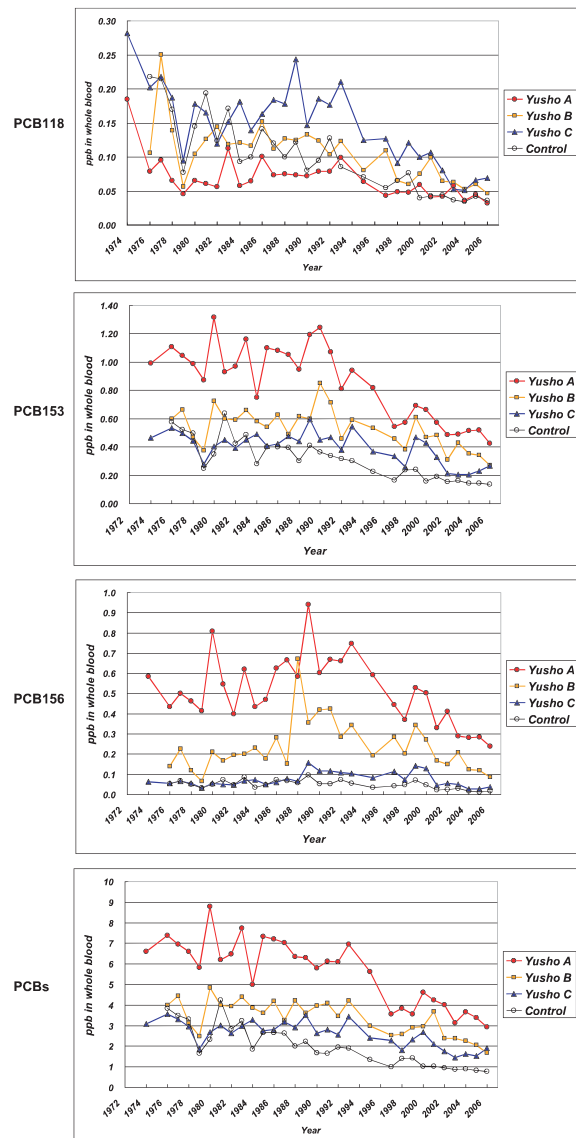
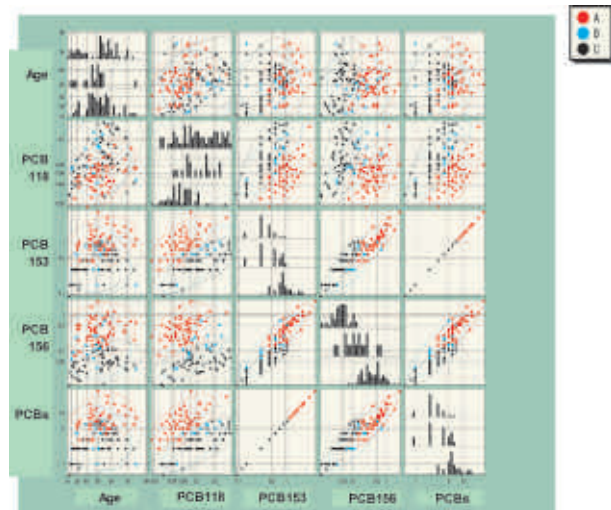


Fig. 1 Concentration trend of PCB118, PCB153, PCB156 and PCBs in the blood of Yusho A, Yusho B, Yusho C and Controls from 1974 to 2006



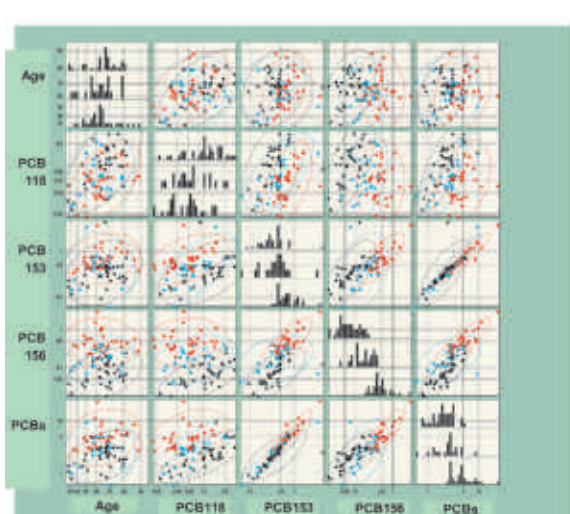
Yusho	n	Age	PCB118	PCB153	PCB156	PCBs	
A	n=59	1	0.4002	0.3191	0.1643	0.3191	
	Age	1	0.4002	0.6476	0.4609	0.6476	
	PCB118	0.4002	1	0.6476	0.8563	1	
	PCB153	0.3191	0.6476	1	0.8563	1	
	PCB156	0.1643	0.4609	0.8563	1	0.8563	
B	n=17	Age	1	-0.0436	-0.1535	-0.0601	-0.1535
	PCB118	-0.0436	1	0.7815	0.7186	0.7815	
	PCB153	-0.1535	0.7815	1	0.8688	1	
	PCB156	-0.0601	0.7186	0.8688	1	0.8688	
	PCBs	-0.1535	0.7815	1	0.8688	1	
C	n=55	Age	1	0.4552	0.4442	0.4338	0.4442
	PCB118	0.4552	1	0.7762	0.5716	0.7762	
	PCB153	0.4442	0.7762	1	0.8964	1	
	PCB156	0.4338	0.5716	0.8964	1	0.8964	
	PCBs	0.4442	0.7762	1	0.8964	1	

12 Point bold:  $p < 0.01$   
 10 Point bold:  $0.05 < p < 0.01$   
 9 Point italic:  $p > 0.05$

Fig. 2 Yusho Patients (n=131) in 1985  
 Ellipse of Constant Distance (95%) between concentrations of PCB118, PCB153, PCB156 and PCBs in the blood and Age at blood sampling of Yusho A (Red), Yusho B (Blue) and Yusho C (Black).  
 Histograms of Yusho A (Lower), Yusho B (Middle) and Yusho C (Upper) are in the diagonal squares.  
 Simple Correlation Coefficients between them are separately listed in the Tables of Yusho A, Yusho B and Yusho C.

よび PCDF の測定データがあるので、それぞれの濃度割合から計算して油症発生当時、正確には中毒が公表されてから 233 日目の福岡油症患者 5 名の濃度を計算して、それぞれの Fig. に記入している。計算により求められた油症発生時の濃度を基準にして、その後測定された時点での半減期を計算式により求めた。それからの減衰半減期の 38 年間の経過を PCB118, PCB153, PCB156, 23478 F および 123478 F について、それぞれ Fig. 5, Fig. 6, Fig. 7, Fig. 8 および Fig. 9 の下部に並べて示す。PCB118 は台湾油症患者では油症発症後 3735

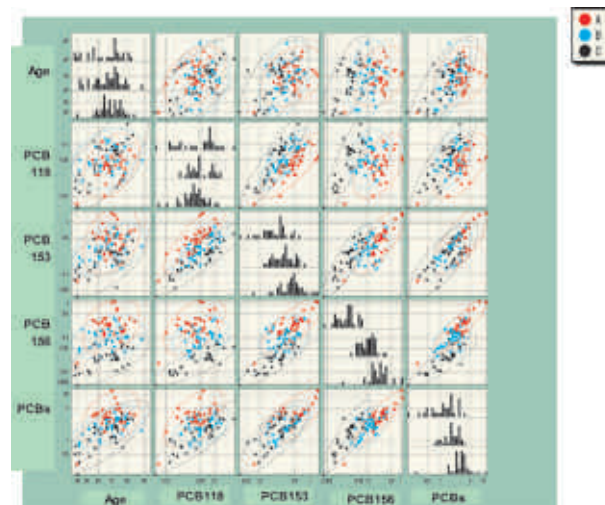
日 (10 年) 目において一般人のその濃度より低くなっている。したがって、その後油症患者に残留している PCB118 濃度は油症のライスオイルからのものではなく、通常の食事を通して摂取されたものの濃度を示していると考えられる。その他の PCB および PCDF の血液中濃度は一般人のそれらの濃度よりも十分に高いので、中毒発症時に摂取したものが 38 年間にゆっくりと減少している状態が観測できる。台湾油症患者において事件後 2 年間は PCB および PCDF 濃度は同じレベルで推移しておりあまり減少していない。したがっ



Yusho	n	Age	PCB118	PCB153	PCB156	PCBs
A	30	1	0.5701	0.2356	-0.0542	0.2434
	Age	1	0.5185	0.0798	0.4061	
	PCB118	0.2356	1	0.7798	0.9479	
	PCB153	-0.0542	0.0798	1	0.8762	
	PCB156	0.2434	0.4061	0.9479	1	
	PCBs	0.2434	0.4061	0.9479	0.8762	1
B	21	1	0.1971	-0.0436	0.1479	0.0381
	Age	1	0.7132	0.3767	0.7729	
	PCB118	0.1971	1	0.3640	0.9710	
	PCB153	-0.0436	0.7132	1	0.5442	
	PCB156	0.1479	0.3767	0.3640	1	
	PCBs	0.0381	0.7729	0.9710	0.5442	1
C	34	1	0.5679	0.2910	0.4131	0.4287
	Age	1	0.5192	0.6571	0.7575	
	PCB118	0.5679	1	0.6757	0.8525	
	PCB153	0.2910	0.5192	1	0.7670	
	PCB156	0.4131	0.6571	0.6757	1	
	PCBs	0.4287	0.7575	0.7670	0.8525	1

12Pointbold:p<0.01  
10Pointbold:0.05<p<0.01  
9Point italic:p>0.05

**Fig. 3** Yusho Patients (n=85) in 1995  
Ellipse of Constant Distance (95%) between concentrations of PCB118, PCB153, PCB156 and PCBs in the blood and Age at blood sampling of Yusho A (Red), Yusho B (Blue) and Yusho C (Black).  
Histograms of Yusho A (Lower), Yusho B (Middle) and Yusho C (Upper) are in the diagonal squares.  
Simple Correlation Coefficients between them are separately listed in the Tables of Yusho A, Yusho B and Yusho C.



Yusho	n	Age	PCB118	PCB153	PCB156	PCBs
A	34	1	0.4004	0.3342	0.3250	0.3411
	Age	1	0.8117	0.5294	0.5815	
	PCB118	0.4004	1	0.7806	0.7185	
	PCB153	0.3342	0.8117	1	0.8907	
	PCB156	0.3250	0.5294	0.7806	1	
	PCBs	0.3411	0.5815	0.7185	0.8907	1
B	32	1	0.2496	0.3799	0.2349	0.5944
	Age	1	0.8184	0.2665	0.4946	
	PCB118	0.2496	1	0.3334	0.5968	
	PCB153	0.3799	0.8184	1	0.5897	
	PCB156	0.2349	0.2665	0.3334	1	
	PCBs	0.5944	0.4946	0.5968	0.5897	1
C	28	1	0.7151	0.6209	0.6603	0.7689
	Age	1	0.9119	0.8701	0.8829	
	PCB118	0.7151	1	0.8694	0.7785	
	PCB153	0.6209	0.9119	1	0.8854	
	PCB156	0.6603	0.8701	0.8694	1	
	PCBs	0.7689	0.8829	0.7785	0.8854	1

12Pointbold:p<0.01  
10Pointbold:0.05<p<0.01  
9Point italic:p>0.05

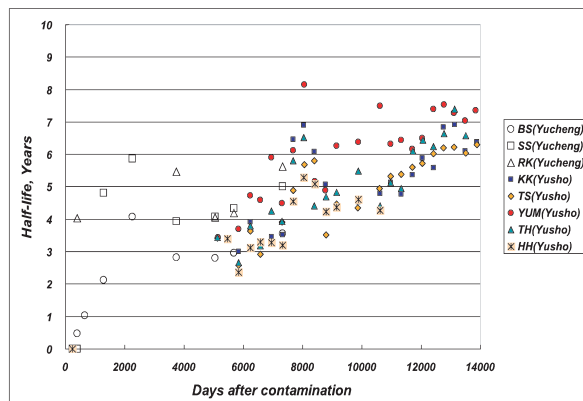
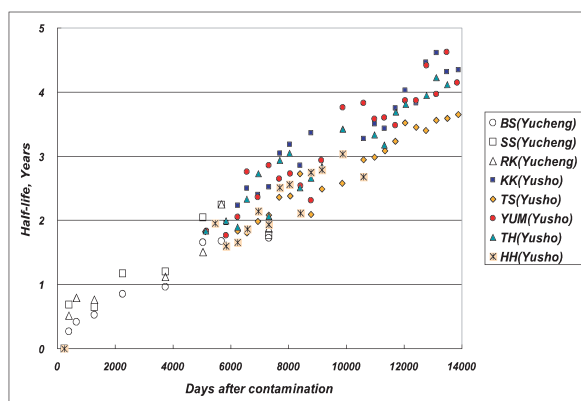
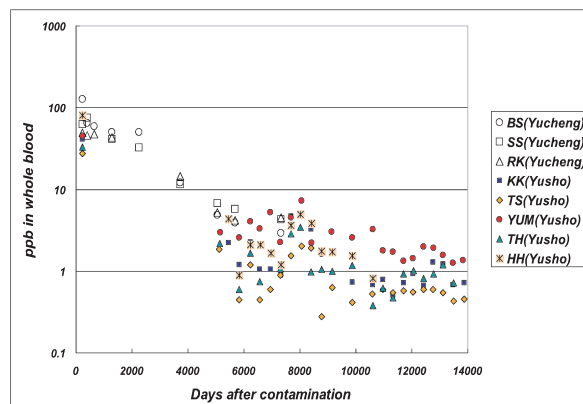
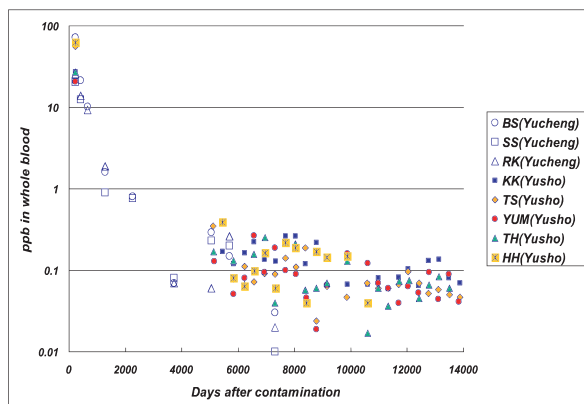
**Fig. 4** Yusho Patients (n=94) in 2005  
Ellipse of Constant Distance (95%) between concentrations of PCB118, PCB153, PCB156 and PCBs in the blood and Age at blood sampling of Yusho A (Red), Yusho B (Blue) and Yusho C (Black).  
Histograms of Yusho A (Lower), Yusho B (Middle) and Yusho C (Upper) are in the diagonal squares.  
Simple Correlation Coefficients between them are separately listed in the Tables of Yusho A, Yusho B and Yusho C.



Table 2 Simple correlation coefficients between Concentrations of PCB118, PCB153, PCB156 and PCBs in the blood of Yusho patients and Age of the patients at blood sampling. The data of Yusho patients are from 1974 to 2006 and of controls in 1999

<b>1974</b>			<b>1983</b>			<b>1991</b>			<b>2001</b>		
n=28	n=52	n=95	n=52	n=113	n=83	n=113	n=52	n=95	n=84	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.2320	0.4349	0.4349	0.4690	0.4790	0.4790	0.2717	0.4690	0.4790	0.2940	0.3450	0.3450
0.4349	0.3323	0.4349	0.3080	0.3990	0.4790	0.3885	0.3080	0.3990	0.4162	0.4587	0.3174
0.0779	-0.1743	0.0779	0.1030	0.1030	0.3050	0.3651	0.1030	0.1030	0.4490	0.2003	0.4744
0.9300	0.9300	0.9300	0.9240	0.9240	0.9240	0.7733	0.9240	0.9240	0.4490	0.8273	0.9019
0.9300	0.9300	0.9300	0.9240	0.9240	0.9240	0.8705	0.9240	0.9240	0.6960	0.8273	0.9154
0.9300	0.9300	0.9300	0.9240	0.9240	0.9240	0.8705	0.9240	0.9240	0.6960	0.8273	0.9154
<b>1976</b>			<b>1984</b>			<b>1992</b>			<b>2002</b>		
n=43	n=113	n=83	n=113	n=52	n=95	n=52	n=113	n=83	n=118	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.3631	0.4722	0.4722	0.2717	0.2113	0.2113	0.3885	0.2717	0.2113	0.4162	0.4587	0.3174
-0.0843	-0.3241	-0.0843	0.2524	-0.1190	0.2524	0.3651	0.2524	-0.1190	0.4490	0.2003	0.4744
0.7380	0.7380	0.7380	0.7925	0.7925	0.7925	0.7733	0.7925	0.7925	0.4490	0.8273	0.9019
0.7380	0.7380	0.7380	0.7925	0.7925	0.7925	0.8705	0.7925	0.7925	0.4490	0.8273	0.9019
0.7380	0.7380	0.7380	0.7925	0.7925	0.7925	0.8705	0.7925	0.7925	0.6960	0.8273	0.9154
<b>1977</b>			<b>1985</b>			<b>1993</b>			<b>2003</b>		
n=126	n=131	n=83	n=131	n=52	n=95	n=52	n=131	n=83	n=114	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.2708	0.4239	0.4239	0.3171	0.2572	0.2572	0.3623	0.3171	0.2572	0.4330	0.5620	0.3200
0.4239	0.3473	0.4239	0.1489	0.0977	0.2572	0.3335	0.1489	0.0977	0.4330	0.5620	0.3200
0.8849	0.8849	0.8849	0.9077	0.9077	0.9077	0.7541	0.9077	0.9077	0.5880	0.7570	0.8990
0.8849	0.8849	0.8849	0.9077	0.9077	0.9077	0.7541	0.9077	0.9077	0.5880	0.7570	0.8990
0.8849	0.8849	0.8849	0.9077	0.9077	0.9077	0.7541	0.9077	0.9077	0.5880	0.7570	0.8990
<b>1978</b>			<b>1986</b>			<b>1995</b>			<b>2004</b>		
n=138	n=96	n=85	n=96	n=52	n=95	n=85	n=96	n=85	n=103	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.3472	0.4617	0.3219	0.3948	0.4803	0.3365	0.4622	0.3948	0.4803	0.5090	0.4760	0.4510
0.4617	0.3219	0.4617	0.3342	0.3342	0.3342	0.3100	0.3342	0.3342	0.5090	0.4760	0.4510
0.8682	0.8682	0.8682	0.8809	0.8809	0.8809	0.7506	0.8809	0.8809	0.7320	0.4210	0.6540
0.8682	0.8682	0.8682	0.8809	0.8809	0.8809	0.7506	0.8809	0.8809	0.7320	0.4210	0.6540
0.8682	0.8682	0.8682	0.8809	0.8809	0.8809	0.7506	0.8809	0.8809	0.7320	0.4210	0.6540
<b>1979</b>			<b>1987</b>			<b>1997</b>			<b>2005</b>		
n=42	n=100	n=88	n=100	n=52	n=95	n=88	n=100	n=88	n=94	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.1636	0.1636	0.2940	0.2300	0.2180	0.1470	0.2525	0.2300	0.2180	0.4693	0.4694	0.3637
0.1636	0.1636	0.2940	0.1607	0.8620	0.1607	0.2635	0.1607	0.8620	0.4693	0.4694	0.3637
0.9090	0.9090	0.9090	0.8620	0.8620	0.8620	0.7506	0.8620	0.8620	0.6612	0.2594	0.5230
0.9090	0.9090	0.9090	0.8620	0.8620	0.8620	0.7506	0.8620	0.8620	0.6612	0.2594	0.5230
0.9090	0.9090	0.9090	0.8620	0.8620	0.8620	0.7506	0.8620	0.8620	0.6612	0.2594	0.5230
<b>1980</b>			<b>1988</b>			<b>1998</b>			<b>2006</b>		
n=35	n=100	n=100	n=100	n=52	n=95	n=100	n=35	n=100	n=120	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.3759	0.3759	0.4910	0.2380	0.0990	0.0990	0.3887	0.2380	0.0990	0.4550	0.3790	0.3530
0.4910	0.4910	0.4910	0.0990	0.8280	0.8280	0.5857	0.0990	0.8280	0.4550	0.3790	0.3530
0.9127	0.9127	0.9127	0.8280	0.8280	0.8280	0.7192	0.8280	0.8280	0.5640	0.1430	0.5280
0.9127	0.9127	0.9127	0.8280	0.8280	0.8280	0.7192	0.8280	0.8280	0.5640	0.1430	0.5280
0.9127	0.9127	0.9127	0.8280	0.8280	0.8280	0.7192	0.8280	0.8280	0.5640	0.1430	0.5280
<b>1981</b>			<b>1989</b>			<b>1999</b>			<b>Controls in Fukuoka</b>		
n=49	n=107	n=91	n=107	n=52	n=95	n=91	n=49	n=107	n=151	n=118	n=118
Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age	Age
0.4446	0.3398	0.3311	0.3817	0.3391	0.2384	0.2650	0.3817	0.3391	0.6405	0.6929	0.7437
0.3311	0.3311	0.3311	0.3325	-0.1004	0.3137	0.2390	0.3325	-0.1004	0.6405	0.6929	0.7437
0.8298	0.8298	0.8298	0.7610	0.9482	0.8194	0.6608	0.7610	0.9482	0.8436	0.8087	0.8918
0.8298	0.8298	0.8298	0.7610	0.9482	0.8194	0.6608	0.7610	0.9482	0.8436	0.8087	0.8918
0.8298	0.8298	0.8298	0.7610	0.9482	0.8194	0.6608	0.7610	0.9482	0.8436	0.8087	0.8918

12 Point bold: p < 0.01    10 Point bold: 0.05 < p < 0.10    g Point italic: p > 0.05



**Fig. 5** PCB118 (2,3',4,4',5-pentaCB) in Patients with Yusho or Yucheng  
 Upper Graph: Elimination for 38 years  
 Lower Graph: Biological Half-lives calculated from the data of Upper Graph  
 Half-lives are average 3.84, range 3.08-4.62 years during 30-38 years (11000-14000days) after the poisoning

**Fig. 6** PCB153 (2,2',4,4',5,5'-hexaCB) in Patients with Yusho or Yucheng  
 Upper Graph: Elimination for 38 years  
 Lower Graph: Biological Half-lives calculated from the data of Upper Graph. One point of SS and 2 points of RK are out of the scale  
 Half-lives are average 6.31, range 4.77-7.54 years during 30-38 years (11000-14000 days) after the poisoning

てその時の半減期を計算すると非常に大きな値または、マイナスの値になる。それらはグラフの外になるので、Fig.に取り入れていない。PCB118の半減期は時間経過とともに長くなっているが、4000日以後の濃度はその後食事から摂取したものを測定しているので、油症患者が摂取したPCB118の半減期を示してはいない。PCB153, PCB156の半減期は年数経過とともにだんだんと長くなっているが10000日(27.4年)以降はその増加が鈍化している。これに対し23478Fと123478Fは38年間通して半減期が長くなっている。油症発生してから30年後から38年後までの期間に計測された半減期の平均値(範囲)は、PCB118が3.84年(3.08~4.62年)、PCB153が6.81年(4.77~7.54年)、PCB156が7.24年

(5.09~8.80年)、23478Fが4.98年(4.30~5.79年)および123478Fが4.30年(3.72~4.88年)となった。PCB156の生体半減期が7.24年で最も長く、長期間残留していることになる。23478Fおよび123478Fの半減期は4.98年および4.30年であるのでPCB153およびPCB156よりも速く濃度が減少していることになる。PCB118は特に半減期が短いので速く代謝されて排泄されている。PCB118の濃度は4000日(11年)を経過した時点では一般人の濃度よりも低くなっている。その後は食事経路で摂取されたPCB118の濃度を示している。

同時に摂取されたPCBおよびPCDFが油症患者の体内で38年間にどのように変遷してきたかを示すグラフを台湾および福岡の油症患者それぞれ



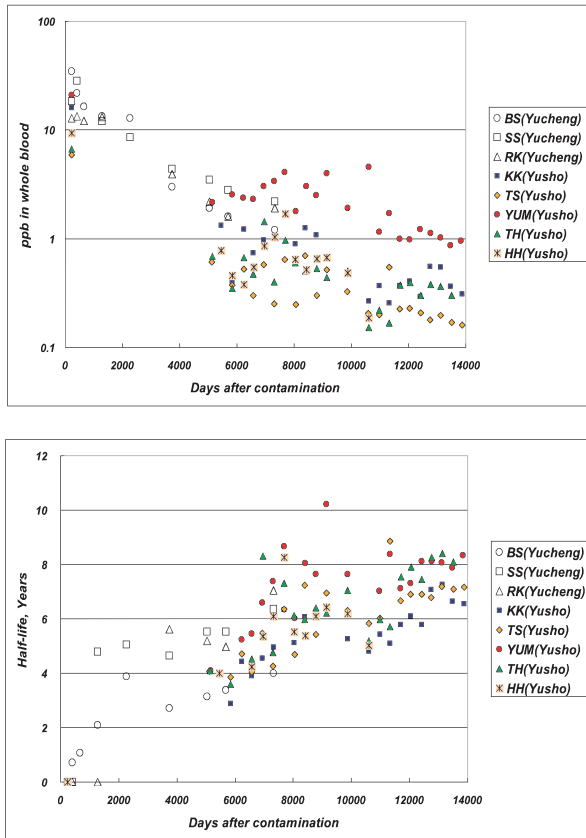


Fig. 7 PCB156 (2,3,3',4,4',5-hexaCB) in Patients with Yusho or Yucheng

Upper Graph : Elimination for 38 years  
 Lower Graph : Biological Half-lives calculated from the data of Upper Graph. One point of SS and 3 points of RK are out of the scale  
 Half-lives are average 7.24, range 5.09-8.80 years during 30-38 years (11000-14000 days) after the poisoning

れ 1 名も用いて、その 2 例を Fig. 10 に示す。PCB および PCDF の異性体はいずれもその濃度を減少させている。4000 日 (11 年) まではその減少速度が割合に大きかったがその後はゆっくりとなり、38 年後の現在まで残留している。油症患者 KK および YUM においては、PCB118, PCB156, 23478 F の血中濃度が、事件後 233 日目においては、それぞれ 27000, 16000, 376 ppt および 20700, 21000, 496 ppt であったものが、37 年後ではそれぞれ 80, 360, 1.8 ppt および 90, 870, 2.4 ppt になったものと推定される。その 37 年間の減少は当初濃度の 0.25~3.4% になったことを示している。福岡油症患者 KK および YUM においては、PCB153 および PCB156 の血液中濃度は 23478 F

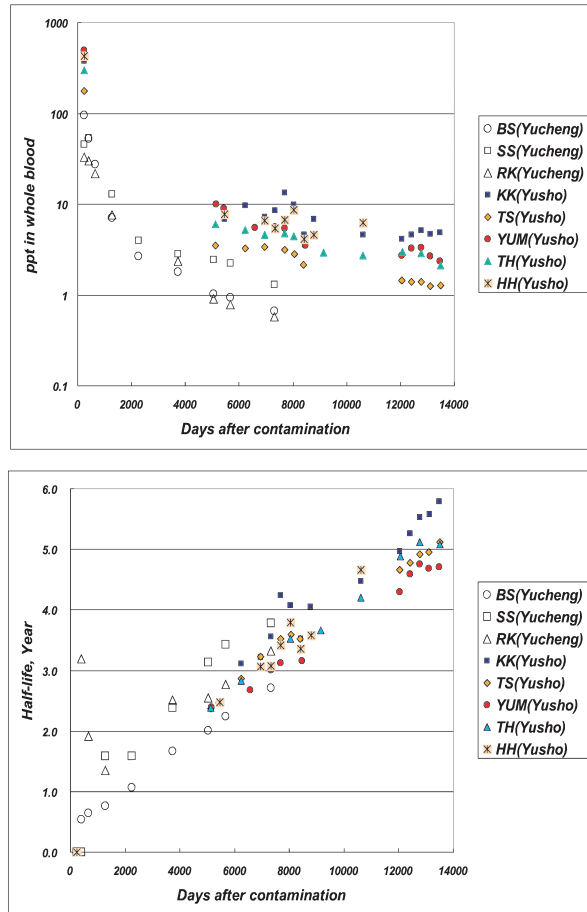


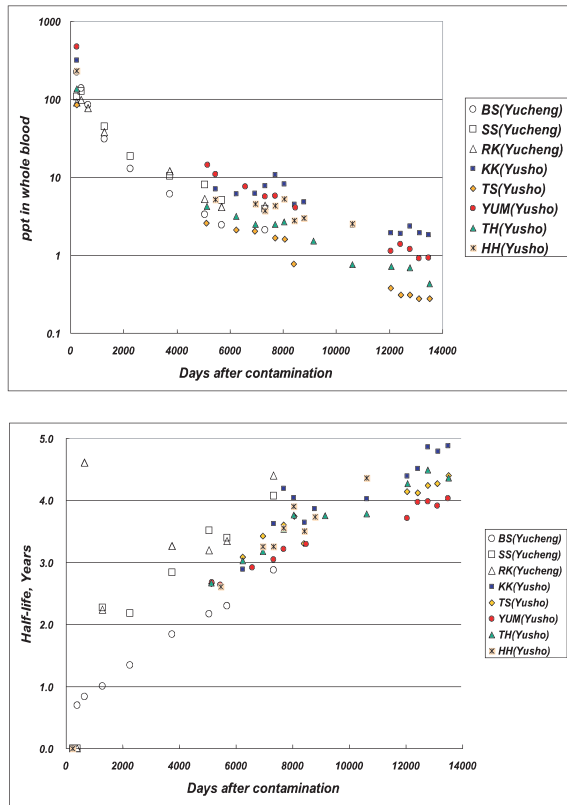
Fig. 8 23478F (2,3,4,7,8-pentaCDF) in Patients with Yusho or Yucheng

Upper Graph : Elimination for 38 years  
 Lower Graph : Biological Half-lives calculated from the data of Upper Graph. One point of SS is out of the scale  
 Half-lives are average 4.98, range 4.30-5.79 years during 30-38 years (11000-14000 days) after the poisoning

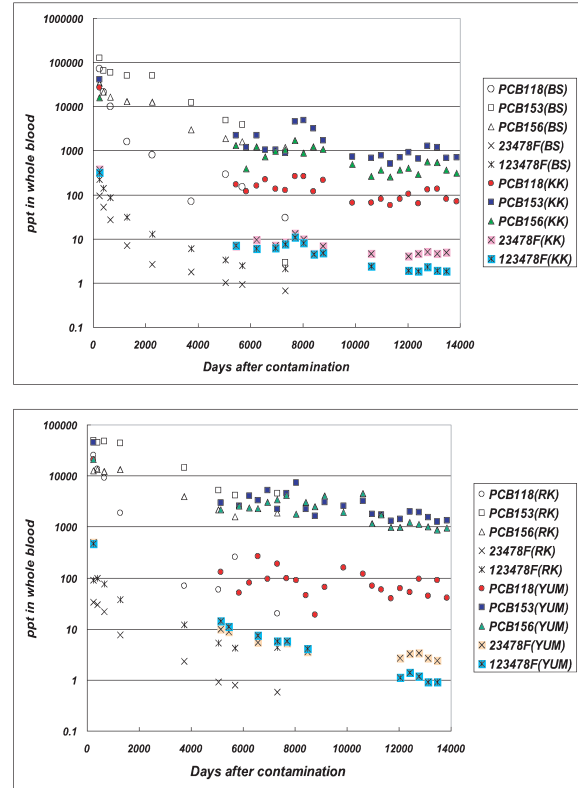
濃度の 100 倍以上であり、測定された期間、すなわち、事件後 5000 日から 14000 日 (14 年から 38 年) の間、ではその割合はあまり変わっていない。

福岡油症患者と福岡一般人における PCB, PCDF 濃度相関の比較

2002 年に分析された油症患者 (n=107) の PCB および PCDF 異性体の血液中濃度相互の相関関係を示すグラフと 1999 年に測定された福岡一般人 (n=151)<sup>14)</sup> の同じ PCB, PCDF 異性体濃度の相関図を一緒に Fig. 11 に示す。この図には採血された時点の年齢および血液から抽出された脂質のパーセント (Lipid%) も一緒に相関図に入れた。これら相互の相関係数を油症患者、一般人別々



**Fig. 9** 123478F (1,2,3,4,7,8-hexaCDF) in Patients with Yusho or Yucheng  
 Upper Graph: Elimination for 38 years  
 Lower Graph: Biological Half-lives calculated from the data of Upper Graph. One point of SS and one point of RK are out of the scale  
 Half-lives were average 4.30, range 3.72-4.88 years during 30-38 years (11000-14000 days) after the poisoning



**Fig. 10** Concentration trend of PCB118, PCB153, PCB156, 23478F and 123478F in patients with Yucheng and Yusho for 38 years  
 Upper Graph: BS (Yucheng) and KK (Yusho)  
 Lower Graph: RK (Yucheng) and YUM (Yusho)

にまとめて表にして Fig. 11 の下段に示す。福岡一般人ではすべての項目に有意の相関関係 ( $p < 0.01$ ) を示したのに対し、油症患者では有意の相関関係を示さない項目が多数あった。PCB153, PCB156 は 23478 F, 123478 F とはお互いに高い相関係数であったが PCB118, 3,3',4,4',5-pentaCB (PCB126), 3,3',4,4',5,5'-hexaCB (PCB169) はこの 23478 F, 123478 F とはそれほど高い相関係数ではなかった。PCB118 は PCB126 とは強い有意の相関を示しているの、PCB126 は PCB118 と同じ様に濃度が減少しているものと思われる。血液を分析する時に抽出された Lipid% は一般人においては年齢および PCB, PCDF 濃度に対し有意な ( $p < 0.01$ ) 相関があった。油症患者においては、Lipid% は PCB153, 23478 F および 123478 F 濃度とは有意

の相関があったが他の項目とはそれほど関係を示さなかった。

### 考 察

ライスオイルを共同購入して使用していた油症患者 141 名の調査<sup>15)</sup>によると、ライスオイルの 1 人当たり摂取量は平均 688 ml (最高 3375 ml) であった。ライスオイル中の PCB 濃度は 920 ppm であったので、患者 1 人当たりの PCB 全摂取量は 633 mg (最高 3105 mg) となる<sup>16)</sup>。患者が摂取した PCB のうちの体内に残留される五塩化体以上の PCBs はその 35% であり<sup>3)</sup>、大部分の PCB はかなり早い時期に代謝又は排泄されてなくなっているものと考えられる。633 mg (最高 3105 mg) の 35%, すなわち 222 mg (最高 1087 mg) が大人一人の蓄積量と推定される。PCB 222 mg (最高

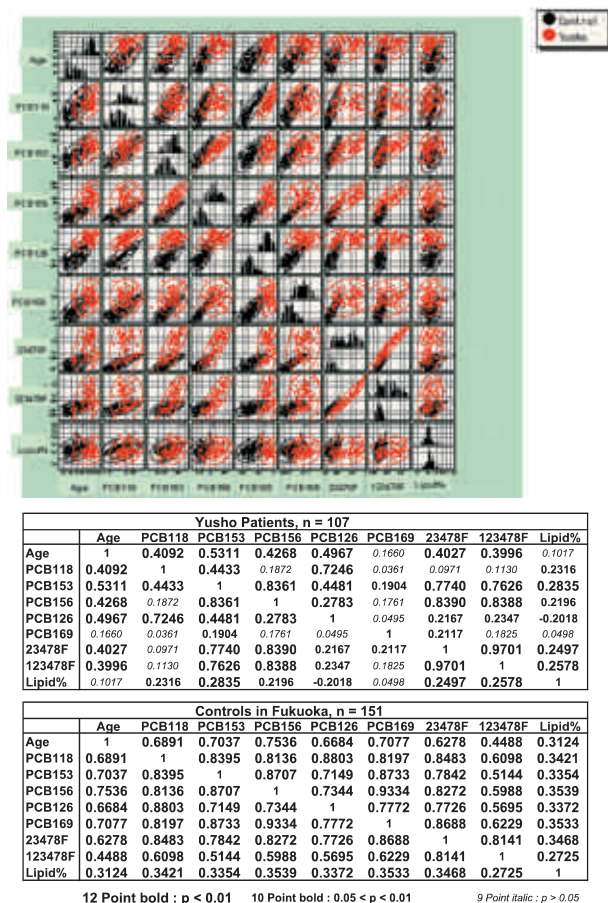


Fig. 11 Yusho Patients (n=107) in 2002 and Fukuoka Controls (n=151) in 1999

Ellipse of Constant Distance (95%) between Age, PCB118, PCB153, PCB156, PCB126, PCB169, 23478F, 123478F and Lipid% of Yusho Patients (Red) and Controls (Black).

Histograms of Yusho Patients (Upper) and Controls (Lower) are in the diagonal squares. Simple Correlation Coefficients between them are separately listed in the Tables of Yusho Patients and Controls in Fukuoka.

1087 mg) が 10 kg の体脂肪組織 (体重 50 kg の 20% を脂肪量とすると 10 kg) に存在したと仮定すると脂肪中の PCB 濃度は  $22 \mu\text{g/g}$  (最高  $109 \mu\text{g/g}$ ) となる。血液には 0.3% の脂肪が含まれることが多いので、血液中の PCB 濃度は 66 ppb (最高 326 ppb) と計算される。PCB の 15% を PCB153 の濃度とすると、PCB153 の血液中濃度は 10 ppb (最高 49 ppb) になる。患者さん (KK, YUM) の血液中には油症事件当時では 45 ppb の PCB153 が存在したと推定されており、調査された油症患者のなかでライスオイル摂取量が

最も多かった患者さんの血液中 PCB153 濃度 (49 ppb) とよく一致する。摂取された五塩化以上の PCB は蓄積性が高いので殆ど全量が一旦体内に蓄積されたものと推定される。Fig. 6 にみられるように PCB153 の高濃度は事件後 3 年間その程度の濃度で維持されており、その後は半減期数年というゆっくりした速度で減少し、38 年経過した現在でも一般人の血液中濃度より 5 倍ほど高い 1 ppb 程度で残留している。

PCB156, 23478 F および 123478 F も PCB153 と同じ様に人体蓄積性が高いので、摂取されたものが一旦患者体内に蓄積され、それぞれ Fig. 7, Fig. 8 および Fig. 9 にあるように半減期が 7.2 年, 5.0 年および 4.3 年と非常にゆっくりとした速度で減少している。PCB156 は油症患者では特有に高濃度の PCB であり、A パターンを形成する主要な成分である。その半減期はこれらのうちで最も長いので、患者体内には 23478 F, 123478 F よりも長期間残留するものと考えられる。

PCB118 は他の PCB, PCDF とは異なり、一旦蓄積されたものが割合に短い半減期で濃度減衰した。油症患者の PCB118 は事件後 11 年経過した時点では一般人の PCB118 濃度よりも低くなっている。その後の患者体内の PCB118 濃度は食事を通して摂取したものを示しているものと思われる。油症患者の PCB118 は同時に摂取した PCB156, 23478 F 等の非常に強い酵素誘導作用で代謝されることにより、その濃度が速く減少したのと考えられる。PCB118 が代謝されると血液中に残留しやすい PCB 水酸化体になる。この水酸化体の化学構造は水酸基の両側を塩素で置換された Thyroxine (T4) と似た構造になる。したがって、T4 のホルモン作用に影響があるものと考えられる。ラットを用いた動物実験で、PCB 水酸化体は Transthyretin (サイロキシン輸送蛋白) と結合して血液中を循環し、胎盤を通過して胎子の脳にまで到達することが認められている<sup>17)</sup>。黒田は小脳プルキンエ細胞に甲状腺ホルモンと同時に水酸化 PCB を添加すると、甲状腺ホルモンの効果は打ち消され、樹状突起は発達しなかったと発表している<sup>18)</sup>。この PCB 水酸化体はカナダ、スエーデンに住む一般人の血液から PCB の 10 ~ 40% の濃度で検出された<sup>19)20)</sup>。スロバキアの PCB 汚染地域に住む妊婦の血液には汚染の少ない地域



の妊婦よりも高い濃度で PCB 水酸化体が検出された<sup>21)</sup>。また、ケベック沿岸住民の新生児の臍帯血からも検出されている<sup>22)</sup>。油症患者については、血液から PCB 濃度の 15% 程度の PCB 水酸化体が検出されており<sup>23)</sup>、村井らは 1984 年の油症患者血液において Triiodothyronine (T3) と T4 濃度が有意に高かったと報告している<sup>24)</sup>。したがって、油症患者はサイロキシンホルモンを攪乱する影響を 38 年間連続して受けているものと考えられる。

2002 年に調査した油症患者血液について、PCB、PCDF の濃度、採血時の年齢および脂質% 相互の相関関係の図表を Fig. 11 に示している。これによると PCB118 濃度は PCB126 濃度とは非常に有意の相関性 ( $p < 0.01$ ) があるので、PCB126 も PCB118 と同じ様に代謝されて、濃度が減少しているものと考えられる。これに対し、PCB118 濃度は PCB156、PCB 169、23478 F および 123478 F 濃度とは有意の相関性を示していない。これらの PCB、PCDF は強い酵素誘導作用を持っていて蓄積性が高いので、共存する PCB118 等の代謝を長期間連続して促進させ、PCB 水酸化体を産生させてきたであろう。

今日の臨床検査<sup>25)</sup>によれば、血清中の基準値は全 T4 : 50000 ~ 1300000 pg/ml、遊離型 T4 : 8 ~ 18 pg/ml、Estradiol (E2) : 男性 12 ~ 49 pg/ml、女性 19 ~ 325 pg/ml となっている。油症患者 (KK, YUM) における血液中の PCB118、PCB153 および 23478 F 濃度は事件当時では、それぞれ 24000、43000 および 440 pg/g であったものが、2005 年では、それぞれ 85、970 および 3.4 pg/g と減少した。患者さんの血液には、遊離型 T4 および E2 の基準値の百倍以上の濃度で PCB118、PCB153 が事件当時には含有されており、37 年後の 2005 年においてもまだ数倍の濃度で存在し続けている。毒性の強い 23478 F の濃度はこれらの基準値よりも当初は高かったが、現在では低くなっている。23478 F はその強力な酵素誘導作用により高濃度の PCB118 等を代謝させて PCB 水酸化体に変化させた可能性がある。高濃度の PCB および PCDF の両者が体内に蓄積されていたので、患者さんにはホルモン攪乱作用が強く現れたものと考えられる。

## 総 括

福岡県の一斉検診に来られた油症認定患者の血液中 PCB118、PCB153、PCB156、PCBs 濃度を 1974 年から 2006 年の 38 年間にわたって調査した。PCB153、PCB156 および PCBs の濃度はいずれも A パターンが最も高く、B パターン、C パターンでは順次低くなり、その順番を保ちながらそれぞれの濃度は減少した。それに対し、PCB118 の濃度は A パターンで最も低く、B パターン、C パターンでは順次高くなり、その順番を保ちながら 38 年にわたって減少した。

一斉検診の各年度で測定された PCB118、PCB153、PCB156、PCBs の血液中濃度と採血時の患者の年齢との単相関係数を表にまとめた。当初は有意な相関係数を示すものは多くはなかったが、2001 年を過ぎる頃から有意の相関係数を示すものがだんだんと多くなり、一般人のそれらの相関関係に近くなってきた。PCB118 と PCB156 濃度が有意の相関を示さなかったのは初めから 2006 年まで継続されている。

PCB118、PCB153、PCB156、23478 F および 123478 F について、台湾油症患者 3 名および福岡油症患者 5 名の血液中濃度比較検討することにより、油症患者における事件当初からの濃度変化を推定することができた。はじめ数十 ppb の PCB および数百 ppt の PCDF と高濃度であったものが 30 年以上経過した時点ではその半減期がそれぞれ 3.84、6.31、7.24、4.98 および 4.30 年で減少した。PCB156、PCB153 の半減期は PCDF よりも長かったが、PCB118 は最も短く、その濃度は一般人の濃度より低くなっていた。

台湾および福岡油症患者各 1 名の PCB、PCDF 濃度を比較することにより、一人の体内の事件後からの濃度推移が観察できる。38 年間を通して PCB153 は 23478 F 濃度の 2 桁以上高い濃度を保ちながら減少した。

油症患者の 2002 年調査より PCB118、PCB153、PCB156、PCB126、PCB169、23478 F、123478 F の各濃度および採血時の年齢、脂質% 相互の単相関係数を求めた。PCB118 は PCB126 とは有意の相関関係を示したが、PCB169、23478 F および 123478 F とは有意の相関関係を示さなかった。

PCB118 は強力な酵素誘導作用も持つ PCB156, 23478 F 等により代謝されて濃度が減少し, PCB 水酸化体となり, 血液に残留するので, サイロキシンのホルモン作用を攪乱する強い影響を与えているものと考えられる.

### 謝 辞

本研究は厚生科学研究補助金によるものである。北九州市環境科学研究所, 福岡市保健環境研究所で分析された血液中 PCB 濃度等のデータを使用させていただきました。ここに記して謝意を表します。

### 参 考 文 献

- 1) Masuda Y: Causal Agents of Yusho, In Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M, Masuda Y (ed): YUSHO: A human disaster caused by PCBs and related compounds. pp 49-80, Kyushu University Press, Fukuoka, 1996.
- 2) Masuda Y: The Yusho rice oil poisoning incident. In Schecter A and Gasiewicz TA (ed): Dioxins and Health pp 855-891, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, 2003.
- 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塩化ビフェニール, 福岡医誌 65: 25-27, 1974.
- 4) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M: Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with Yusho, Food Cosmet Toxicol 15: 195-198, 1977.
- 5) 飯田隆雄, 平川博仙, 松枝隆彦, 中川礼子: 油症患者 83 名の血液中 PCDDs, PCDFs および Coplanar PCBs 濃度, 福岡医誌 88: 169-176, 1997.
- 6) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New Protocol of Dioxin Analysis in Human Blood. Fukuoka Igaku Zasshi 94: 148-157, 2003.
- 7) 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 飛石和大, 飯田隆雄: ヒト血液中ダイオキシン類の抽出・精製法の改良および油症患者血液中ダイオキシン類濃度, 福岡医誌 96: 185-191, 2005.
- 8) Ryan JJ, Levesque D, Panopio LG, Sun WF, Masuda Y and Kuroki H: Elimination of polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) from human blood in the Yusho and Yu-Cheng rice oil poisonings. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 24: 504-512, 1993.
- 9) 増田義人, 原口浩一, 黒木広明, Ryan JJ: 油症患者における PCBs, PCDFs の 30 年間の変遷と症状, 福岡医誌 92: 149-157, 2001.
- 10) 増田義人, 山口早苗, 黒木広明, 原口浩一: 最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール, 福岡医誌 76: 150-152, 1985.
- 11) 鶴川昌弘, 中村彰夫, 榎本隆: PCB の数値化法に関する研究, 食品衛生学雑誌 14: 415-424, 1973.
- 12) 増田義人, 原口浩一, 黒木広明, Ryan JJ: 台湾および福岡油症患者の血液中 PCDF, および PCB の 25 年間の濃度推移, 福岡医誌 86: 178-183, 1995.
- 13) 増田義人, 黒木広明, 原口浩一, 斎藤秀美, Ryan JJ: 油症患者血液中 PCDF の濃度推移, 福岡医誌 84: 236-242, 1993.
- 14) Masuda Y, Haraguchi K, Kono S, Tsuji H and Papke O: Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents, Chemosphere 58: 329-344, 2005.
- 15) Hayabuchi H, Yoshimura T and Kuratsune M: Consumption of toxic oil by 'Yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. Food Cosmet. Toxicol. 17: 455-461, 1979.
- 16) 増田義人, 原口浩一: 油症患者体内の PCB および PCDF の 35 年間の挙動と毒性影響, 福岡医誌 96: 113-123, 2005.
- 17) Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman A and Visser TJ: Interactions of persistent environmental organohalogens with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. Toxicol Ind Health. 14: 59-84, 1998.
- 18) 黒田洋一郎: 子どもの行動異常・脳の発達障害と環境化学物質汚染: PCB, 農薬などによる遺伝子発現のかく乱, 科学 73: 1234-1243, 2003.
- 19) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, and Norstrom RJ: Analysis of Hydroxylated Metabolites of PCBs (OH-PCBs) and Other Chlorinated Phenolic Compounds in Whole Blood from Canadian Inuit, Environ. Health Perspect, 108: 611-616, 2000.
- 20) Sjodin A, Hagmar L, Klasson-Wehler E, Bjork J and Bergman A: Influence of the Consumption of Fatty Baltic Sea Fish on Plasma Levels of Halogenated Environmental Contaminants in Latvian and Swedish Men, Environ. Health Perspect. 108: 1035-1041, 2000.



- 21) Park JS, Linderholm L, Charles J, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Dorbna B, Trnovec T, Bergman A and Herz-Picciotto I: Polychlorinated Biphenyls and Their Hydroxylated Metabolites (OH-PCBs) in Pregnant Women from Eastern Slovakia, *Environ. Health Perspect.* 115: 20-27, 2007.
- 22) Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J and Norstrom RJ: Pentachlorophenol and hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites in umbilical cord plasma of neonates from coastal populations in Quebec, *Environ. Health Perspect.* 110: 411-417, 2002.
- 23) Masuda Y and Haraguchi K: PCB and hydroxy PCB congeners in the blood of patients with Yusho PCB poisoning, *Organohalogen Compounds* 66: 2591-2565, 2004.
- 24) 村井宏一郎, 辻博, 梶原英二, 赤木公博, 藤島正敏: 油症患者の甲状腺機能, *福岡医誌* 76, 233-238, 1985.
- 25) 河合忠, 水島裕 監修: 今日の臨床検査 2001/2002, p 92-93, p 581, 南江堂, 東京, 2001.  
(受付 2007-4-2)

## 油症認定患者と一般人における ダイオキシン類の血中残留性と暴露経路の関連性について

<sup>1)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup> 北九州生活科学センター

<sup>3)</sup> 久留米工業大学

松枝隆彦<sup>1)</sup>, 梶原淳睦<sup>1)</sup>, 岩本眞二<sup>1)</sup>, 飯田隆雄<sup>2)</sup>,  
伊津野知佳<sup>3)</sup>, 吉村健清<sup>1)</sup>

### Analysis of Residual Nature of Dioxins in Blood of Yusho Patients and Controls in Relation to the Yusho Oil and Food as Respective Exposure Routes

Takahiko MATSUEDA<sup>1)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Sinji IWAMOTO<sup>1)</sup>, Takao IIDA<sup>2)</sup>,  
Chika IZUNO<sup>3)</sup> and Takesumi YOSHIMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*  
39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 813-0135

<sup>2)</sup> *Kitakyusyu Life Science Center 1-4 Nakabaru-Shin-cho,*  
*Tobata-ku, Kitakyusyu 804-0003*

<sup>3)</sup> *Kurume Institute of Technology 2228-66*  
*Kamitsu-cho, Kurume 830-0052*

**Abstract** In this study, we examined the dioxin levels and congener distributions in blood samples of Yusho patients and normal control subjects, especially in relation to the respective exposure routes. Remarkable differences were observed between the blood of Yusho patients and general population in terms of both congener distributions and concentration levels. Cumulative dioxin intake for Yusho patients was estimated using the mean Yusho oil consumption and congener-specific dioxin contamination data for Yusho oil; for control subjects, it was estimated from food consumption and dioxin congener contamination data. Estimated total intake of dioxins was 2.4 $\mu$ g-TEQ for control subjects and 357 $\mu$ g-TEQ for Yusho patients, respectively. The total intake of some congeners such as 2,3,4,7,8-PeCDF and 1,2,3,4,7,8-HxCDF for Yusho patients was more than 100 times higher than those of control subjects. The congener distribution of PCB and PCDD in the blood of control subjects was similar to those of the food. In the case of Yusho patients, however, the congener distribution did not resemble those of either the food or the causal Kanemi rice oil, nor did not match that of control subjects' blood. Selective metabolizing of congeners was suggested to have occurred in the Yusho patients. In a 2001 fiscal year survey, the concentration ratio of TEQ between Yusho and normal subjects was 4.5. However, the level of 2,3,4,7,8-PeCDF, thought to be the congener that had the closest relation to various symptoms of the Yusho patients, was ten times or more in Yusho patients than in controls. It is suggested that further examinations should be conducted in the future to follow up this survey monitoring the blood levels of toxic congeners in Yusho patients.

### はじめに

ポリ塩化ビフェニル (PCB) 等に汚染されたカネミライスオイルの摂取に起因する油症事件が発

生して 38 年以上が経過した。飯田ら<sup>1)~4)</sup> は 1995 年頃より油症認定患者 (以下, 油症患者と記す) 血液中の PCB, ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) 及びポリ塩化ジベンゾダイオキシン (PCDD) 等のダイオキシン類濃度レベルの追跡調査を継続してきた。その結果, 現在でも一般人と比較してかなり高濃度のダイオキシン類が血液中に検出され,

Address for Correspondence: Takahiko MATSUEDA  
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences  
39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 813-0135, Japan  
Tel. +81-92-921-9943, Fax. +81-92-928-1203  
E-mail: matsueda@fihes.pref.fukuoka.jp

あらためて残留性の高さが再確認された<sup>5)</sup>。さらに、残留レベルの差に加えて、ダイオキシン類同属体の残留パターンが互いに著しく異なっていることが明らかにされている<sup>2)3)</sup>。その原因は油症患者と一般人では、暴露された化学物質の組成、暴露量、暴露期間等の暴露状況の違いに起因するものと考えられる。油症患者はカネミライスオイルに混入した種々の化学物質、特に、PCB、PCDF及びPCDD等のダイオキシン類に高濃度の暴露を受けたことがわかっている<sup>6)</sup>。一方、一般人も低濃度ではあるが、食事を通じて日常的にダイオキシン類の暴露を受けていることが明らかにされている<sup>7)</sup>。このように両グループともに類似の化学物質の暴露を受けているが、血中の残留状況と暴露状況の関連性を詳しく評価した報告は少ない。血中の残留状況と暴露経路の関連性を評価するには、暴露源と人体のダイオキシン類濃度・組成情報が必要である。油症患者のダイオキシン類暴露量は吉村による原因カネミライスオイルの摂取量調査<sup>8)</sup>や組成分析をもとに増田ら<sup>9)</sup>によって推定されている。また、一般人のダイオキシン類暴露量は、厚生労働省によるトータルダイエツト調査<sup>10)</sup>等を通じて明らかにされてきた。それらのデータを利用すれば、油症患者及び一般人の血中ダイオキシン類の残留特性と暴露量の関係を解析できると考えられる。

そこで、本報告では、現在までに得られている油症患者と一般人のダイオキシン類暴露量と血中残留性に関する報告値をもとに、カネミライスオイルを摂取した油症患者と食事から摂取した一般人の血中ダイオキシン類の残留特性を比較検討した。

## 対象と方法

### 油症患者及び一般人のダイオキシン類濃度

油症患者の血中のダイオキシン類濃度は飯田ら<sup>4)</sup>の報告値を使用した。このデータは2001年度受診された油症認定患者78名を対象としたもので、平均年齢は65歳であった。一般人については、油症患者と同じ平均年齢65歳の一般住民検診受診者127名を対象とした飯田らの調査結果<sup>11)</sup>を使用した。なお、これらの調査における血中のダイオキシン類分析の精度を確認するため、3分析機関によるクロスチェック<sup>12)</sup>を実施したとこ

ろ、良好な結果であった。

### 油症患者のダイオキシン類摂取量の推定

油症患者のダイオキシン類摂取量は、飯田ら<sup>13)</sup>によって測定されたカネミライスオイルのダイオキシン類濃度と油症患者が摂取したカネミライスオイルの平均摂取量(Hayabuchiら1979)<sup>13)</sup>より推定した。ここで、カネミライスオイルの平均摂取量は688ml、カネミライスオイルの比重は0.92として計算した<sup>9)</sup>。

### 食品経路のダイオキシン類摂取量の推定

一般人におけるダイオキシン類の摂取量は、平成10年度に厚生省(当時、現厚生労働省)が実施したダイオキシン類の食品経路摂取量に関する研究(トータルダイエツトスタディ)の成果をまとめた「食品中のダイオキシン類汚染実態調査研究報告書」<sup>10)</sup>の報告値を使用して計算した。この調査は全国7地域に分けて行われているが、九州地区における各食品群のダイオキシン類濃度と国民栄養調査の食品別摂取量表をもとに同族体ごとに平均的な食生活におけるダイオキシン類の一日摂取量を算出した。総摂取量は一日摂取量に65歳までの日数を乗じて計算した。

## 結果と考察

### 油症患者及び一般人のダイオキシン類の血中の残留状況

油症患者及び一般人の血中のダイオキシン類濃度をTable1に示した。油症患者の血中ダイオキシン類濃度は一般人と比較してPCDDが0.3~2.3倍、PCDFが0.9~5.2倍、ノンオルソコプラナーPCB(Non-Co-PCB)が0.7~3.3倍及びモノオルソコプラナーPCB(Mono-Co-PCB)が0.7~6.4倍であった。油症患者及び一般人の平均TEQ濃度はそれぞれ、206及び46pg-TEQ/g lipidであり、油症患者の方が4.5倍高濃度であった。カネミ油症事件が発生して38年以上経過し、血中濃度がかなり低下したとはいえ依然一般人と比較すると高いレベルであった。TEQの構成割合は、油症患者ではPCDFが68%を占め他の同族体の寄与率が少ないのに対して、一般人はPCDDが33%で、ついでNon-Co-PCB(26%)、PCDF(22%)及びMono-Co-PCB(20%)の順であった。このように両グループ間ではTEQの構成割合に顕著な差が認められた。

Table 1 の測定値をもとに PCDD, PCDF, Non-Co-PCB 及び Mono-Co-PCB 等の同族体別に濃度構成割合を表した結果を Fig. 1 に示す。PCDD では両グループともに OCDD が 80% 以上を占め、他の同族体は 10% 以下であった。油症患者と一般人の間で PCDD 同族体の構成割合に大きな違いは認められなかった。PCDF では両グループともに 2,3,4,7,8-PeCDF が 50-70% 以上を占め、ついで 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF (10-20%) の順で他の物質は 10% 以下であった。Non-Co-PCB については油症患者において PCB169 の割合が 70% を占めるが、一般人では PCB126 が 60% を占め油症患者と構成割合が異なっている。Mono-Co-PCB については油症

患者において PCB156 の割合が高く 50% を占めているが PCB118 の割合 20% と少なく、一般人では 50% を占め、逆に PCB156 は 20% 以下であり両者間に顕著な差が認められた。

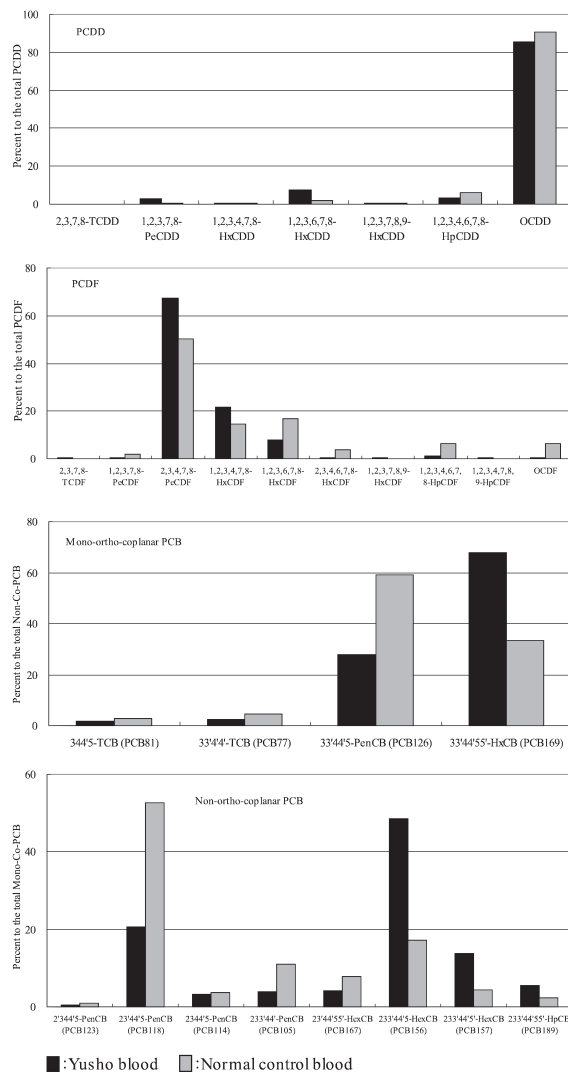
#### ダイオキシン類の摂取量

一般人と油症患者のダイオキシン類総摂取量を計算した結果を Table 2 に示す。油症患者のダイオキシン類総摂取量は一般人と比較して PCDD が 1~78 倍, PCDF, 0~1029, Non-Co-PCB が 14~390 倍, Mono-Co-PCB が 26~227 倍, 及び TEQ 値が 151 倍であった。油症の諸症状と最も関連性の高いと考えられている 2,3,4,7,8-PeCDF 及び 1,2,3,4,7,8-HxCDF は 475 及び 1029 倍にも達した。

**Table 1** Mean concentrations of dioxins in blood of Yusho patients and normal controls

Congeners	Concentration (pg/g lipid)		Concentration Ratio
	Yusho patients* (N=78)	Controls** (N=127)	Yusho / Control
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.9	0.9
1,2,3,7,8-PeCDD	20	9.0	2.3
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	3.6	0.7
1,2,3,6,7,8-HxCDD	57	28	2.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	4.5	1.0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	27	79	0.3
OCDD	668	1222	0.5
-----			
2,3,7,8-TCDF	1.8	0.0	—
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	0.7	1.6
2,3,4,7,8-PeCDF	256	17	15
1,2,3,4,7,8-HxCDF	83	4.9	17
1,2,3,6,7,8-HxCDF	30	5.7	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.7	1.3	1.4
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.1	0.0	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.9	2.2	1.8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.0	—
OCDF	2.0	2.1	0.9
-----			
3,4,4',5'-TCB(PCB 81)	5.4	5.6	1.0
3,3',4',4'-TCB(PCB 77)	7.8	8.4	0.9
3,3',4,4'-PenCB(PCB 126)	84	113	0.7
3,3',4,4',5'-HxCB(PCB 169)	207	64	3.3
-----			
2',3,4,4',5'-PenCB(PCB 123)	330	468	0.7
2',3,4,4',5'-PenCB(PCB 118)	19019	24440	0.8
2,3,4,4',5'-PenCB(PCB 114)	3025	1697	1.8
2,3,3',4,4'-PenCB(PCB 105)	3693	5082	0.7
2',3,4,4',5',5'-HexCB(PCB 167)	3785	3648	1.0
2,3,3',4,4',5'-HexCB(PCB 156)	44899	7945	5.7
2,3,3',4,4',5'-HexCB(PCB 157)	12780	2011	6.4
2,3,3',4,4',5',5'-HpCB(PCB 189)	5034	1046	4.8
-----			
PCDD-TEQ	29	15	1.9
PCDF-TEQ	140	10	14
PCDD/PCDF-TEQ	169	25	6.7
None-ortho-Co-PCB-TEQ	11	12	0.9
Mono-ortho-Co-PCB-TEQ	26	9.0	2.9
Total Co-PCB-TEQ	37	21	1.8
Total TEQ	206	46	4.5

\* : Quoted from Ref<sup>4)</sup> \*\* : Quoted from Ref<sup>11)</sup>



**Fig. 1** Congener distributions of PCDD, PCDF, Non-Co-PCB and Mono-Co-PCB in the blood of Yusho patient and normal control



油症患者のダイオキシン類の総摂取量は 357  $\mu\text{g-TEQ}$  と推定された。一般人のダイオキシン類の総摂取量は 2.4  $\mu\text{g-TEQ}$  と推定された。このように油症患者は発症までに一般人と比較して TEQ ベースで 150 倍の高濃度暴露を受けたものと推定された。

油症患者のダイオキシン類摂取量を見積もるためには油症患者が摂取した油症ライスオイルのダイオキシン類濃度と摂取量が必要であった。前者については Tanabe et al.<sup>15)</sup>、飯田ら<sup>13)</sup> 及び姚元<sup>16)</sup> らの報告があり、後者については吉村<sup>8)</sup> の報告をもとに油症患者が摂取したカネミライスオイルを算出した Hayabuchi et al.<sup>14)</sup> の報告がある。今回

は飯田らと Hayabuchi et al. の報告値を用いて計算した。その結果、総摂取量は 357  $\mu\text{g-TEQ}$  であった。この値は増田らの報告値<sup>9)</sup> (620  $\mu\text{g}$ ) より 60%程度で低値であったが、姚元らの測定値を用いて計算した結果に近い値であった。いずれにしても両者の差は大きいものではなく、製造日あるいは出荷時等分析に供したカネミライスオイルのロットの差<sup>17)</sup> に起因するものと考えられた。

一般人のダイオキシン類摂取量を一日当たり換算すると食事からの摂取量は 100  $\text{pg-TEQ/day/person}$ 、体重 1 kg 当たりでは 1.67  $\text{pg-TEQ/day}$  と推定された。この値は耐用一日摂取量 (TDI 4  $\text{pg-TEQ/kg/day}$ ) を下回っており、平成 10 年度の全国調査結果<sup>10)</sup> (1.4-2.7  $\text{pg-TEQ/kg/day}$  平均値 1.7  $\text{pg/kg/day}$ ) とほとんど同じ値であった。油症患者の場合はダイオキシン類の摂取量は 5300  $\text{ng-TEQ/day/person}$ 、88.8  $\text{ng-TEQ/kg/day}$  と推定された。ダイオキシン類一日摂取量を比較すると油症患者は一般人の 5 万倍の一日摂取量に相当するが、摂取期間が短かったため、総暴露量は前述したように 150 倍と推定された。

#### 血液と暴露源のダイオキシン類の比較

Fig. 2 に油症患者について血中及びカネミライスオイルを通じて摂取したダイオキシン類同族体の構成割合を示した。Fig. 3 に一般人について同様なグラフを示した。縦軸はいずれも各同族体総濃度に対する各化合物の割合を示している。油症患者の血中 PCDD 同族体の構成割合は OCDD が 80% を占め、他の化合物は 10% 以下であった。カネミライスオイルのそれは 1,2,3,4,7,8-HpCDD が 40% を占め、ついで OCDD 及び 1,2,3,6,7,8-HxCDD がそれぞれ 20% 程度であり血中 PCDD 同族体の構成割合とは異なっていた。一方、一般人では血中と食品の構成割合はお互いによく類似していた。

油症患者の血中 PCDF 同族体の構成割合は 2,3,4,7,8-PeCDF が 70% を占め、ついで 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF (10-20%) の順である。この構成割合はカネミライスオイルのそれと比較的類似していた。一方、一般人の血中での 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF 等の構成割合は油症患者のそれと類似しているが、2,3,7,8-TCDF のように一般人の暴露

**Table 2** Estimated total intakes of dioxins for Yusho patients and normal controls

	Total intake of dioxins ( $\mu\text{g/person}$ )		Ratio
	Yusho patients*	Controls**	Yusho / Control
2,3,7,8-TCDD	0.0	0.060	-
1,2,3,7,8-PeCDD	5	0.36	14
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7.6	0.14	54
1,2,3,6,7,8-HxCDD	32	0.41	78
1,2,3,7,8,9-HxCDD	20	0.0	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	53	1.9	28
OCDD	35	10	3.6
2,3,7,8-TCDF	57	1.1	52
1,2,3,7,8-PeCDF	247	0.4	694
2,3,4,7,8-PeCDF	373	0.79	475
1,2,3,4,7,8-HxCDF	405	0.39	1029
1,2,3,6,7,8-HxCDF	70	0.27	255
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.5	0.0	-
1,2,3,7,8,9-HxCDF	47	0.38	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	114	0.58	198
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2.0	0.0	-
OCDF	120	0.0	-
344'5'-TCB (PCB 81)	823	2.1	390
33'4'4'-TCB (PCB 77)	8229	27.1	304
33'44'5'-PenCB (PCB 126)	760	10	77
33'44'55'-HxCB (PCB 169)	29	2	14
2'344'5'-PenCB (PCB 123)	1772	36	49
23'44'5'-PenCB (PCB 118)	39246	1027	38
2344'5'-PenCB (PCB 114)	4115	18	227
233'44'-PenCB (PCB 105)	1962	307	6.4
23'44'55'-HexCB (PCB 167)	5634	219	26
233'44'5'-HexCB (PCB 156)	5950	122	49
233'44'55'-HexCB (PCB 157)	1709	54	32
233'44'55'-HpCB (PCB 189)	519	15	34
PCDDs-TEQ	12	0.49	23
PCDFs-TEQ	258	0.63	413
PCDDs/PCDFs-TEQ	270	1.1	241
None-ortho-Co-PCBs-TEQ	77	1.0	76
Mono-ortho-Co-PCBs-TEQ	10	0.24	43
Total Co-PCBs-TEQ	87	1.2	70
Total TEQ	357	2.4	151

\* : Calculated from the concentration of dioxins in Yusho oil (Iida, Ref.13) and the estimated intakes of rice bran oil (mean total intake per patient, 688 ml and 0.92 for oil density) reported by Hayabuchi et al. Ref. 14). \* : Mean intake of Kyusyu area in 1998, Quoted from Health and Welfare 1999, Ref. 10.



源で25%を占めているのに血中での割合が低いものがあった。その他にも2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF及び1,2,3,6,7,8-HxCDF等を除いて両者ともに血中残留濃度は低かった。2,3,4,7,8-PeCDFは両グループともに血中の総TEQに占める毒性寄与率が最も高い物質であり、油症患者では62%を占めている。増田ら<sup>18)~21)</sup>は日本と台湾の油症患者血中のPCB, PCDFについて濃度推移を詳しく追跡している。その結果、PCDFの半減期は7.7年と非常に長く人体への残留性が高い物質であり、神奈川ら<sup>22)</sup>は35年以上経過した時点でも油症患者に残る諸症状との関連性を示唆している。

Non-Co-PCBについてはカネミライスオイル

からの摂取割合が低いPCB 169 (8%)が油症患者の血中では70%を占めている。一方、一般人で摂取量の80%を占めるPCB 77の血中での割合は数%であり、その代わりにPCB 126が60%を占め油症患者と顕著な違いが見られた。

Mono-Co-PCBについては油症患者の血中PCB 118及びPCB 156の割合はそれぞれ20及び40%であったが、一般人のそれは60及び20%であった。PCB 118とPCB 156の構成割合に關してして両グループ間に顕著な差が認められた。一方、暴露源であるカネミライスオイル及び食品におけるPCB同族体の構成割合は両者間に大きな違いは認められなかった。今までPCBの構成割合で検討してきたが、総摂取量でも、両

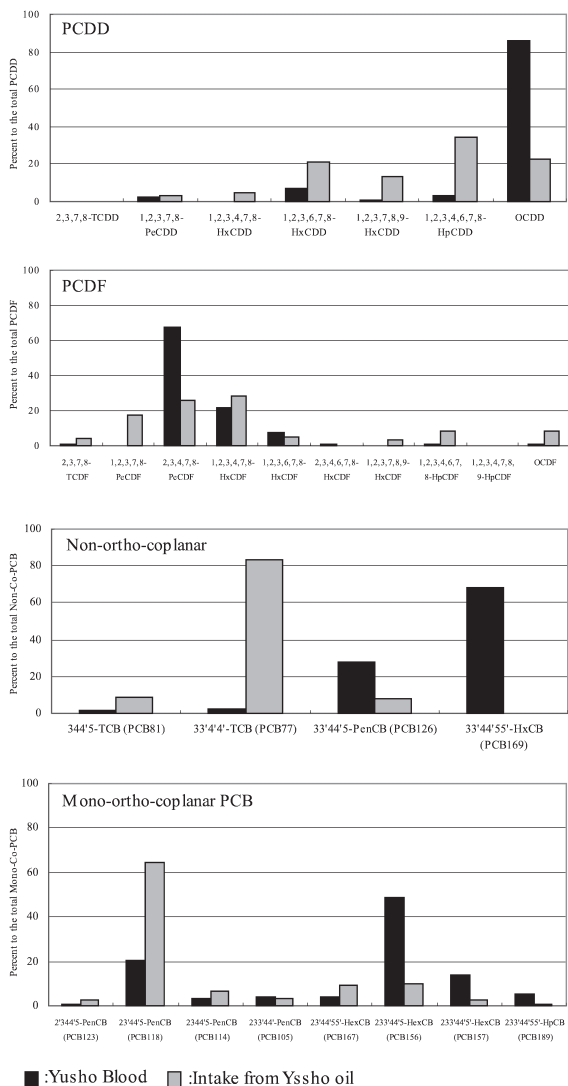


Fig. 2 Congener distributions of PCDD, PCDF, Non-Co-PCB and Mono-Co-PCB in the Yusho blood and Yusho oil

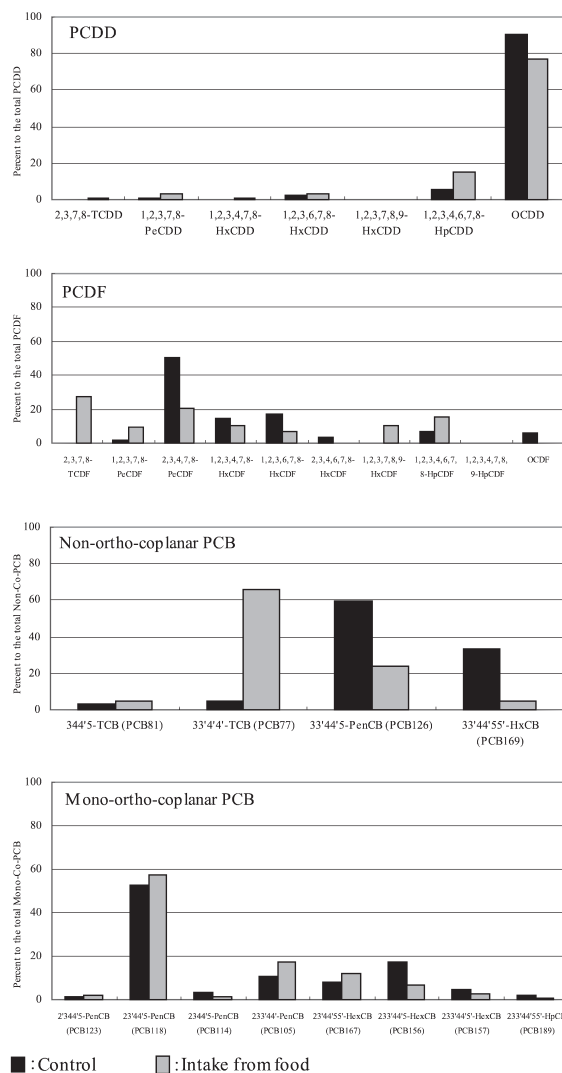


Fig. 3 Congener distributions of PCDD, PCDF, Non-Co-PCB and Mono-Co-PCB in the blood of normal control and food

ループともに PCB 118 の摂取量が最も多いにもかかわらず、油症患者の血中濃度は一般人の 80% 程度である。これとは逆に PCB 156 は食品及びカネミライスオイルともに PCB 118 より摂取量のはるかに低いにもかかわらず血中残留濃度は油症患者の方が 5.7 倍も高かった。これは、摂取した PCB が油症患者では一般人と異なる生体内挙動をとることを示唆している。堀ら<sup>23)</sup>は PCB と PCDF を同時投与したマウスの PCB 残留状況は油症患者に類似したパターンを示すことを明らかにした。すなわち、PCB 118 に相当するピークの減少がみられ、その原因として PCDF 投与により強い酵素誘導が起り PCB 118 の代謝促進が起ると推定している。そのために一般人と異なる油症患者特有の PCB パターン<sup>24)</sup>を示すものと考えられている。一方、一般人の場合、PCBs の摂取は食事由来が大部分を占め、特に我が国では魚介類を多食する傾向があるため PCB 118 の摂取量も多く油症患者の総摂取量と比較して 1/38 程度であるが、油症患者のような短期間に高濃度の暴露を受けなかったため、酵素誘導に基づく PCB 118 の代謝促進は起こらなかったものと推察される。

生体内運命が類似する化学物質では暴露量と人体の残留量は相関すると考えられるが、物理化学的性質が類似しているダイオキシン類同族体であっても実際には体内吸収率、代謝性、排泄がそれぞれ異なるため、それらの影響を受けて血中の最終的な残留パターンが決まることが示唆された。

## 総 括

油症患者と一般人の血中ダイオキシン類の残留パターンは互いに顕著な差がみられる。この違いを考察するため、それぞれの暴露源であるカネミライスオイル及び食事のダイオキシン類組成及び摂取量と関連させて比較検討した。

一般人について血液と食事のダイオキシン同族体の組成割合を比較検討した結果、PCB 及び PCDD の血中残留状況は食事の同族体の組成割合と類似していた。一方、油症患者の場合、血中残留状況は食事あるいはカネミライスオイルいずれの同族体組成割合とも類似せず一般人の血中残留同族体組成とも異なっており、同族体の選択的代謝が推察された。両グループの主な暴露源である

カネミライスオイル及び食事からの推定総暴露量は TEQ 値で 150 倍の開きがあったが、2001 年度の時点における血中の濃度比は 4.5 倍であった。しかし、油症の諸症状に最も関連している物質と考えられている 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度レベルは一般人の 10 倍以上のレベルであり、今後とも注意深く観察する必要があると考えられた。

## 謝 辞

本研究は厚生科学研究補助金によるものである。ここに記して謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) 飯田隆雄, 平川博仙, 松枝隆彦, 中川礼子: 油症患者 83 名の血液中 PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCBs 濃度, 福岡医誌 88: 169-176, 1997.
- 2) 竹中重幸, 平川博仙, 中村又善, 中川礼子, 飯田隆雄, 戸高尊: 油症患者のダイオキシン類レベルの追跡調査 (1998~1999 年), 福岡医誌 92: 139-148, 2001.
- 3) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu M L and Guo YL: Recent trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and YuCheng patients. Chemosphere. 38: 98-993, 1999.
- 4) 飯田隆雄, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和夫, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆: 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年). 福岡医誌 94: 126-1356, 2003.
- 5) 徳永章二, 飯田隆雄, 古江増隆: 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念. 福岡医誌 96: 135-145, 2005.
- 6) 増田義人: ライスオイル中の毒性化合物 油症研究. 30 年の歩み. 47-74. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆 (編) 九州大学出版会. 福岡. 2000.
- 7) Tsutsumi T, Iida T, Hori T, Nakagawa R, Tobiishi K, Yanagi T, Kono Y, Uchibe H, Matsuda R, Sasaki K and Toyoda M: Update of daily intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs from food in Japan. Chemosphere, 45 1129-1137, 2001.
- 8) 吉村健清: 油症における重症度の解析ならびに摂取油量調査, 福岡医誌 62: 104-108, 1971.
- 9) 増田義人, 原口浩一: 油症患者体内の PCB 及び PCDF の 35 年間の挙動と毒性影響, 福岡医誌 96: 113-123, 2005.
- 10) 厚生省: 平成 10 年度ダイオキシン類の食品経

- 由総摂取量調査研究報告書 (平成 11 年 11 月)
- 11) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T: Follow-up survey of dioxins concentrations in the blood of Yusho patients in 2002-2003. *Fukuoka Acta Med.* 96, 249-258, 2005.
  - 12) Iida T, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Nakagawa R and Matsueda T: Inter-laboratory calibration study of dioxins in human blood samples. *Proceedings of China-Japan Joint Symposium on Environmental Chemistry.* 337-338, 2004.
  - 13) 飯田隆雄: PCBs 及び PCDFs の対外排泄促進油症研究. 30 年の歩み. 272-297. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆 (編) 九州大学出版会. 福岡. 2000.
  - 14) Hayabuchi H, Yoshimura T and Kuratsune M: Consumption of toxic oil by 'Yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. *Food Cosmet. Toxicol.* 17: 455-461, 1979.
  - 15) Thnabe S, Kannan N, Wakimoto T, Tatsukawa R, Okamoto T and Masuda Y: Isomer, specific determination and toxic evaluation of potentially hazardous coplanar PCBs, dibenzofurans and dioxins in the tissues of "Yusho" PCB poisoning victim and in the causal oil. *Toxicol. Environ. Chem.* 24, 215-231, 1989.
  - 16) 姚元, 高菅卓三, 益永茂樹, 中西準子: クロスチェックによるカネミ油症ライスオイル中 PC-DDPCDF 及び PCB の分析横浜国立大学環境科学センター紀要 第 27 巻 第 1 号 25-32 2001.
  - 17) 倉恒匡徳: "奇病"の原因を究明するための疫学調査 油症研究. 30 年の歩み. 25-44. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆 (編) 九州大学出版会. 福岡. 2000.
  - 18) 増田義人, 黒木広明, 原口浩一, Ryan JJ, 許書刀: 台湾油症患者血液中の PCDF 及び PCB の濃度減衰. *福岡医誌* 82: 262-268, 1991.
  - 19) 増田義人, 原口浩一, 黒木広明, Ryan JJ: 油症患者における PCBsPCDFs の 30 年間の変遷と症状. *福岡医誌* 92: 149-157, 2001.
  - 20) 増田義人, 黒木広明, 原口浩一, Schecter A, Pöpke O: 油症患者血液中 PCB, PCDF の 20 年経過後の状態. *福岡医誌* 88: 149-156, 1997.
  - 21) Masuda Y: Fate of PCDF / PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. *Chemosphere*, 43: 925-930, 2001.
  - 22) 神奈川芳行, 今村知明: カネミ油症患者 (2001 年 78 名, 2002 年 279 名) の血中 PCDFs 値と臨床症状等との関係に関する研究. *福岡医誌* 96: 169-179, 2005.
  - 23) 堀 伸二郎, 宮田秀明, 前田浩一郎, 村上保行, 樫本 隆: 油症における体内残留 PCB の質的究明. *食衛誌* 20: 166-172, 1979.
  - 24) 増田義人, 香川梨絵, 島村京子, 高田真由美, 倉恒匡徳: 油症患者及び一般人のポリ塩化ビフェニル. *福岡医誌* 65: 25-27, 1974.  
(受付 2007-4-3)

## ダイオキシン類母体曝露がマウス胎仔精巢の 性ステロイドホルモン合成系発現に及ぼす影響

<sup>1)</sup>九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学専攻分野

<sup>2)</sup>現・九州保健福祉大学薬学部

武藤純平<sup>1)2)</sup>, 石田卓巳<sup>1)</sup>, 石井祐次<sup>1)</sup>, 山田英之<sup>1)</sup>

### The Effect on the Expression of Testicular Steroidogenic Enzymes in Fetal Mouse by Maternal Exposure to TCDD

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

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

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

**Abstract** A number of studies have reported that reproductive and developmental disorders are produced by prenatal or postnatal exposure to dioxins such as 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). These effects would be more serious compared with other toxicities with dioxins, because those injuries appear at much lesser doses than those needed for acute toxicity. Although the mechanisms regulating reproductive and developmental disorders are still unclear, we have recently reported that maternal exposure to TCDD causes the suppression of fetal testicular steroidogenic enzymes in rats. In the present study, we examined whether the same occurs in mice, using C57BL/6J and DBA/2N strains. The result showed that TCDD does not show any effect on the expression of steroidogenic acute regulatory protein mRNA in both strains. To the best of our knowledge, abnormal sexual behavior by fetal exposure to TCDD has never been reported in mice. Therefore, our result supports a possibility that abnormal sex behavior by exposure to TCDD at the fetal stages occurs in rats but not in mice. In addition, the data obtained suggest that the suppression of fetal testicular steroidogenic enzymes is, at least, one of the key mechanisms for impaired sex behavior induced by dioxin.

### はじめに

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) をはじめとするダイオキシン類による生体への影響は、消耗症<sup>16)</sup>や発ガンプロモーション作用<sup>7)9)</sup>など多岐に亘ることが知られている。ノックアウトマウスを用いた研究などから、細胞の可溶性画分に存在する芳香族炭化水素受容体 (AhR : aryl hydrocarbon receptor) への結合が、ダイオキシン類毒性発現における主要因の一つであると考えられている<sup>4)5)10)</sup>。しかし、AhR により発現調節を受けるタンパク質の数は百数十種類にも及んでおり、かつ、それらと毒性との関連性については不明な点も多い。妊娠期にダイオキシン類への曝露を受けた場合、仔の生殖器官の発育

遅延や性行動異常、さらに精子数減少等の生殖機能障害などが報告されている<sup>3)15)</sup>。これらは、その後の世代にも影響を及ぼし得ることから、問題が大きいと思われる。しかも、ダイオキシン類による生殖や後世代への影響は、他の毒性とは異なり、母体に影響が現れない低用量の曝露で惹起される<sup>15)</sup>。このような障害を回避して次世代の健全性を確保するため、早期の毒性発現機構の解明、並びにその予防法の開発が期待される。性行動異常などの後世代の障害は、ダイオキシン類曝露によってだけではなく、性ステロイドホルモン関連タンパク質合成酵素や受容体の欠損においても観察される。例えば、エストロゲン合成酵素である aromatase [cytochrome P450 (CYP) 19] や androgen receptor, さらに estrogen receptor の



ノックアウトマウスにおいて、同様の障害が観察されている<sup>6)14)18)</sup>。Aromatase ノックアウトマウスにおいては、新生仔期からの継続的なエストロゲンの投与が、成長後の性行動を正常状態に回復させるとの報告もなされている<sup>20)</sup>。この回復は、成長後にエストロゲンを投与しても観察されない。このことから、成長後の性行動能獲得には、周産期および新生仔期の脳に性ステロイドホルモンが供給される必要があると考えられている。当研究室では、ダイオキシン類曝露により惹起される後世代の障害は、胎仔における性ステロイドホルモン生合成酵素の機能障害に起因していると考え、ラット母獣への TCDD 曝露が、胎仔精巣の性ステロイドホルモン生合成系へ及ぼす影響について検討した。その結果、トランスポーターおよび生合成酵素の多くに、発現量や機能の低下が起こることを既に明らかにしている<sup>13)19)</sup>。また、この低下が、脳下垂体において合成される黄体形成ホルモン (LH: luteinizing hormone) の血中濃度低下に起因する可能性を示す結果も得ている<sup>13)19)</sup>。本研究では、胎仔精巣のステロイドホルモン生合成抑制と後世代における障害との関連性について更に明らかにするため、ダイオキシン類母体曝露による仔の性行動異常が知られていないマウスを用い、胎仔期のステロイドホルモン生合成低下が起こるか否かを検証した。すなわち、ダイオキシン類に対して異なる親和性の AhR をもつ二系統のマウス (C57BL/6J マウス; 高親和性 AhR, 並びに DBA/2N 系マウス; 低親和性 AhR) を用い、ステロイドホルモン生合成の律速過程に必須な steroidogenic acute regulatory protein (StAR) の発現に及ぼすダイオキシン類の影響を検討した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

TCDD は、Acc Standard 社 (New Haven, CT, USA) より購入した。Corn oil は、味の素 (株) 社製の市販品を使用した。その他の試薬は、実験に適した純度のものを使用した。

### 2. 薬物処理

本検討における動物実験は、「九州大学大学院薬学研究院、大学院薬学府及び薬学部における実験動物に関する指針」に従い、実験計画の承認を受

理されたのちに実施した。

### TCDD 溶液の調製

あらかじめ調製し、 $-20^{\circ}\text{C}$ にて保存した TCDD 溶液 ( $40\ \mu\text{g}/\text{mL}$  アセトン溶液) を、corn oil に必要量加え混和した。 $\text{N}_2$  ガスでアセトンを留去し、最終的に  $1\ \mu\text{g}$  TCDD/ $2\ \text{mL}$  corn oil となるように調製し、実験に供した。

### C57BL/6J および DBA/2N マウスへの薬物処理

C57BL/6J 系マウスおよび DBA/2N 系マウスは、日本チャールズリバー社より購入した。両系統とも妊娠 12 日目の母獣を購入し、妊娠 14 日目に TCDD  $20\ \mu\text{g}/\text{kg}$  を経口投与した。TCDD の投与量は、胎仔において口蓋裂、並びに水腎症が惹起される投与量を基準として決定した<sup>10)</sup>。投与後、妊娠 18 日目に母体を開腹し、胎仔より臓器を摘出した。コントロールとして、corn oil を投与し、同様の方法にて胎仔の臓器を摘出した。摘出した臓器は、液体窒素で凍結し、使用するまで  $-80^{\circ}\text{C}$  にて保存した。

### 3. 半定量的 reverse transcriptional-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法

#### 逆転写反応

凍結臓器からの total RNA の抽出は、RNeasy Mini Kit (QIAGEN, GmbH, Hilden, Germany) を用いて行った。逆転写反応は、total RNA を DNase I (Amplification Grade; Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA) 処理したのち、Super Script™ II RNase H-Reverse Transcriptase を用いて行った。

#### PCR 反応

調製した cDNA を template として、特異的 primer を用い (Table 1), PCR 反応を行った。すなわち、 $1\ \mu\text{L}$  cDNA 溶液、 $5\ \mu\text{L}$   $10\times$  Ex Taq™ buffer、 $4\ \mu\text{L}$   $2.5\ \text{mM}$  dNTP mixture、 $2\ \mu\text{L}$   $10\ \mu\text{M}$  primer 溶液および  $1.25$  units TaKaRa Ex Taq™ (TaKaRa Bio Inc., Ohtsu, Japan) を含む  $50\ \mu\text{L}$  溶液を反応溶液とし、サーマルサイクラーにて PCR 反応を行った。また、内標準として  $\beta$ -actin についても同様に PCR を行った。



**Table 1** Primer sequences

Target	Primer sequences (5' → 3')	Product size (bp)
Cyp11a1	Sense CTC ATT GAG CAT TGT CAG GAC AG Antisense TGG TCT GGT GAG CAT CCT GGA CA	736
StAR	Sense GAC CTT GAA AGG CTC AGG AAG AAC Antisense TAG CTG AAG ATG GAC AGA CTT GC	981
$\beta$ -actin	Sense CAC CAT GTA CCC AGG CAT TGC Antisense AGG GGC CGG ACT CAT CGT ACT	194

**Table 2** PCR program

Target	PCR program
Cyp11a1	95 °C, 3 min-(95 °C, 30 sec-64 °C, 60 sec-72 °C, 60 sec) x 29 cycles-72 °C, 5 min
StAR	94 °C, 3 min-(94 °C, 30 sec-60 °C, 60 sec-70 °C, 60 sec) x 30 cycles-70 °C, 5 min
$\beta$ -actin	94 °C, 2 min-(94 °C, 30 sec-56 °C, 40 sec-72 °C, 30 sec) x 23 cycles-72 °C, 3 min

PCR は cDNA template 量, 並びにサイクル数依存的に増幅する条件を予め決定し (Table 2), これに従って実行した. さらに, PCR による増幅産物にゲノム DNA 由来物が混在していないことを確認するため, 逆転写を行わないサンプルをネガティブコントロールとして PCR による増幅が起らないことを確認した.

#### アガロースゲル電気泳動

分析対象の PCR 産物のサイズに対応した濃度のアガロースゲルを作製し, 上記方法にて得られた PCR 増幅産物を 1 x TBE buffer 中で泳動した. 泳動後, ゲルは ethidium bromide 染色し, トランスイルミネーター [UVP, INC. (San Gabriel, USA)] 上で UV (302 nm) を照射してバンドを検出し, ポラロイドカメラで撮影した. 撮影した写真を GT-7000U flat scanner (SEIKO EPSON Co., Nagano, Japan) を用いて画像ファイルとしてコンピューターに取り込んだのち, 各バンド強度を NIH image software (public domain, U.S. A.) により定量した. さらに, 各バンド強度は, 同様の方法で定量した  $\beta$ -actin のバンド強度により補正した.

#### 統計処理

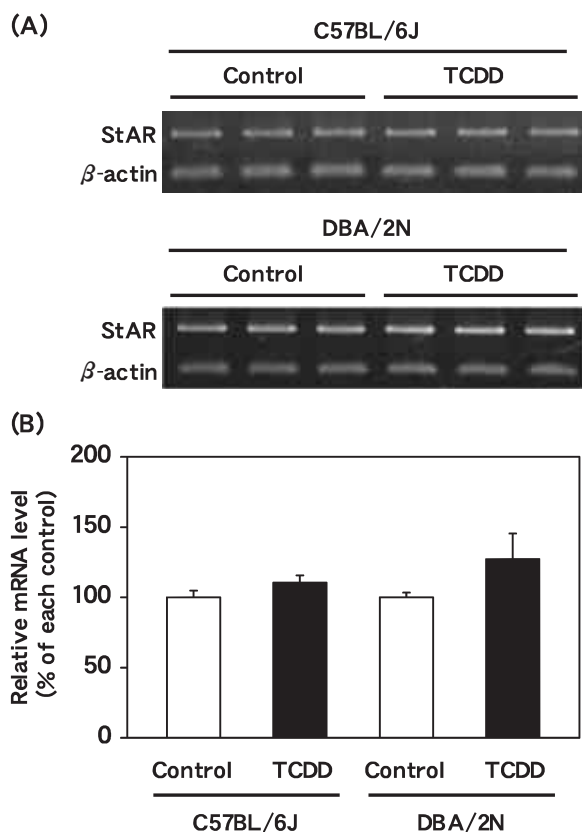
有意差検定は, Fischer's Protect Least Significant Difference (PLSD) test 法を用いて行った.

## 結 果

TCDD などのダイオキシン類による機能性タンパク質の発現変動の中でも, 肝臓における

Cyp11a1 の誘導は最も sensitive な遺伝子変動の一つとして知られている<sup>21)</sup>. そこで, TCDD 母体曝露時の胎仔性ステロイドホルモン生合成酵素への影響を検討する前段階として, 妊娠 C57BL/6J マウスおよび DBA/2N マウスの雄胎仔肝臓における Cyp11a1 mRNA の発現量を半定量的 RT-PCR 法で定量した. その結果, 既報と同様に, 両系統の胎仔において, 肝 Cyp11a1 mRNA 量が TCDD 処理により有意に増加していた (データ未掲載). このことから, マウス母体に投与した TCDD は胎仔の遺伝子発現に影響することが確認された. 次に, TCDD 母体曝露時における胎仔性ステロイドホルモン生合成系への影響を検討するため, 精巣における StAR mRNA の発現量を半定量的 RT-PCR 法にて定量した.

両系統マウスの胎仔精巣 StAR は, 同一の PCR



**Fig. 1** Change in the expression of StAR mRNA in mouse fetal testis following exposure of the dams to TCDD. (A) Comparison of the mRNA profiles between control and TCDD exposure. (B) Relative level of the mRNA in the testes of mouse fetuses normalized to  $\beta$ -actin. The values represented are the mean  $\pm$  S.D. of 3 mice.

条件下でバンドの観察が可能であったが、その強度はむしろダイオキシン類に低応答性の DBA/2N 系統の方が強い傾向が観察された (Fig. 1A)。さらに、両系統のマウスにおいて TCDD 曝露による StAR mRNA の発現低下は認められなかった (Fig. 1A, B)。これらのことから、胎仔精巣 StAR の発現は、少なくともマウスでは TCDD 曝露で変動せず、またその基礎発現も AhR によって正の制御を受けないことが示唆された。

## 考 察

ダイオキシン類曝露被害者を両親、ないし片親とする児の性比については、イタリアのセブソで起こった化学プラント事故に伴う TCDD 曝露事件に関連して、曝露男性が父親である場合、男児出生率が低下することが報告されている<sup>11)12)</sup>。しかし、曝露女性を母親とする子の男女比については、異常は認められていない。一方、polychlorinated biphenyl や polychlorinated dibenzofuran 曝露を主体とするカネミ油症事件、並びに台湾油症事件の場合では、被害者を親とする子の出生性比について異常は報告されていない<sup>17)22)</sup>。また、実験動物においては、例えばラットでは、母体中でダイオキシン類に曝露された雄を親とする仔の雌雄比は、コントロールに比べ低下することが報告されている<sup>8)</sup>。このように、ダイオキシン類曝露に伴う次世代の性比については、動物種、曝露した親の性別、さらに曝露されたダイオキシン類の種類によって大きく異なると考えられる。本検討でも、マウス母獣の TCDD 曝露に対する胎仔の性比を検討したが、コントロール群との間に差は認められなかった(成績未掲載)。例数も少ないため(一群の胎仔数=12~24; 母体数=3)、詳細な再検討を要するが、マウスでは胎仔の性比に異常を生じない可能性が高いと考えられた。

次に、胎仔精巣における性ステロイドホルモン生合成酵素の発現変動を観察した。その結果、ダイオキシン類に対して高感受性の C57BL/6J マウスにおいてさえ、TCDD による StAR mRNA の発現低下は見られなかった (Fig. 1)。一般的に、多くの哺乳動物において、成長後の正常な性行動の発現には、周産期において脳への性ステロイドホルモンの曝露が重要であると考えられている。しかし、この寄与の程度は、動物種によって

異なることも知られている<sup>2)</sup>。例えば、C57BL 系雄性マウスの場合、発達期におけるエストロゲンの欠損により成長後の性行動異常が惹起されるが、成体への外因性エストロゲンの投与で、完全ではないものの回復することが明らかとなっている<sup>1)</sup>。このように、マウスでは、成長後の正常な性行動の発現に対して周産期におけるエストロゲンの寄与はあまり大きくなく、このため同時期における性ステロイドホルモン生合成酵素の誘導を必要としていない可能性が考えられる。事実、これまでに、マウスにおいて TCDD 曝露による性行動異常は報告されていない。このことも、我々の結果を支持するものと考えられる。また、本検討で採用した妊娠 14 日目は、ラット胎仔においては器官形成期にあたるが、マウス胎仔においては器官形成期後にあたる。このような発達における時期の違いが種差に反映された可能性も否定できない。TCDD 曝露に伴う胎仔精巣の性ステロイドホルモン生合成酵素の発現変動におけるラットとマウスの違いを明らかにするためには、今後も更なる検討が必要であると考えられる。

## 参 考 文 献

- 1) Bakker J, Honda S, Harada N and Balthazart J: Restoration of male sexual behavior by adult exogenous estrogens in male aromatase knockout mice. *Horm. Behav.* 46: 1-10, 2004.
- 2) Couture LA, Harris MW and Birnbaum SL: Developmental toxicity of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in the Fischer 344 rat. *Fundam. Appl. Toxicol.* 12: 358-366, 1989.
- 3) Faqi AS, Dalsenter PR, Merker HJ and Chahoud I: Effects on development landmarks and reproductive capability of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl and 3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl in offspring of rats exposed during pregnancy. *Hum. Exp. Toxicol.* 17: 365-372, 1998.
- 4) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM and Gonzalez FJ: Arylhydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-induced toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 140: 173-179, 1996.
- 5) Fujii-Kuriyama Y, Ema M, Mimura J and Sogawa K: Ah receptor: a novel ligand-activated transcription factor. *Exp. Clin. Immunogenet.* 11: 65-74, 1994.

- 6) Honda S, Harada N, Ito S, Takagi Y and Maeda S: Disruption of sexual behavior in male aromatase-deficient mice lacking exon 1 and 2 of the *cyp19* gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 252: 445-449, 2003.
- 7) Huff J, Lucier G and Tritscher A: Carcinogenicity of TCDD: experimental, mechanistic, and epidemiologic evidence. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 34: 343-372, 1994.
- 8) Ikeda M, Tamura M, Yamashita J, Suzuki C and Tomita T: Repeated in utero and lactational 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin exposure affects male gonads in offspring, leading to sex ratio changes in F2 progeny. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 206: 351-355, 2005.
- 9) Luebeck EG, Buchmann A, Stinchcombe S, Moolgavkar SH and Schwarz M: Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on initiation and promotion of GST-p-positive foci in rat liver: A quantitative analysis of experiments data using a stochastic model. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 167: 63-73, 2000.
- 10) Mimura J, Yamashita K, Nakamura K, Morita M, Takagi TN, Nanao K, Ema M, Sogawa K, Yasuda M, Katsuki M and Fujii-Kuriyama Y: Loss of teratogenic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in mice lacking the Ah (dioxin) receptor. *Genes Cells* 2: 645-654, 1997.
- 11) Mocarelli P, Brambilla P, Gerthoux PM, Patterson DG Jr and Needham LL: Change in sex ratio with exposure to dioxin. *Lancet* 348: 409, 1996.
- 12) Mocarelli P, Gerthoux PM, Ferrari E, Patterson DG Jr, Lieszak SM, Brambilla P, Vincoli N, Signorini S, Tramacere P and Carreri V: Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offsprings. *Lancet* 355: 1858-1863, 2000.
- 13) Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, Kagawa T, Ishida T, Ishii Y and Yamada H: Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis in rats. *Endocrinology* 147: 927-936, 2005.
- 14) Ogawa S, Chester AE, Hewitt SC, Walker VR, Gustafsson JA, Smithies O, Korach KS and Pfaff DW: Abolition of male sexual behaviors in mice lacking estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  ( $\alpha\beta$ ERKO). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97: 14737-14741, 2000.
- 15) Peterson RE, Theobald HM and Kimmel GI: Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross-species comparisons. *Crit. Rev. Toxicol.* 23: 283-335, 1993.
- 16) Poland A and Knutson JC: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22: 517-554, 1982.
- 17) Rogan WJ, Gladen BC, Guo YL and Hsu CC: Sex ratio after exposure to dioxin-like chemicals in Taiwan. *Lancet* 353: 206-207, 1999.
- 18) Sato T, Matsumoto T, Kawano H, Watanabe T, Uematsu Y, Sekine K, Fukuda T, Aihara K, Krust A, Yamada T, Nakamichi Y, Yamamoto Y, Nakamura T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Metzger D, Chambon P and Kato S: Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101: 1673-1678, 2004.
- 19) Taketoh J, Mutoh J, Takeda T, Ogishima T, Takeda S, Ishii Y, Ishida T and Yamada H: Suppression of fetal testicular cytochrome P450 17 by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin: A mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. *Life Sci.* 80: 1259-1267 (2007).
- 20) Toda K, Okada T, Takeda K, Akira S, Saibara T, Shiraishi M, Onishi S and Shizuta Y: Oestrogen at the neonatal stage is critical for the reproductive ability of male mice as revealed by supplementation with 17 $\beta$ -oestradiol to aromatase gene (*Cyp19*) knockout mice. *J. Endocr.* 168: 455-463, 2001.
- 21) Vander Heuvel JP, Clark GC, Kohn MC, Trischer AM, Greenlee WF, Lucier GW and Bell DA: Dioxin-responsive genes: examination of dose-response relationships using quantitative reverse transcriptional-polymerase chain reaction. *Cancer Res.* 54: 62-68, 1994.
- 22) 吉村健清, 金子 聰, 早瀬仁美: 油症における出生性比. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編, 油症研究—30年の歩み—, pp. 312-315, 九州大学出版会, 福岡, 2000.  
(受付 2007-4-2)

## Using Microarray Analysis to Evaluate Genetic Polymorphisms Involved in the Metabolism of Environmental Chemicals

Susumu BAN<sup>1)</sup>, Tomoko KONDO<sup>1)</sup>, Mayumi ISHIZUKA<sup>2)</sup>, Seiko SASAKI<sup>1)</sup>, Kanae KONISHI<sup>1)</sup>, Noriaki WASHINO<sup>1)</sup>, Syoichi FUJITA<sup>2)</sup> and Reiko KISHI<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of Public Health, Hokkaido University Graduate School of Medicine,*

<sup>2)</sup> *Labratory of Toxicology, Department of Environmental Veterinary Sciences, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Japan.*

**Abstract** The field of molecular biology currently faces the need for a comprehensive method of evaluating individual differences derived from genetic variation in the form of single nucleotide polymorphisms (SNPs). SNPs in human genes are generally considered to be very useful in determining inherited genetic disorders, susceptibility to certain diseases, and cancer predisposition. Quick and accurate discrimination of SNPs is the key characteristic of technology used in DNA diagnostics. For this study, we first developed a DNA microarray and then evaluated its efficacy by determining the detection ability and validity of this method. Using DNA obtained from 380 pregnant Japanese women, we examined 13 polymorphisms of 9 genes, which are associated with the metabolism of environmental chemical compounds found in high frequency among Japanese populations. The ability to detect *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K gene polymorphisms was above 98%, and agreement rates when compared with real time PCR analysis methods (kappa values) showed high validity: 0.98 (0.96), 0.97 (0.93), 0.90 (0.81), 0.90 (0.91), respectively. While this DNA microarray analysis should prove important as a method for initial screening, it is still necessary that we find better methods for improving the detection of other gene polymorphisms not part of this study.

### Introduction

The field of molecular biology currently faces the need for a comprehensive method of evaluating individual differences derived from genetic variation in the form of single nucleotide polymorphisms (SNPs). SNPs in human genes are generally considered to be very useful in determining inherited genetic disorders, susceptibility to certain diseases, and cancer predisposition.

Quick and accurate discrimination of SNPs is the key characteristic of technology used in DNA diagnostics<sup>1)</sup>. While PCR-

RFLP analysis and real-time PCR analysis have been the standard methods for the discrimination of SNPs<sup>2,3)</sup>, it is impossible to simultaneously discriminate multiple SNPs using PCR-RFLP analysis, while real-time PCR analysis requires access to an expensive device. Since multiple genetic factors tend to play a part in increased susceptibility to diseases related to chemical compounds, it is important to develop a method that allows for the quick discrimination of multiple SNPs simultaneously and without the use of expensive machinery. DNA microarrays are powerful tools for genomic analysis and enable one to discriminate many SNPs simultaneously<sup>4)~6)</sup>. However, DNA microarray methods used today remain expensive since a special device for

---

Address correspondence and requests for reprints to:  
Dr. Susumu BAN  
Department of Public Health, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Kita 15, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060-8638, Japan.  
E-mail: sban@med.hokudai.ac.jp  
Phone; +81-11-706-5068 Fax: +81-11-706-7805



measuring fluorescence signals is required. Therefore, we developed a new DNA microarray method for quick and accurate discrimination of SNPs at a lower cost.

We selected 13 polymorphisms of 9 genes (Cytochrome P450(*CYP*)*1A1* I462V, *CYP1A2*-3860A>G, *CYP1B1* A119S and L432V, *CYP2A6* deletion and I471T, *CYP2C19* 636A>G and 681G>A, *CYP2D6* P34S, *GSTP1* I105V, *NAT2* R197Q and G286E and *AhR* R554K), which are found in high frequency among Japanese populations. Environmental chemical compounds are considered to be the cause of harmful influences such as male congenital anomalies (cryptorchidism, hypospadias, etc.), endocrine disruption, and child motor development<sup>7)~9)</sup>. CYP enzymes, the GST family, and the Ah receptor (AhR) are all elements influencing individual susceptibility to environmental chemical compounds<sup>10)11)</sup>.

In this study, we examined the usefulness of this array by determining the accuracy and ability to detect genetic polymorphisms using DNA from 380 pregnant Japanese women.

## Material and Methods

### Study population

A prospective cohort study was conducted between 2002 and 2004 in Sapporo, Japan

(the Hokkaido Study on Environment and Children's Health). In this study, the subjects comprised 380 pregnant women who enrolled at 23–35 weeks of gestation and successfully delivered single, live births at the Sapporo Toho Hospital. The study was conducted with the informed consent of all subjects and was approved by the Institutional Ethical Board for Human Gene and Genome Studies at Hokkaido University's Graduate School of Medicine.

### DNA sample

Peripheral blood samples were collected at the time of enrollment in the study. Genomic DNA was extracted from the peripheral blood sample by standard techniques<sup>12)</sup>.

### DNA Microarray

We selected 26 alleles from 9 genes: [*CYP1A1* I462V (X02612), *CYP1A2*-3860A>G (dbSNP ID: rs2069514), *CYP1B1* A119S and L432V (U56438), *CYP2A6* deletion and I471T (U22027), *CYP2C19* 636A>G and 681G>A (NT\_030059), *CYP2D6* P34S (M33189), *GSTP1* I105V (M24485), *NAT2* R197Q and G286E (X14672) and *AhR* R554K (dbSNP ID: rs2066853)], all of which may be influenced by the metabolism of certain environmental chemicals (Table 1). In

**Table 1** Polymorphisms of genes on the glass array

Gene	Accession No.	Polymorphism	Mutation Position	Base
<i>CYP1A1</i>	X02612	① I462V	6819	A/G
<i>CYP1A2</i>	dbSNP ID: rs2069514	② -3860A>G	-3860	G/A
<i>CYP1B1</i>	U56438	③ A119S	4160	G/T
		④ L432V	8131	C/G
<i>CYP2A6</i>	U22027	⑤ Deletion		
		⑥ I471T	6416	T/C
<i>CYP2C19</i>	NT_030059	⑦ 636A>G	180546	G/A
		⑧ 681G>A	1806252	G/A
<i>CYP2D6</i>	M33189	⑨ P34S	913	C/T
<i>GSTP1</i>	M24485	⑩ I105V	2627	A/G
<i>NAT2</i>	X14672	⑪ R197Q	1311	G/A
		⑫ G286E	1578	G/A
<i>AhR</i>	dbSNP ID: rs2066853	⑬ R554K	181	A/G



cooperation with Nisshinbo, we developed a glass array, to which the oligonucleotides of 26 alleles of 9 genes were tethered.

Amplification of 13 fragments from the genomic region containing the mutation positions was performed in a multiplex PCR assay in a 50- $\mu$ L volume containing 100 ng of genomic DNA, 50 pmol each of multiplex PCR primer and QIAGEN multiplex PCR master mix (QIAGEN). Reactions were carried out in the GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) according to the following condition: 95°C for 15 minutes, 40 cycles of 95°C for 1 minute, 60°C for 30 seconds, 72°C for 30 seconds, and 72°C for 3 minutes. After the multiplex PCR assay, the PCR products were then treated at 95°C for 1 minute, on ice for 1 minute, followed by the addition of 10  $\mu$ L of hybridization buffer. A glass array was hybridized with the reaction solution for 2 hours at 37°C. After hybridization, the glass array was washed with the wash buffer for 5 minutes and put in the conjugate buffer at room temperature for 30 minutes. After washing, the glass array was treated with the coloring buffer at room temperature for 30 minutes. After the drying, the glass array was scanned and gene polymorphisms were discerned.

### Real-time PCR

*CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K polymorphisms were genotyped by allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease (TaqMan<sup>®</sup>) assay according to the manufacturer's protocol. SNP genotyping products were used as probes (Applied Biosystems, Foster City, USA). For the *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K polymorphisms, we purchased the TaqMan<sup>®</sup> SNP genotyping product c-

3099976\_30 (dbSNP: rs1056836), c\_3237198\_1\_ (dbSNP: rs947894) and c\_11170747\_10 (dbSNP: rs2066853), respectively. We used Custom TaqMan<sup>®</sup> Genomic Assays for the *CYP1A1* I462V (dbSNP: rs1048943) and the primers were designed as follows: forward, 5'-ATGGGCAAGCGGAAGTGTA; reverse, 3'-CAGGATAGCCAGGAAGAGAAAGAC. PCR was performed in 10  $\mu$ l, with approximately 40 ng of genomic DNA, 0.25  $\mu$ l 40  $\times$  Assays-by-Design SNP Genotyping Assay Mix or 0.5  $\mu$ l 20  $\times$  Assays-on-Demand SNP Genotyping Assay Mix (consisting of unlabeled PCR primers and TaqMan<sup>®</sup> MGB probe, FAM and VIC dye-labeled) and 5.0  $\mu$ l of 2  $\times$  TaqMan<sup>®</sup> Universal PCR Master Mixture. Cycling conditions were 2 minutes at 50 °C, followed by 10 minutes at 95 °C and then 40 cycles of 92 °C for 15 seconds and 60 °C for 1 minute. PCR products were measured at 490/520 nm excitation/emission (FAM) and 530/560 nm excitation/emission (VIC) at 60 °C for 1 minute and genotyped using allelic discrimination with the Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) according to the manufacturer's instructions.

### Results and discussion

The discrimination results of the *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K for 380 pregnant women are summarized in Table 2. The rates of discrimination of *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K gene polymorphisms by the microarray were 100%, 100%, 98.4% and 99.7%, respectively, which demonstrates high detection rates for these gene polymorphisms. On the other hand, we could not determine other polymorphisms taking place in genes other than the four genes mentioned above.

Next, we compared the results of the four gene polymorphisms by microarray with the results of real time PCR analysis, which is considered to be a highly reliable method. We calculated the agreement rate and kappa values to estimate the validity of the microarray method and the real-time PCR method for *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K polymorphisms. Agreement rates (kappa values) of four gene polymorphisms were 0.98 (0.96), 0.97 (0.93), 0.90 (0.81), 0.90 (0.91), respectively (Table 3).

The microarray system was then used to evaluate the susceptibility to specific diseases or to determine compounds influencing human genes<sup>13)14)</sup>. In this study, we developed a glass array to evaluate the susceptibility to environmental chemical compounds commonly found in Japanese populations. For the *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K gene polymorphisms, the microarray analysis showed high detection power (above 98%) and the discrimination results by this microarray analysis compared with the results by the real-time PCR method shows very good validity. The results indicate that our microarray method is useful for initial screenings meant to detect *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1*

I105V and *AhR* R554K gene polymorphisms.

As for gene polymorphisms other than the *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K gene polymorphisms, signals were obtained, but at similar levels for both alleles. Therefore, we could not determine the likelihood of gene polymorphism. This may be due to hybridization conditions. However, the efficiency of hybridization and the thermal stability of hybrids between the target nucleic acid on the glass array and the probes is strongly sequence dependent. Other microarray approaches such as minisequencing<sup>15)16)</sup>, solid-phase primer elongation<sup>17)18)</sup>, or solid-phase PCR<sup>19)20)</sup>, utilize the fidelity of DNA polymerase enzymes, but require a fluorescence scanning system. In general, DNA extension reaction by DNA polymerase uses an unlabeled target. Therefore an improved assay will be required to discriminate other gene polymorphisms quickly and at a low cost.

In conclusion, the microarray method used in this study has demonstrated good detection and high validity rates, and thus is appropriate for use in to initial screenings for some gene polymorphisms such as *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K. The ability to

**Table 2** Determination of *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K polymorphisms in 380 pregnant women by microarray method

<i>CYP1A1</i> I462V		<i>CYP1B1</i> L432V	
Genotype	n (%)	Genotype	n (%)
Ile/Ile	233 (61.3)	Leu/Leu	286 (75.2)
Ile/Val	132 (34.7)	Leu/Val	86 (22.6)
Val/Val	15 (3.9)	Val/Val	8 (2.1)
undetermined	none	undetermined	none
<i>GSTP1</i> I105V		<i>AhR</i> R554K	
Genotype	n (%)	Genotype	n (%)
Ile/Ile	274 (72.1)	Arg/Arg	148 (38.9)
Ile/Val	96 (25.3)	Arg/Lys	156 (41.1)
Val/Val	4 (1.1)	Lys/Lys	75 (19.7)
undetermined	6 (1.6)	undetermined	1 (0.3)

**Table 3** Validity of the microarray method for *CYP1A1* I462V, *CYP1B1* L432V, *GSTP1* I105V and *AhR* R554K polymorphisms in 380 pregnant women

<i>CYP1A1</i> I462V					<i>CYP1B1</i> L432V						
Results of Real-time PCR	Results of Microarray				Results of Real-time PCR	Results of Microarray					
		I/I	I/V	V/V			L/L	L/V	V/V		
	I/I	230	3	1		234	L/L	282	8	0	290
	I/V	3	128	0		131	L/V	4	78	0	82
	V/V	0	1	14		15	V/V	0	0	8	8
	233	132	15	380		286	86	8	380		

<i>GSTP1</i> I105V					<i>AhR</i> R554K						
Results of Real-time PCR	Results of Microarray				Results of Real-time PCR	Results of Microarray					
		I/I	I/V	V/V			I/I	I/V	V/V		
	I/I	254	12	0		266	I/I	121	0	1	122
	I/V	20	83	0		103	I/V	27	148	0	175
	V/V	0	1	4		5	V/V	0	8	74	82
	274	96	4	374		148	156	75	379		

Gene polymorphism	Agreement rate*1	Kappa value*2	P value
<i>CYP1A1</i> I462V	0.98	0.96	<0.001
<i>CYP1B1</i> L432V	0.97	0.93	<0.001
<i>GSTP1</i> I105V	0.90	0.81	<0.001
<i>AhR</i> R554K	0.90	0.91	<0.001

\* 1: Agreement rate = X/Y

(X: Number of samples which have same discrimination results for both microarray and real-time PCR tests, Y: Number of determinable samples by microarray analysis)

\* 2: Kappa value = O-E/1-E

(O: Rate of the same results for both microarray and real-time PCR tests, E: Expected value of the same results for both microarray and real-time PCR tests)

discriminate multiple polymorphisms using this microarray analysis allows for convenient, quick, and low-cost estimation of susceptibility to harmful influences and disease stemming from environmental chemical compounds commonly found in Japanese populations.

### Acknowledgements

This study was supported in part by a Grant-in-Aid for Health Scientific Research from the Japan Ministry of Health, Labor, and Welfare, and by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science.

### References

- 1) Graber JH, O'Donnell MJ, Smith CL and Cantor CR: Advances in DNA diagnostics. *Curr. Opin. Biotechnol.* 9: 14-18, 1998.
- 2) Haliassos A, Chomel JC, Tesson L, Baudis M, Kruh J, Kaplan JC and Kitzis A: Modification of enzymatically amplified DNA for the detection of point mutations. *Nucleic Acids Res.* 17: 3606, 1989.
- 3) Kostrikis LG, Tyagi S, Mhlanga MM, Ho DD and Kramer FR: Spectral genotyping of human alleles. *Science* 279: 1228-1229, 1998.
- 4) Landegren U, Nilsson M and Kwok PY: Regarding bits of genetic information: Methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Res.* 8: 769-776, 1998.

- 5) Wang J : From DNA biosensors to gene chips. *Nucleic Acids Res.* 28 : 3011-3016, 2000.
- 6) Tillib SV and Mirzabekov AD : Advances in the analysis of DNA sequence variations using oligonucleotide microchip technology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 12 : 53-58, 2001.
- 7) Vidaeff AC and Sever LE : In utero exposure to environmental estrogens and male reproductive health : a systematic review of biological and epidemiologic evidence. *Reprod. Toxicol.* 20 : 5-20, 2005.
- 8) Steinhardt GF : Endocrine disruption and hypospadias. *Adv. Exp. Med. Biol.* 545 : 203-215, 2004.
- 9) Nakajima S, Saijo Y, Kato S, Sasaki S, Uno A, Kanagami N, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Todaka T, Nakamura Y, Yanagiya S, Sengoku Y, Iida T, Sata F and Kishi R : Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age. *Environ. Health Perspect.* 114 : 773-778, 2006.
- 10) Thier R, Bruning T, Roos PH, Rihs HP, Golka K, Ko Y and Bolt HM : Markers of genetic susceptibility in human environmental hygiene and toxicology : the role of selected CYP, NAT and GST genes. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 206 : 149-171, 2003.
- 11) Hung RJ, Boffetta P, Brennan P, Malaveille C, Hautefeuille A, Donato F, Gelatti U, Spaliviero M, Placidi D, Carta A, Scotto di Carlo A and Porru S : GST, NAT, SULT1A1, CYP1B1 genetic polymorphisms, interactions with environmental exposures and bladder cancer risk in a high-risk population. *Int. J. Cancer* 110 : 598-604, 2004.
- 12) Saijo Y, Sata F, Yamada H, Suzuki K, Sasaki S, Kondo T, Gong YY, Kato EH, Shimada S, Morikawa M, Minakami H and Kishi R : Ah receptor, CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 gene polymorphisms are not involved in the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol. Hum. Reprod.* 10 : 729-733, 2004.
- 13) Welsh JB, Zarrinkar PP, Sapinoso LM, Kern SG, Behling CA, Monk BJ, Lockhart DJ, Burger RA and Hampton GM : Analysis of gene expression profiles in normal and neoplastic ovarian tissue samples identifies candidate molecular markers of epithelial ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 : 1176-1181, 2001.
- 14) Francois E, Wang DY, Fulthorpe R, Liss SN and Edwards EA : DNA microarrays for detecting endocrine-disrupting compounds. *Biotechnol. Adv.* 22 : 17-26, 2006.
- 15) Pastinen T, Kurg A, Metspalu A, Peltonen L and Syvanen AC : Minisequencing : A specific tool for DNA analysis and diagnostics on oligonucleotide arrays. *Genome Res.* 7 : 606-614, 1997.
- 16) Dubiley S, Kirillov E and Mirzabekov A : Polymorphism analysis and gene detection by minisequencing on an array of gel-immobilized primers. *Nucleic Acids Res.* 27 : e19, 1999.
- 17) Pastinen T, Raitio M, Lindroos K, Tainola P, Peltonen L and Syvanen AC : A system for specific, high-throughput genotyping by allelic-specific primer extension on microarrays. *Genome Res.* 10 : 1031-1042, 2000.
- 18) Erdogan F, Kirchner R, Mann W, Ropers HH and Nuber UA : Detection of mitochondrial single nucleotide polymorphisms using a primer elongation reaction on oligonucleotide microarrays. *Nucleic Acids Res.* 29 : e36, 2001.
- 19) Strizhkov BN, Drobyshev AL, Mikhailovich VM and Mirzabekov AD : PCR amplification on a microarray of gel-immobilized oligonucleotides : Detection of bacterial toxin- and drug-resistant genes and their mutations. *Biotechniques* 29 : 844-850, 2000.
- 20) Tillib SV, Strizhkov BN and Mirzabekov AD : Integration of multipole PCR amplifications and DNA mutation analyses by using oligonucleotide microchip. *Anal. Biochem.* 292 : 155-160, 2001.

(Received for publication April 11, 2007)



(和文抄録)

## マイクロアレイを用いた環境化学物質代謝に関与する 遺伝子多型判定法の開発と問題点

<sup>1)</sup> 北海道大学大学院医学研究科 予防医学講座 公衆衛生学分野

<sup>2)</sup> 北海道大学大学院獣医学研究科 環境獣医学講座 毒性学教室

坂 晋<sup>1)</sup>, 近藤 朋子<sup>1)</sup>, 石塚真由美<sup>2)</sup>, 佐々木成子<sup>1)</sup>, 小西 香苗<sup>1)</sup>,  
鷲野 考揚<sup>1)</sup>, 藤田 正一<sup>2)</sup>, 岸 玲子<sup>1)</sup>

近年、一遺伝子多型 (SNPs) に由来する個々の感受性を包括的に評価する方法が必要とされている。ヒト遺伝子における SNP は、遺伝的な疾患、特定の疾病に対する感受性、癌などの素因のひとつとして考えられている。そのため、迅速で正確な SNPs 判定法が求められている。本研究では、環境化学物質代謝に関与する遺伝子多型を判定するための DNA マイクロアレイを開発し、その効力と信頼性を 380 人の日本人妊婦の血液を用いて、日本人で変異型頻度の高い 9 遺伝子 13 多型について検討した。CYP1A1 I462V, CYP1B1 L432V, GSTP1 I105V, AhR R554K 遺伝子多型に対する検出力は 98%以上の値を示すとともに、リアルタイム PCR 法による結果との比較による信頼度 ( $\kappa$  係数) は、高い値を示した (それぞれ, 0.98 (0.96), 0.97 (0.93), 0.90 (0.81), 0.90 (0.91))。本研究のマイクロアレイ法は、検出できなかった遺伝子多型について改善する必要がある一方で、初期のスクリーニング方法として重要である。

## Excretion of Causative PCDFs Congeners of Yusho by One Year Intake of FBRA in Patients with Yusho

Junya NAGAYAMA<sup>1)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>2)</sup>, Junboku KAJIWARA<sup>2)</sup>, Takao IIDA<sup>2)</sup>,  
Takashi TODAKA<sup>3)</sup>, Takeshi UENOTSUCHI<sup>3)</sup>, Satoko SHIBATA<sup>3)</sup>,  
Hiroshi TSUJI<sup>4)</sup> and Teruaki IWASAKI<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup> *Laboratory of Environmental Molecular Epidemiology, Graduate School of Medical, Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582*

<sup>2)</sup> *Division of Food and Drug Hygiene, Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Fukuoka 818-0135*

<sup>3)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582*

<sup>4)</sup> *Division of Internal Medicine, Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital, Fukuoka 811-3307*

<sup>5)</sup> *Genmaikouso Corp., Sapporo 001-0012*

**Abstract** Thirty-eight years have passed since the outbreak of Kanemi rice oil poisoning, namely, Yusho in the western Japan. However, even now the patients with Yusho have been still suffering from several objective and subjective symptoms. In order to improve or, if possible, to cure the such symptoms, the most important therapeutic treatment is considered to actively excrete the causative agents, that is, polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) from the bodies of the patients and to reduce their body burdens. In rats, dietary fiber and chlorophyll have been shown to promote the fecal excretion of dioxins and to reduce their levels in rat liver. In this study, we examined whether such kinds of effect were also observed by FBRA, which was the health food and relatively rich with dietary fiber and chlorophyll, in eighteen patients with Yusho, which were divided into two groups, namely group A, ten patients (Male: 3 and Female: 7) with the mean age of 67.7 years old and group B, eight patients (Male: 4 and Female: 4) with the mean age of 64.1 years. Respective mean concentrations of the three PCDF congeners, that is, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF and 1,2,3,6,7,8-HxCDF in the blood on whole weight basis just before initiating this study were as follows; group A: 1.36, 0.491 and 0.150 pg/g, and group B: 0.571, 0.159 and 0.064 pg/g. Contamination levels of these PCDF congeners in group A were 2 to 3 times higher than those in group B. Group A took 7.0 to 10.5g of FBRA after each meal and tree times a day for the first one year and for second one year, they did not take FBRA any more. Group B took FBRA with the same manner as the group A only for the second one year. The concentrations of these PCDFs congeners in the blood of groups A and B were also measured at the end of first and second year, respectively. Assuming that the lipid content of the blood is 0.3% in order to convert their concentrations on whole weight basis to those on lipid weight basis and also that the body fat is contaminated with these PCDF congeners at their concentrations on lipid weight basis and the content of body fat is 20% of the body weight (60 kg), we computed the average amounts in the net excretion of these PCDF congeners from the body of the patients due to the intake of FBRA in groups A and B. As a result, in group A, 120, 372 and 96 ng/patient of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF and 1,2,3,6,7,8-HxCDF, respectively, were excreted from the body of the patients. In group B, however, 36 ng/patient of 2,3,4,7,8-PeCDF only was excreted, but

Address for Correspondence: Junya NAGAYAMA, D.M.Sc.

Laboratory of Environmental Molecular Epidemiology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, JAPAN

Fax • Tel: +81-92-642-6735

E-mail: jun@shs.kyushu-u.ac.jp

other two PCDF congeners were not. Accordingly, promotive excretion of these PCDF congeners from the patients with Yusho seemed much effective in group A, of which their concentrations in the blood were much higher than those of group B.

### Introduction

Our environments including foods have been polluted with extremely toxic dioxins such as polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) not only in Japan<sup>1)2)</sup> but also other countries<sup>3)~7)</sup>. Consequently, human beings also have already been contaminated with these dioxins<sup>8)~10)</sup>. We already have investigated the effects of this kind of compounds on the foetus and sucklings which are considered the most sensitive stages of human beings as well as animals, and observed their unfavorable effects on thyroid hormone and immune response systems in Japanese infants perinatally and lactationally exposed to them<sup>11)~14)</sup>. Their adverse effects on developmental condition have also been found in 10-month-old breast-fed Japanese infants<sup>15)16)</sup>.

PCDFs have been the most important etiological agents of Yusho<sup>17)</sup>, a mass food poisoning that occurred in western Japan in 1968 and even now<sup>18)</sup>. At present, namely, more than 38 years after the outbreak, many patients with Yusho are still suffering from several objective and subjective symptoms. In order to improve or to cure various symptoms of patients with Yusho, their promotive excretion from the body of the patients is considered very useful. In rats, dietary fiber and chlorophyll have been shown to promote the fecal excretion of dioxins, probably due to the restriction or some inhibition of their absorption and re-absorption in the digestive tract and therefore to reduce their levels in rat liver<sup>19)20)</sup>.

In this study, we examined whether such kinds of effect were observed by FBRA, which was the brown rice fermented with *Aspergillus-oryze* and rich with dietary fiber, or not in patients with Yusho.

### Materials and Methods

FBRA has been manufactured for over 35 years with Genmaikouso Corp., Sapporo, Japan, and taken by more than 100,000 people as one of the health foods. Ingredients of FBRA have already been reported in our previous study<sup>21)</sup>.

Eighteen patients with Yusho were voluntarily participated in this study, and divided into two groups in compliance with their wishes, namely, groups A and B. Group A consisted of 3 males and 7 females with the mean age of 67.7 years old and group B 4 males and 4 females with that of 64.1 years old. In group A, they took 7.0 to 10.5g of FBRA after each meal and three times a day for the first one year and didn't for the second one year. In group B, they took FBRA in the same way as group A in the second one year, but not in the first one year.

Just before starting this study, 20 ml of the peripheral blood was individually taken by venipuncture in both groups A and B, twice at one week intervals. These blood samples were analyzed for 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PenCDF), 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran (1,2,3,4,7,8-HxCDF) and 1,2,3,6,7,8-HxCDF, which were the most important causative compounds for Yusho disease, by HRGC-HRMS technique using a Micromass Autospec Ultima NT mass spectrometer directly interfaced

with an Agilent Technologies HP-6890A gas chromatography<sup>22)</sup>.

The average concentrations of these three PCDF congeners in the two blood samples of the same patient were expressed as the individual original ones in both groups A and B. In order to evaluate the effect of FBRA on their excretion from the patients, their blood concentrations were determined again exactly with the same manner as those measured just before beginning this study at the end of first and second year in both groups. Their concentrations measured at different times in each group were statistically examined by student's t-test.

### Results and Discussion

Changes in concentrations on wet weight basis of three PCDF congeners in the blood of patients with Yusho during the period of

this study were shown in Table 1. Just before starting this study, concentrations of 2,3,4,7,8-PenCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF and 1,2,3,6,7,8-HxCDF in group A were  $1.36 \pm 1.71$ ,  $0.491 \pm 0.734$  and  $0.150 \pm 0.195$  pg/g wet weight, respectively, and those in group B  $0.571 \pm 0.465$ ,  $0.159 \pm 0.113$  and  $0.064 \pm 0.037$  pg/g wet weight. Although their concentrations were 2.3 to 3.1 times higher in group A than in group B, even in group B these were 3 to 10 times greater than those in healthy Japanese people, and the concentrations of 2,3,4,7,8-PenCDF, the main causative congener of Yusho, were the highest and 10 times over those of healthy persons<sup>23)</sup>. These results clearly indicate that patients with Yusho are still contaminated with high levels of PCDFs and in order to improve their objective and subjective symptoms, promotive excretion of these

**Table 1** Changes in concentrations on wet weight basis of three PCDFs congeners in the blood of patients with Yusho

Congener	Concentration, pg / g wet weight*		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
2,3,4,7,8-PenCDF			
Group / A	$1.36 \pm 1.71$	$1.32 \pm 1.68$	$1.31 \pm 1.67$
B	$0.571 \pm 0.465$	$0.570 \pm 0.476$	$0.561 \pm 0.473$
1,2,3,4,7,8-HxCDF			
Group / A	$0.491 \pm 0.734$	$0.410 \pm 0.609^a$	$0.423 \pm 0.648^a$
B	$0.159 \pm 0.113$	$0.148 \pm 0.107$	$0.144 \pm 0.113$
1,2,3,6,7,8-HxCDF			
Group / A	$0.150 \pm 0.195$	$0.128 \pm 0.159^a$	$0.133 \pm 0.174^a$
B	$0.064 \pm 0.037$	$0.061 \pm 0.037$	$0.060 \pm 0.040$

\* : Mean  $\pm$  S.D.

<sup>a</sup> : Significantly different from the initial concentration in group A,  $p < 0.05$

**Table 2** Changes in mean concentrations on lipid weight basis of three PCDF congeners in the blood of patients with Yusho

Congener	Mean Concentration, pg/g lipid weight*		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
2,3,4,7,8-PenCDF			
Group / A	453	440	437
B	190	190	187
1,2,3,4,7,8-HxCDF			
Group / A	164	137	141
B	53	49	48
1,2,3,6,7,8-HxCDF			
Group / A	50	43	44
B	21	20	20

\* : Lipid content of the blood was supposed 0.3%



**Table 3** Changes in average body burdens of three PCDF congeners in patients with Yusho

Congener	Average Body Burden, ng/patient*		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
2,3,4,7,8-PenCDF			
Group / A	5,436	5,280	5,244
B	2,280	2,280	2,244
1,2,3,4,7,8-HxCDF			
Group / A	1,968	1,644	1,692
B	636	588	576
1,2,3,6,7,8-HxCDF			
Group / A	600	516	528
B	252	240	240

\* : Content of body fat was considered 20% of body weight (60kg)

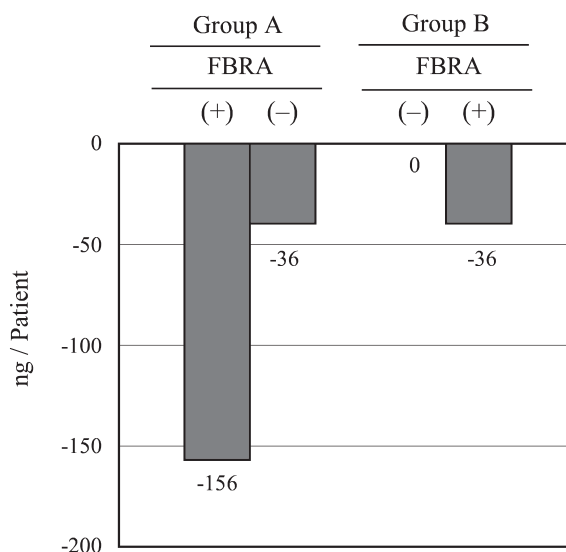
PCDFs congeners seems quite useful.

As indicated in Table 1, mean concentrations of 2,3,4,7,8-PenCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF and 1,2,3,6,7,8-HxCDF gradually decreased from the beginning to the end of this study, except those of 1,2,3,4,7,8- and 1,2,3,6,7,8-HxCDFs in group A, in which their concentrations increased from the end of first year to the end of second year and in this period they did not take FBRA.

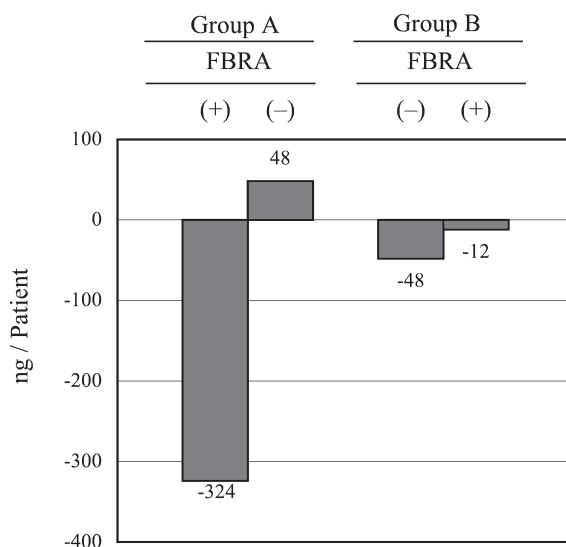
In order to convert the mean concentrations in Table 1 to those on lipid weight basis, we presumed the lipid content of blood was 0.3%, and the results are shown in Table 2. Again, on the assumption that the body fat was contaminated with these three PCDF congeners at their blood concentrations on the lipid weight basis and the content of body fat was 20% of body weight (60kg), we calculated their total body burdens and the results are indicated in Table 3.

As a result, effects of the intake of FBRA for one year on the excretion of the three PCDF congeners from the body of patients with Yusho in groups A and B are demonstrated in Figs. 1, 2 and 3.

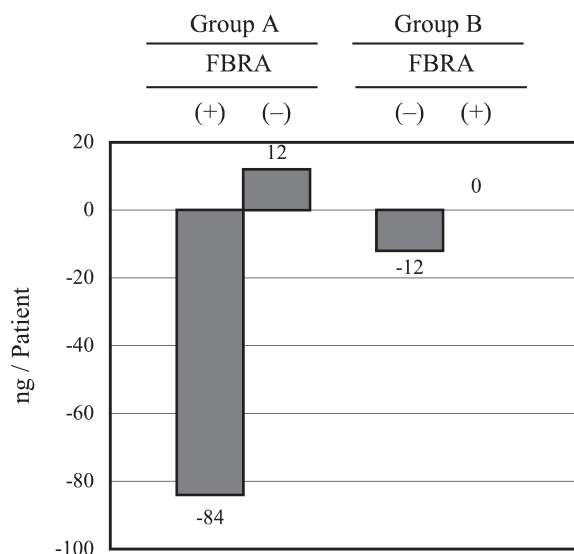
Net reduction of 2,3,4,7,8-PenCDF in the body of patients with Yusho were 120 and 36 ng / patient in groups A and B, respectively, as shown in Fig. 1. Net reduction of 1,2,3,4,7,8- and 1,2,3,6,7,8-HxCDFs were 372 and 96



**Fig. 1** Effects of the intake of FBRA for one year on the excretion of 2,3,4,7,8-PenCDF from the body of patients with Yusho



**Fig. 2** Effects of the intake of FBRA for one year on the excretion of 1,2,3,4,7,8- HxCDF from the body of patients with Yusho



**Fig. 3** Effects of the intake of FBRA for one year on the excretion of 1,2,3,6,7,8- HxCDF from the body of patients with Yusho

ng / patient, respectively, only in group A, as indicated in Figs 2 and 3. However, we could not find any significant reduction of these two HxCDFs congeners in group B.

We have already reported the promotive excretion of PCDFs and PCDDs from healthy Japanese people by one year intake of FBRA<sup>21)24)25)</sup>. Results of this study also confirmed the reduction of PCDFs congeners from the patients with Yusho by the intake of FBRA, and showed that this reduction seemed more effective in the patients with higher concentrations of PCDFs, namely, in group A.

## References

- Ohta S, Nakano T, Nishimura H, Okumura T, Aozasa O and Miyata H: Contamination levels of PBDEs, TBBPA, PCDDs / DFs, PBDDs / DFs and PXDDs / DFs in the environment of Japan. *Organohal. Comp.* 57 : 57-60, 2002.
- Uegaki R, Kurokawa S and Yoshimura Y: The fate of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofutans and coplanar PCBs in silage corn. *Ibid.* 51 : 302-305, 2001.
- Bocio A, Llobet JM, Domingo JL, Casas C, Teixido A and Muller L: Levels of PCDD / PCDFS in food samples from Catalonia, Spain. *Ibid.* 57 : 105-108, 2002.
- Coutinho M, Mata P, Borrego C and Boia C: Levels of PCDD / PCDF in agricultural materials in the region of Oporto, Portugal. *Organohal. Comp.* 57 : 101-104, 2002.
- Kim B-H, Jung J-S, Chang Y-S and Park Y-H: Congener specific distribution of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in animal feed. *Ibid.* 57 : 121-124, 2002.
- Kiviranta H, Vartiainen T, Parmanne R, Hallikainen A, Ruokojarvi P and Koistinen J: PCDD/Fs in Baltic herring in the gulf of Finland during 1990's. *Ibid.* 57 : 153-156, 2002.
- Wu Y, Li J, Zhao Y, Chen Z, Li W and Chen J: Dietary intake of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in populations from China. *Ibid.* 57 : 221-224, 2002.
- Furst P and Papke O: PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in human milk and blood from Germany. *Ibid.* 55 : 251-254, 2002.
- Hirakawa H, Matsueda T, Iida T, Nakamura M, Nagata T and Nagayama J: Age-related increase of PCDDs/PCDFs and coplanar PCBs levels in human adipose tissue. *Ibid.* 21 : 419-421, 1994.
- Todaka T, Hirakawa H, Takenaka S, Tobiishi K, Nakagawa R and Iida T: New protocol for dioxins analysis of human blood. *Ibid.* 55 : 155-158, 2002.
- Nagayama J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe T: Condition of thyroid hormone system in 10-month-old Japanese infants perinatally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 48 : 236-239, 2000.
- Nagayama J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe T: Thyroid hormone status in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 53 : 140-144, 2001.
- Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushima J and Watanabe

- T: Condition of helper and suppressor T lymphocyte subpopulations in 10-month-old Japanese infants perinatally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 49: 87-90, 2000.
- 14) Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T, Fukushige J and Watanabe T: Status of helper and suppressor T lymphocyte subpopulations in Japanese infants lactationally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 53: 121-125, 2001.
  - 15) Nagayama J, Fukushige J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T and Watanabe T: Effects of exposure to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins through human milk on total development in 10-month-old Japanese infants. *Ibid.* 48: 240-243, 2000.
  - 16) Nagayama J, Fukushige J, Iida T, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Astuti ET, Yanagawa T and Watanabe T: Developmental condition in 10-month-old Japanese infants perinatally exposed to organochlorine pesticides, PCBs and dioxins. *Ibid.* 48: 244-247, 2000.
  - 17) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M: Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'Yusho'. *Fd Cosmet. Toxicol.* 15: 195-198, 1977.
  - 18) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T and Nakagawa R: Concentrations of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in blood of 83 patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 88: 169-176, 1997. (in Japanese)
  - 19) Morita K, Matsueda T and Iida T: Effect of dietary fiber on fecal excretion of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in rat. *Jpn J. Toxicol. Environ. Health* 43: 35-41, 1997. (in Japanese)
  - 20) Morita K, Matsueda T and Iida T: Effect of chlorella, spirulina and chlorophyllin on fecal excretion of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in rat. *Ibid.* 43: 42-47, 1997. (in Japanese)
  - 21) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H, Ume-hara M, Sada T and Iwasaki T: Active elimination of causative PCDFs/DDs congeners of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people. *Fukuoka Acta Med.* 94: 118-125, 2003.
  - 22) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T: Follow-up survey of dioxins concentrations in the blood of Yusho patients in 2002-2003. *Ibid.* 96: 249-258, 2005.
  - 23) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New protocol of dioxins analysis in human blood. *Ibid.* 94: 148-157, 2003.
  - 24) Takasuga T, Senthilkumar K, Takemori H, Ohi E, Tsuji H and Nagayama J: Impact of FEBRA (fermented brown rice with *Aspergillus oryzae*) intake and concentrations of PCDDs, PCDFs and PCBs in blood of humans from Japan. *Chemosphere* 57: 1409-1426, 2004.
  - 25) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H and Iwasaki T: Promotive excretion of causative agents of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people. *Fukuoka Acta Med.* 96: 241-248, 2005.

(Received for publication April 2, 2007)

(和文抄録)

## 油症患者における FBRA 摂取による 油症原因 PCDFs 同族体の体外排泄促進

<sup>1)</sup>九州大学大学院医学研究院 環境分子疫学研究室

<sup>2)</sup>福岡県保健環境研究所 生活化学科

<sup>3)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>4)</sup>北九州津屋崎病院 内科

<sup>5)</sup>株式会社 玄米酵素

長山 淳哉<sup>1)</sup>, 平川 博仙<sup>2)</sup>, 梶原 淳睦<sup>2)</sup>, 飯田 隆雄<sup>2)</sup>, 戸高 尊<sup>3)</sup>,

上ノ土 武<sup>3)</sup>, 柴田 智子<sup>3)</sup>, 辻 博<sup>4)</sup>, 岩崎 輝明<sup>5)</sup>

カネミ油症中毒事件が発生してから 38 年が経過したが、今でも油症患者は種々様々な自覚および臨床症状で苦しんでいる。このような症状を改善し治療するには、その主要な原因物質であるポリ塩化ダイベンゾフラン (PCDFs) を積極的に体外へ排泄し、汚染レベルを低下させることが第一である。この研究では動物実験によりダイオキシン類の体外排泄促進作用が認められている食物繊維と葉緑素を比較的多量に含む栄養補助食品 FBRA (発酵玄米栄養補助食品ハイ・ゲンキ, (株)玄米酵素, 本社: 北海道札幌市) によるカネミ油症原因物質, 中でも特に重要な 2,3,4,7,8-五塩化ダイベンゾフラン (2,3,4,7,8-PenCDF), 1,2,3,4,7,8-六塩化ダイベンゾフラン (1,2,3,4,7,8-HxCDF) および 1,2,3,6,7,8-六塩化ダイベンゾフラン (1,2,3,6,7,8-HxCDF) の体外排泄促進を 18 名の油症患者の協力により調べた。

研究期間は 2 年間で、患者の希望により A, B 二群に分け、A 群は最初の 1 年間、B 群は 2 年目の 1 年間、毎食後 7.0~10.5g の FBRA を摂取した。A 群は 10 名 (男性 3 名, 女性 7 名) で、平均年齢が 67.7 歳、B 群は 8 名 (男性 4 名, 女性 4 名) で、平均年齢が 64.1 歳であった。

研究を始める前の血中 PCDFs 同族体の平均濃度は A 群が 2,3,4,7,8-PenCDF ; 1.36pg/g, 1,2,3,4,7,8-HxCDF ; 0.491pg/g, 1,2,3,6,7,8-HxCDF ; 0.150pg/g で、B 群が、それぞれ 0.571, 0.159, 0.064 pg/g であった。A 群のほうが、2~3 倍高かった。研究開始 1 年後と 2 年後にも両群の血中 PCDFs 同族体濃度を測定した。

これらの測定結果より、血液の脂肪含有率を 0.3% として、脂肪重量当りの濃度を算出した。この濃度で患者体内の脂肪組織が汚染されており、体重 60kg の患者について、体脂肪率を 20% と仮定して、これらの PCDFs 同族体の体内蓄積量を算出する。そして、この体内蓄積量が FBRA 摂取と非摂取の期間でどのように変化するかを、両群で比較検討した。

A 群の場合、すべての PCDFs 同族体で FBRA 摂取期間のほうが非摂取期間よりも減少量が多く、平均純減少量は患者一人当たり 2,3,4,7,8-PenCDF が 120ng, 1,2,3,4,7,8-HxCDF が 372ng, 1,2,3,6,7,8-HxCDF が 96ng であった。B 群では 2,3,4,7,8-PenCDF のみ、36ng 減少したが、他の二種の同族体では体外への排泄促進は認められなかった。

以上の結果より、FBRA には油症の原因となった PCDFs 同族体の体外排泄促進作用が認められ、その効果は汚染レベルの高い患者でより有効と考えられた。



## Dioxin Concentration in the Blood of Patients Collected during Medical Check-up for Yusho in 2004–2005

Takashi TODAKA<sup>1)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>2)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>2)</sup>, Tsuguhide HORI<sup>2)</sup>,  
Kazuhiro TOBIISHI<sup>2)</sup>, Daisuke ONOZUKA<sup>2)</sup>, Takao IIDA<sup>2)</sup>,  
Takesumi YOSHIMURA<sup>2)</sup> and Masutaka FURUE<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyusyu University,  
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

<sup>2)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39,  
Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka 818-0135*

**Abstract** We measured the concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and non-*ortho* coplanar polychlorinated biphenyls (non-*ortho* PCBs) in blood collected from 242 Yusho patients and 74 Yusho-suspected persons in 2004 and 237 Yusho patients and 114 Yusho-suspected persons in 2005. The sums of toxic equivalents (TEQ) concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho patients in 2004 and 2005 were 126.1 and 124.2 pg TEQ/g lipid, respectively, and the concentrations were 3.4 and 3.3 times higher than those of normal controls that had been previously reported, respectively. Those of the Yusho-suspected persons were about 0.8 and 1.0 times higher than those of normal controls, respectively. Although the TEQ concentrations of PCDDs and non-*ortho* PCBs among Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls were nearly the same, the PCDFs levels of Yusho patients were about 9.8 and 9.5 times higher than those of normal controls in 2004 and 2005, respectively. The concentration of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF), which was the highest among PCDFs congeners for Yusho patients, was about 10.6 and 10.2 times higher than that of the normal controls in 2004 and 2005, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 0.9 and 1.4 times higher than those of normal controls, respectively. However, some of the Yusho-suspected persons showed a high concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF that was approximately 15 times greater than concentrations in normal controls. Of 74 Yusho-suspected persons measured in 2004, 7 persons were officially registered as Yusho patients based on the “New Diagnostic Criteria” that officially became the diagnostic criteria for Yusho exposure on September 29, 2004, which included a concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF in the blood, and in 2005, 14 persons of 114 Yusho-suspected persons were officially registered as Yusho patients.

### Introduction

In 1968, over 1800 persons in western Japan developed a strange skin disease, later named Yusho disease, which found to have been caused by the ingestion of rice bran oil contaminated with polychlorinated

biphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated quarterphenyls (PCQs), and polychlorinated terphenyls (PCTs)<sup>1)</sup>. Over 36 years have passed since the Yusho outbreak, and although almost all of the typical symptoms affecting Yusho patients have improved, some patients are still afflicted with subjective symptoms. From the results of extensive

---

Address for Correspondence: Takashi TODAKA  
Department of Dermatology, Graduate School of Medical  
Sciences, Kyushu University, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku,  
Fukuoka 812-8582, Japan  
Tel.: +81-92-921-9946; Fax: +81-92-928-1203  
E-mail address: todaka@fihes.pref.fukuoka.jp

research by the Yusho study group investigating this disease, PCDFs were concluded to be the primary cause of Yusho disease symptoms<sup>1)</sup>. However, the concentrations of PCDFs in the blood were not included in the diagnostic criteria because the amount of blood that can be collected from Yusho patients is restricted, and thus there were practical difficulties involved in measuring these concentrations. Recently, however, the measurement of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in blood has become possible using small amounts of blood collected from participants in an annual medical check-up for Yusho patients<sup>2)3)</sup>. We measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in blood samples collected from 78 Yusho patients living in Fukuoka Prefecture in 2001 for a preliminary study<sup>4)</sup>. Moreover, we measured the concentrations of these dioxin-like compounds in blood samples collected from 279 Yusho patients and 92 Yusho-suspected persons living in Japan in 2002 and 269 Yusho patients and 74 Yusho-suspected persons living in Japan in 2003, and we also measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of 127 normal controls unaffected by Yusho living in Fukuoka Prefecture whose ages were similar to those of the Yusho patients<sup>5)~7)</sup>. The results showed that PCDFs in the blood of Yusho patients, in particular 2,3,4,7,8-PeCDF, are still present at a much higher concentration than in the blood of unaffected people more than 35 years after the Yusho incident. Therefore, 2,3,4,7,8-PeCDF was indicated to be the most important compound for the establishment of new diagnostic criteria for Yusho disease<sup>5)~7)</sup>. To establish the new criteria, however, it has been necessary to measure the PCDFs concentration in the blood of

many more patients and to statistically analyze the relationship between the concentration levels and clinical symptoms.

In this study, we measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in blood collected from 242 Yusho patients and 74 Yusho-suspected persons in 2004 and 237 Yusho patients and 114 Yusho-suspected persons in 2005, and compared with concentrations of these dioxin-like compounds among the groups of Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls that had been previously reported.

## Materials and Methods

### 1. Sampling

Medical check-up for Yusho patients have been conducted annually to determine their health status since the outbreak of Yusho incident<sup>1)</sup>. The medical check-up is open not only to those persons officially registered as Yusho patients but also to Yusho-suspected persons who regard themselves as potential victims<sup>8)</sup>. Both officially registered Yusho patients and Yusho-suspected persons are examined based on the "Diagnostic Criteria for Yusho"<sup>1)8)</sup>. The blood samples examined in this study were collected from 316 and 351 participants, each of whom received a medical check-up in 2004-2005, and each of whom gave his or her informed consent to participate in this study. The 316 participants were 242 Yusho patients and 74 Yusho-suspected persons in 2004, and the 351 participants were 237 Yusho patients and 114 Yusho-suspected persons in 2005. Blood samples of 10 ml were collected using a vacuum blood-collecting tube containing heparin and were stored at 4°C until analyses for concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs.

## 2. Materials

Native PCDDs, native PCDFs, and native non-*ortho* PCBs, as authentic standards, were purchased from Wellington Laboratories (Ontario, Canada). [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-PCDDs, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-PCDFs, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-non-*ortho* PCBs, as internal standards, were also purchased from Wellington Laboratories. An active carbon column was prepared as follows: active carbon was purchased from Nacalai Tesque (Kyoto, Japan), refluxed 3 times with toluene for 1 hour, and dried in vacuum, after which 500 mg of the active carbon was mixed with 500 g of anhydrous sodium sulfate (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Tokyo, Japan). A silver nitrate/silica gel was purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. All reagents and solvents used in this experiment were of the analytic grade of dioxin that is commercially available.

## 3. Analysis of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs

The extraction of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs from the blood was performed using a previously reported method<sup>(2)(3)</sup>. Concentrations of the PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs were measured using high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC / HRMS) equipped with a solvent cut large-volume injection system (SGE Ltd., Victoria, Australia)<sup>(2)(3)</sup>. The analytic conditions were as follows: the gas chromatograph was an HP-6890A (Agilent Technologies Inc., California, USA) equipped with an Autospec Ultima NT, (Micromass Ltd., Manchester, UK) and an SCLV injection system; the column used was a BPX-5 fused silica precapillary column, 0.25 mm i.d.  $\times$  6 m, 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness (SGE Ltd.); the analytic column (BPX-Dioxin I) was 0.15 mm i.d.  $\times$

30 m (SGE Ltd.); the column was heated from 160°C to 300°C at a rate of 20°C / minute, maintained at 300°C for 12 minutes, cooled to 195°C at a rate of 70°C / minute, maintained at 195°C for 1 minute, heated to 300°C at a rate of 3°C / minute. The injection temperature and ion source temperature were both maintained at 280°C, and the carrier gas (helium) flow rate (constant flow) was 1.3 ml / minute. The ionizing current, ionizing energy, accelerating voltage, and trap current were 750  $\mu\text{A}$ , 40 eV, 8.0 kV and 750  $\mu\text{A}$ , respectively. PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs were analyzed in a single-ion record mode. The resolution was maintained at 10,000 at 5% valley. For the analysis of tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), pentachlorodibenzo-*p*-dioxin (PeCDD), hexachlorodibenzo-*p*-dioxin (HxCDD), heptachlorodibenzo-*p*-dioxin (HpCDD), and octachlorodibenzo-*p*-dioxin (OCDD), we used [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,7,8-TCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8-PeCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,7,8-HxCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,6,7,8-HxCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8,9-HxCDD, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD as internal standards, respectively. For the analysis of tetrachlorodibenzofuran (TCDF), pentachlorodibenzofuran (PeCDF), hexachlorodibenzofuran (HxCDF), heptachlorodibenzofuran (HpCDF), and octachlorodibenzofuran (OCDF), we used [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,7,8-TCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8-PeCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,4,7,8-PeCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,7,8-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,6,7,8-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,7,8,9-HxCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-2,3,4,6,7,8-HpCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF as internal standards, respectively. For the analysis of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (TCB), 3,4,4',5'-TCB, 3,3',4,4',5'-pentachlorobiphenyl (PeCB), and 3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (HxCB), we used [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,3',4,

4'-TCB, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,4,4',5-TCB, [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,3',4,4',5-PeCB, and [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-3,3',4,4',5,5'-HxCB as internal standards, respectively. [ $^{13}\text{C}_{12}$ ]-1,2,3,4-TCDD was used as a syringe spike.

#### 4. Data analysis

To estimate the sum of TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs, we introduced ND (less than the detection limit) values to half values of the detection limit and the estimates based on the toxic equivalency factors (TEF) values proposed by the World Health Organization

(WHO)<sup>9</sup>.

### Results and discussion

The concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons in 2004–2005, including the dates in 2002–2003 and the normal controls that had been previously reported, are presented in Table 1–4<sup>5)–7)</sup>. The sum of TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho patients in 2002–2005 were 136.4, 125.0, 126.1, and 124.2 pg TEQ/g

**Table 1** Concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho patients collected in 2002–2005

Congeners	Concentration (pg/g lipid)									
	Yusho patients								Normal controls	
	2002 (n=279)		2003 (n=269)		2004 (n=242)		2005 (n=237)		2005 (n=127)	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
2,3,7,8-TCDD	1.7	0.8	1.7	0.8	1.4	0.8	1.6	1.4	1.9	0.8
1,2,3,7,8-PeCDD	11.1	5.9	9.7	5.4	9.7	5.6	10.4	6.0	9.0	3.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.9	1.8	2.6	1.6	2.6	1.6	3.0	1.9	3.6	1.9
1,2,3,6,7,8-HxCDD	53.0	41.7	50.4	42.6	49.2	41.5	50.8	40.8	27.7	11.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	5.1	3.8	3.9	2.7	4.3	3.1	4.8	3.2	4.5	2.8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	63.4	53.7	38.6	22.9	49.8	25.9	46.8	30.2	78.7	55.5
OCDD	877.2	728.2	763.3	438.9	716.8	370.3	797.4	636.9	1221.6	940.4
2,3,7,8-TCDF	1.4	0.9	1.2	0.7	1.8	1.6	3.0	3.8	1.0	0.7
1,2,3,7,8-PeCDF	0.9	0.8	0.8	0.7	0.9	0.8	1.3	1.7	0.7	0.6
2,3,4,7,8-PeCDF	192.0	252.1	176.2	240.2	181.8	241.7	175.1	240.1	17.1	6.6
1,2,3,4,7,8-HxCDF	59.0	99.6	52.0	87.2	50.4	83.8	48.1	86.2	4.9	2.7
1,2,3,6,7,8-HxCDF	22.4	29.1	20.4	27.0	18.6	24.5	18.3	26.1	5.7	2.6
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.2	4.0	2.8	2.6	2.7	3.1	2.7	2.7	2.2	2.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
OCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
3,4,4',5'-TCB (# 81)	5.6	3.1	5.3	1.8	5.5	3.0	5.5	2.3	5.6	2.3
3,3',4,4'-TCB (# 77)	11.0	7.2	8.6	6.4	11.0	8.2	11.0	20.5	8.4	4.8
3,3',4,4',5'-PeCB (# 126)	103.1	71.7	98.1	65.3	92.3	70.4	94.6	64.4	113.1	80.6
3,3',4,4',5,5'-HxCB (# 169)	200.0	154.5	183.8	139.2	135.4	98.5	155.4	113.2	63.7	27.0
Total PCDDs	1014.3	782.0	870.3	469.5	833.8	407.5	914.8	673.1	1346.9	1005.7
Total PCDFs	284.3	374.6	258.8	352.3	261.8	347.9	253.7	353.7	36.9	13.5
Total PCDDs / PCDFs	1298.7	866.0	1129.1	602.3	1095.6	561.5	1168.4	769.8	1383.9	1012.2
Total non- <i>ortho</i> PCBs	319.9	186.5	295.9	167.6	244.3	138.2	266.6	147.6	190.7	106.3
Total	1618.6	947.8	1425.0	703.4	1339.9	644.9	1435.0	837.1	1574.6	1047.6
PCDDs-TEQ	19.5	10.4	17.6	9.9	17.3	10.1	18.4	10.7	15.3	5.8
PCDFs-TEQ	104.6	137.9	95.8	131.1	98.3	131.3	94.8	131.2	10.0	3.8
PCDDs/PCDFs-TEQ	124.1	146.7	113.3	139.7	115.5	139.8	113.2	140.2	25.4	9.0
Non- <i>ortho</i> PCBs-TEQ	12.3	7.7	11.7	6.9	10.6	7.3	11.0	6.8	11.9	8.2
Total of TEQ	136.4	148.3	125.0	141.2	126.1	140.7	124.2	141.5	37.3	15.9
Lipid (%)	0.34	0.06	0.36	0.06	0.35	0.05	0.34	0.05	0.33	0.05
Age (years)	63.6	12.6	65.7	11.7	65.5	11.8	67.3	11.3	68.0	5.4

The participants of the medical check-up for Yusho during 2002 to 2005 were 371, 343, 316, and 351, for each year respectively

ND : less than the detection limit : S.D. : standard deviation : TEQ : toxic equivalents.



**Table 2** Concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho-suspected persons collected in 2002–2005

Congeners	Concentration (pg/g lipid)									
	Yusho-suspected persons								Normal controls	
	2002 (n=92)		2003 (n=74)		2004 (n=74)		2005 (n=114)		2005 (n=127)	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
2,3,7,8-TCDD	1.4	0.9	1.5	0.7	1.5	0.9	1.6	1.1	1.9	0.8
1,2,3,7,8-PeCDD	7.8	4.0	6.6	3.2	6.8	3.3	7.9	4.1	9.0	3.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.1	1.9	2.4	1.4	2.8	1.5	3.2	1.9	3.6	1.9
1,2,3,6,7,8-HxCDD	28.7	18.8	26.0	17.1	25.7	13.0	26.5	14.4	27.7	11.0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	5.4	3.9	3.6	2.1	4.2	2.0	4.8	2.7	4.5	2.8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	76.4	55.1	39.8	24.1	59.0	35.6	51.2	29.3	78.7	55.5
OCDD	908.9	560.1	796.2	589.2	849.9	535.8	856.4	568.3	1221.6	940.4
2,3,7,8-TCDF	1.0	0.8	1.0	0.6	1.0	0.6	1.8	2.8	1.0	0.7
1,2,3,7,8-PeCDF	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7	0.4	1.1	1.3	0.7	0.6
2,3,4,7,8-PeCDF	33.2	51.9	30.0	50.3	15.1	15.6	24.7	36.4	17.1	6.6
1,2,3,4,7,8-HxCDF	9.2	15.5	8.3	14.6	4.4	3.4	6.0	7.2	4.9	2.7
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.9	5.2	6.3	5.7	4.8	2.5	5.4	3.7	5.7	2.6
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.3	4.0	3.6	3.9	2.6	2.1	2.5	2.1	2.2	2.1
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
OCDF	ND		ND		ND		ND		ND	
3,4,4',5'-TCB (# 81)	5.4	1.6	5.2	0.9	5.1	0.8	5.9	4.1	5.6	2.3
3,3',4,4'-TCB (# 77)	10.6	6.7	7.8	4.2	11.3	7.2	15.1	27.6	8.4	4.8
3,3',4,4',5'-PeCB (# 126)	91.6	78.0	75.9	61.4	78.2	65.3	98.2	91.5	113.1	80.6
3,3',4,4',5,5'-HxCB (# 169)	83.1	68.2	74.0	58.7	49.7	34.3	70.2	82.3	63.7	27.0
Total PCDDs	1031.7	617.7	876.0	620.9	949.8	580.8	951.6	609.8	1346.9	1005.7
Total PCDFs	59.9	72.2	55.3	69.1	34.0	21.4	46.6	47.3	36.9	13.5
Total PCDDs / PCDFs	1091.6	643.9	931.3	652.8	983.8	588.7	998.2	625.2	1383.9	1012.2
Total non- <i>ortho</i> PCBs	190.8	136.8	162.9	113.6	144.4	96.9	189.3	156.0	190.7	106.3
Total	1282.4	732.4	1094.2	719.9	1128.2	646.2	1187.6	707.4	1574.6	1047.6
PCDDs-TEQ	13.8	6.9	11.7	5.4	12.2	5.6	13.6	6.8	15.3	5.8
PCDFs-TEQ	18.7	27.8	16.9	26.9	8.9	8.3	14.0	19.2	10.0	3.8
PCDDs/PCDFs-TEQ	32.5	31.3	28.6	30.2	21.1	12.0	27.5	23.5	25.4	9.0
Non- <i>ortho</i> PCBs-TEQ	10.0	41.9	8.3	6.6	8.3	6.8	10.5	9.5	11.9	8.2
Total TEQ	42.5	35.2	37.0	32.9	29.4	16.9	38.1	29.8	37.3	15.9
Lipid (%)	0.33	0.07	0.35	0.05	0.33	0.06	0.33	0.05	0.33	0.05
Age (years)	54.1	17.4	51.8	20.3	54.7	17.0	54.7	17.0	68.0	5.4

The participants of the medical check-up for Yusho during 2002 to 2005 were 371, 343, 316, and 351, for each year respectively

ND : less than the detection limit : S.D. : standard deviation : TEQ : toxic equivalents.

lipid for each year, respectively, and the concentrations were 3.7, 3.4, 3.4, and 3.3 times higher than those in the normal controls for each year, respectively (Table 1). In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 42.5, 37.0, 29.4, and 38.1 pg TEQ/g lipid, respectively, which were slightly higher than those of the normal controls (Table 2).

The TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho patients were 19.5, 104.6, and 12.3

pg TEQ/g lipid in 2002, respectively, 17.6, 95.8, and 11.7 pg TEQ/g lipid in 2003, respectively, 17.3, 98.3, and 10.6 pg TEQ/g lipid in 2004, respectively, and 18.4, 94.8, and 11.0 pg TEQ/g lipid in 2005, respectively (Table 1). In the case of Yusho-suspected persons, these concentrations were 13.8, 18.7, and 10.0 pg TEQ/g lipid in 2002, respectively, 11.7, 16.9, and 8.3 pg TEQ/g lipid in 2003, respectively, 12.2, 8.9, and 8.3 pg TEQ / g lipid in 2004, respectively, and 13.6, 14.0, and 10.5 pg TEQ / g lipid in 2005,

**Table 3** Concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho patients collected in 2002-2005

	Concentration				
	Yusho patients				Normal controls
	2002 (n=279)	2003 (n=269)	2004 (n=242)	2005 (n=237)	2005 (n=127)
Total of TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non- <i>ortho</i> PCBs (pg TEQ/g lipid)					
Maximum	1126.1	1176.6	980.3	1005.0	99.7
Minimum	7.0	5.5	5.6	8.7	12.3
Mean	136.4	125.0	126.1	124.2	37.3
S.D.	148.3	141.2	140.7	141.5	15.9
Concentration of PCDFs (pg TEQ/g lipid)					
Maximum	1029.4	1074.4	897.4	910.4	21.6
Minimum	2.1	1.8	2.0	2.1	3.5
Mean	104.6	95.8	98.3	94.8	10.0
S.D.	137.9	131.1	131.3	131.2	3.8
Concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF (pg /g lipid)					
Maximum	1889.7	1953.5	1641.5	1672.6	36.8
Minimum	3.1	2.6	2.9	3.2	6.0
Mean	192.0	176.2	181.8	175.1	17.1
S.D.	252.1	240.2	241.7	240.1	6.6

The participants of the medical check-up for Yusho during 2002 to 2005 were 371, 343, 316, and 351, for each year respectively

ND: less than the detection limit: S.D.: standard deviation: TEQ: toxic equivalents.

**Table 4** Concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of Yusho-suspected persons collected in 2002-2005

	Concentration				
	Yusho-suspected persons				Normal controls
	2002 (n=92)	2003 (n=74)	2004 (n=74)	2005 (n=114)	2005 (n=127)
Total of TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non- <i>ortho</i> PCBs (pg TEQ/g lipid)					
Maximum	178.0	188.5	93.5	175.7	99.7
Minimum	6.7	3.9	3.8	7.4	12.3
Mean	42.5	37.0	29.4	38.1	37.3
S.D.	35.2	32.9	16.9	29.8	15.9
Concentration of PCDFs (pg TEQ/g lipid)					
Maximum	145.2	150.9	69.9	136.2	21.6
Minimum	1.6	1.1	1.4	1.6	3.5
Mean	18.7	16.9	8.9	14.0	10.0
S.D.	27.8	26.9	8.3	19.2	3.8
Concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF (pg /g lipid)					
Maximum	262.7	272.4	131.9	259.5	36.8
Minimum	2.2	1.2	1.9	2.2	6.0
Mean	33.2	30.0	15.1	24.7	17.1
S.D.	51.9	50.3	15.6	36.4	6.6

The participants of the medical check-up for Yusho during 2002 to 2005 were 371, 343, 316, and 351, for each year respectively

ND: less than the detection limit: S.D.: standard deviation: TEQ: toxic equivalents.

**Table 5** Relative concentration ratios of the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs to the total concentrations

Isomers	Relative contribution ratio (%)								
	Yusho patients				Yusho-suspected persons				Normal controls
	2002	2003	2004	2005	2002	2003	2004	2005	2005
PCDDs	14.3	14.1	13.7	14.8	32.6	31.8	41.5	35.6	41.1
PCDFs	76.7	76.6	77.9	76.3	43.9	45.7	30.2	36.7	26.8
Non- <i>ortho</i> PCBs	9.0	9.3	8.4	8.9	23.5	22.5	28.3	27.6	32.0

respectively (Table 2). On the other hand, the TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of normal controls were 15.3, 10.0, and 11.9 pg TEQ / g lipid, respectively. The TEQ concentrations of PCDDs and non-*ortho* PCBs were nearly the same among Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls in 2002–2005. However, the PCDF levels of Yusho patients were significantly higher than those of Yusho-suspected persons and normal controls. The PCDFs concentrations of the Yusho patients in 2002–2005 were 10.5, 9.6, 9.8, and 9.5 times higher than those of normal controls for each year, respectively (Table 1), and those

of the Yusho-suspected persons were about 1.9, 1.7, 0.9, and 1.4 times higher than those of normal controls for each year, respectively (Table 2).

The relative contribution ratios of the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs to the total concentrations are shown in Table 5. The ratios of the PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs concentrations to the total concentrations of these dioxin-like compounds for normal controls were 41.1, 26.8, and 32.0%, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, the contribution ratios of these three concentrations were 32.6, 43.9, and 23.5% in 2002, respectively, 31.8, 45.7, and 22.5%

**Table 6** Concentrations of each congener for 138 Yusho patients in whom the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs were measured every year during 2002 to 2005

Congeners	Concentration (pg/g lipid)							
	2002		2003		2004		2005	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
2,3,7,8-TCDD	1.6	0.8	1.6	0.8	1.3	0.7	1.6	1.6
1,2,3,7,8-PeCDD	11.2	6.3	9.7	5.6	9.7	5.4	10.6	6.3
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.1	1.8	2.6	1.5	2.7	1.6	3.0	1.8
1,2,3,6,7,8-HxCDD	55.5	44.1	52.4	46.5	50.7	41.0	52.8	41.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	5.4	3.3	4.0	2.8	4.3	3.0	4.6	3.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	71.5	61.7	38.8	22.6	51.5	27.2	46.5	26.9
OCDD	949.9	871.7	769.8	407.9	745.1	388.7	772.3	434.4
2,3,7,8-TCDF	1.4	1.0	1.3	0.7	1.5	1.1	3.0	3.9
1,2,3,7,8-PeCDF	1.0	0.9	0.9	0.7	0.8	0.7	1.2	1.7
2,3,4,7,8-PeCDF	205.1	280.4	184.0	262.9	178.9	245.6	180.6	251.1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	59.9	102.7	55.4	100.5	49.1	85.9	49.5	87.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	22.3	29.6	21.2	31.0	18.1	23.9	18.7	25.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND		ND		ND		ND	
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND		ND		ND		ND	
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.2	3.8	3.0	2.7	2.8	2.7	2.8	2.5
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND		ND		ND		ND	
OCDF	ND		ND		ND		ND	
3,4,4',5'-TCB (# 81)	5.6	3.0	5.4	1.8	5.4	2.3	5.4	2.3
3,3',4,4'-TCB (# 77)	11.7	7.7	8.1	5.1	10.6	8.5	8.8	13.8
3,3',4,4',5'-PeCB (# 126)	103.3	71.1	91.7	57.5	88.7	60.1	93.8	60.8
3,3',4,4',5,5'-HxCB (# 169)	205.5	162.2	185.0	148.5	141.6	104.1	157.9	118.9
Total PCDDs	1098.3	930.7	878.8	433.2	865.3	423.2	891.5	465.7
Total PCDFs	298.5	410.3	271.2	392.9	256.6	353.4	261.0	365.6
Total PCDDs/PCDFs	1396.8	1003.7	1150.0	585.2	1121.9	555.4	1152.4	594.3
Total non- <i>ortho</i> PCBs	326.2	188.8	290.2	170.0	246.4	133.0	265.9	148.5
Total	1723.0	1079.7	1440.2	694.2	1368.3	634.7	1418.3	678.6
PCDDs-TEQ	20.1	11.0	17.7	10.4	17.4	9.7	18.8	10.9
PCDFs-TEQ	111.3	153.0	100.1	144.3	96.6	133.4	97.7	136.8
PCDDs/PCDFs-TEQ	131.4	162.5	117.8	153.5	114.0	141.7	116.5	145.9
Non- <i>ortho</i> PCBs-TEQ	12.4	7.5	11.0	6.2	10.3	6.3	11.0	6.5
Total of TEQ	143.7	163.8	128.9	154.9	124.3	142.4	127.5	147.1

ND : less than the detection limit : S.D. : standard deviation : TEQ : toxic equivalents.

in 2003, respectively, 41.5, 30.2, and 28.3% in 2004, respectively, and 35.6, 36.7, and 27.6% in 2005, respectively. Interestingly, the ratios of these concentrations in Yusho patients were 14.3, 76.7, and 9.0% in 2002, respectively, 14.1, 76.6, and 9.3% in 2003, respectively, 13.7, 77.9, and 8.4% in 2004, respectively, and 14.8, 76.3, and 8.9% in 2005, respectively. Yusho patients had the highest contribution ratio of PCDFs to total of TEQ concentration of these dioxin-like compounds. When the PCDFs ratio to the total of TEQ concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in Yusho-suspected persons was compared with that of Yusho patients and normal controls, it was at an intermediate level between that of Yusho patients and normal controls. However, the maximum concentrations of PCDFs in the Yusho-suspected persons group during 2002 to 2005 were 145.2, 150.9, 69.9, and 136.2 pg TEQ / g lipid for each year, respectively (Table 4). These findings indicated that some of the Yusho-suspected persons have a high PCDFs concentrations in their blood.

Among PCDFs congeners, the concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF showed particularly high concentration for Yusho patients compared with that of normal controls (Table 1). The concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF in the blood samples collected in 2002-2005 for Yusho patients were 192.0, 176.2, 181.8, and 175.1 pg / g lipid for each year, respectively. These levels were 11.2, 10.3, 10.6, and 10.2 times higher than those of normal controls for each year, respectively (Table 1). The maximum concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF in the Yusho patients group during 2002 to 2005 were 1889.7, 1953.5, 1641.5, and 1672.6 pg / g lipid for each year, respectively (Table 3). It is surprising that 2,3,4,7,8-PeCDF in one patient with

severe Yusho symptoms remains at a much higher concentration than normal controls even now. In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 1.9, 1.8, 0.9, and 1.4 times higher than those of normal controls for each year during 2002 to 2005, respectively (Table 2). However, the maximum concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF in the Yusho-suspected persons group during 2002 to 2005 were 262.7, 272.4, 131.9, and 259.5 pg / g lipid for each year, respectively, which suggested that some of the Yusho-suspected persons were in fact exposed to PCDFs (Table 4). From the results measured in this study, we reconfirmed that Yusho patients still have a much higher concentration of PCDFs in their blood than do unaffected persons and that some of the Yusho-suspected persons showed high PCDFs concentrations in their blood. We also reconfirmed that the concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF, which was the highest among the congeners of PCDFs, was about 10 times higher than that of the normal controls.

Among 279, 269, 242, and 237 Yusho patients who received medical check-up between 2002 and 2005, the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in the blood of 138 patients were measured for 4 consecutive years. The average PCDFs concentrations for the 138 Yusho patients in 2002-2005 were 111.3, 100.1, 96.6, and 97.7 pg TEQ / g lipid, respectively, and the concentrations did not significantly decrease during 2002 to 2005 (Table 6). The concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF among PCDFs congeners were 205.1, 184.0, 178.9, and 180.6 pg / g lipid in 2002-2005 for each year, respectively, and the concentrations remained unchanged from year to year (Table 6). These findings suggest that the PCDFs remained in the blood of Yusho



patients for a very long time, 37 years having passed since the outbreak of Yusho, have a very high persistency.

We measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in blood collected from 279, 269, 242, and 237 Yusho patients during medical check-up performed in 2002 to 2005, respectively, and 92, 74, 74, and 114 Yusho-suspected persons during those same years, respectively. Based on the results of this follow-up survey study, the concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF in the blood officially became part of the diagnostic criteria for Yusho exposure on September 29, 2004. As a result, of 74, 74, and 114 Yusho-suspected persons measured during 2003 to 2005, respectively, 18, 7, and 14 persons were officially registered as Yusho patients based on the "New Diagnostic Criteria," respectively. Because Yusho patients and Yusho-suspected persons have become older, it has become difficult to distinguish their age-related senile clinical symptoms from symptoms peculiar to Yusho disease. By continuing this follow-up survey in the future, some of Yusho-suspected persons will finally be registered as Yusho patients based on the new diagnostic criteria.

### Acknowledgment

This work was supported in part by a Grant-in-Aid for scientific research from the Ministry of Health Labour and Welfare, Japan.

### References

- 1) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura Y and Masuda Y: Yusho: a human disaster caused by PCBs and related compounds. Fukuoka: Kyushu University Press, 1996.
- 2) Iida T and Todaka T: Measurement of dioxins in human blood: improvement of analytical method. *Ind Health*. 41: 197-204, 2003.
- 3) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New protocol for dioxin analysis of human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 94: 148-57, 2003.
- 4) Iida T, Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Matsueda T, Hori T, Nakagawa R and Furue M: Follow-up survey of Dioxins in the blood of Yusho patients (in 2001). *Fukuoka Igaku Zasshi* 94 (5): 126-135, 2003. [in Japanese with an abstract in English]
- 5) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T: Improvement in dioxin analysis of human blood and their concentrations in blood of Yusho patients. *J. Dermatol. Sci.* 1: 21-28, 2005.
- 6) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T: Follow-up survey of dioxins concentrations in the blood of Yusho patients in 2002-2003. *Fukuoka Igaku Zasshi* 96 (5): 249-258, 2005.
- 7) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Iida T and Furue M: Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-*ortho* and mono-*ortho* polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. *Chemosphere* 66: 1983-1989, 2007.
- 8) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M: Overview of Yusho. *J. Dermatol. Sci.* 1: 3-10, 2005.
- 9) Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld AT, Brunstrom B, Cook P, Feeley M, Giesy JP, Hanberg A, Hasegawa R, Kennedy SW, Kubiak T, Larsen JC, Van Leeuwen FX, Liem AK, Nolt C, Peterson RE, Poellinger L, Safe S, Schrenk D, Tillitt D, Tysklind M, Younes M, Waern F and Zacharewski T: Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ. Health Perspect.* 106 (12): 775-792. 1998.

(Received for publication April 2, 2007)

(和文抄録)

## 平成 16 および 17 年度の油症検診における血液中ダイオキシン類濃度

<sup>1)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>2)</sup>福岡県保健環境研究所

戸高 尊<sup>1)</sup>, 平川博仙<sup>2)</sup>, 梶原淳睦<sup>2)</sup>, 堀 就英<sup>2)</sup>,

飛石和大<sup>2)</sup>, 小野塚大介<sup>2)</sup>, 飯田隆雄<sup>2)</sup>, 吉村健清<sup>2)</sup>, 古江増隆<sup>1)</sup>

平成 16 年度に日本在住の 242 名の油症患者と 74 名の未認定者および平成 17 年度に日本在住の 237 名の油症患者と 114 名の未認定者から採取した血液中の PCDDs, PCDFs, および non-ortho PCBs 濃度を測定し, 平成 15 年度に測定した一般健常人の結果と比較した. 平成 16 および 17 年度に受診した油症患者の血液中 PCDDs, PCDFs, および non-ortho PCBs の総 toxic equivalents (TEQ) 濃度は, それぞれ 126.1 および 124.2 pg TEQ / g lipid で, その濃度は一般健常人のそれぞれ 3.4 倍および 3.3 倍であった. 未認定者の場合, 総 TEQ 濃度は, それぞれ一般健常人の 0.8 倍および 1.0 倍であった. 油症患者の血液中 PCDDs および non-ortho PCBs 濃度は, ほぼ健常人と同レベルなのに対し, PCDFs 濃度は一般健常人のそれぞれ 9.8 倍 (平成 16 年) および 9.5 倍 (平成 17 年) 高い値を示した. 油症患者の血液中 PCDFs 異性体間で特に高濃度を示す 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF) は, 健常人のそれぞれ 10.6 倍 (平成 16 年) および 10.2 倍 (平成 17 年) 高い値を示した. 未認定者の 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は, 健常人のそれぞれ 0.9 倍および 1.4 倍であった. しかしながら, 未認定者の中には一般健常人と比較して異常に高い 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を示す人が数名認められた. これまでに行った追跡調査の結果を基に, 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を追補した新しい診断基準が平成 16 年 9 月 29 日に策定され, 平成 16 年度に受診した 74 名の未認定者のうち 7 名が, 平成 17 年度も 114 名の未認定者のうち 14 名が新たに油症認定者と診断された.

## 2005年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析

<sup>1)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup> 北九州生活科学センター

芦塚由紀<sup>1)</sup>, 中川礼子<sup>1)</sup>, 平川博仙<sup>1)</sup>, 堀 就英<sup>1)</sup>,  
梶原淳睦<sup>1)</sup>, 飯田隆雄<sup>2)</sup>, 吉村健清<sup>1)</sup>

### Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Diagnosis in 2005

Yuki ASHIZUKA<sup>1)</sup>, Reiko NAKAGAWA<sup>1)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>1)</sup>, Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>,  
Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Takao IIDA<sup>2)</sup> and Takesumi YOSHIMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39,  
Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka 818-0135*

<sup>2)</sup> *Kitakyushu Life Science Center, 1-4, Nakabarushinmachi,  
Tobata-ku, Kitakyushu-shi, Fukuoka 804-0003*

**Abstract** The polychlorinated quaterphenyl (PCQ) concentrations in the blood are important discriminative parameters in Yusho patients. The blood samples of 81 persons were analyzed for PCQ in the 2005 annual inspection for Kanemi rice oil poisoning. PCQ was detected in 28 blood samples (ranging from 0.02 to 4.05ppb). The means of PCQ concentration in the blood were 1.80 ppb (0.33-4.05ppb) in pattern A, 0.71ppb (<0.02-2.26ppb) in pattern B, 0.03ppb (<0.02-0.14ppb) in pattern BC and 0.02ppb (<0.02-0.45ppb) in pattern C, respectively. PCQ was still present at high concentration in the blood of patterns A and B. Since PCQ concentration is a useful diagnostic criteria, it is important to follow up on this survey of blood PCQ levels.

### はじめに

ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)は、PCDFと同様にPCBを熱媒体として加熱使用中に生成し、油症患者が摂取したライスオイル中に混入したと考えられている物質である<sup>1)2)</sup>。PCQは健常者の血液中ではほとんど検出されていないが(平均で0.02 ppb以下)<sup>3)</sup>、油症患者の血液には健常者に見られないレベルのPCQが検出されている<sup>4)</sup>。そのためPCQ濃度は1981年に油症の診断基準に追加され、現在も油症に特徴的かつ有用な基準の一つとなっている。その基準では、血中PCQ濃度は0.1 ppb以上が「異常に高い濃度」とされ、0.02 ppb以下が「通常みられる濃度」、0.03~0.09 ppbが「境界領域濃度」とされている。

PCQの分析法は前田ら<sup>5)</sup>により、完全塩素化物である18塩化クアテルフェニル(ODCQ)として電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(ECD/GC)で定量する方法として確立され、飯田ら<sup>6)</sup>によりキャピラリーカラムを用いた高感度な分析法が開発された。

最近では、新しい診断基準としてPCDF濃度が追加されたことにより、受診者の増加傾向が見られている。PCQの検査数も大幅に増加していることから、より効率的に精度良く分析を行う必要が生じている。我々は前報<sup>7)</sup>で、分析の小スケール化を行うことによって、分析操作を簡易化及び迅速化した方法を報告した。今回は、その方法を用いて行った2005年度油症一斉検診におけるPCQの分析結果について報告する。

### 材料及び実験方法

#### 1. 血液試料

2005年度油症一斉検診で、81名(認定患者26名、未認定者55名)の受診者血液についてPCQの分析を行った。分析の精度を確認するための添加回収試験(n=3)には、PCQの検出されていない健常者1名の血液を使用した。

#### 2. 標準液

PCQ標準液(10 ng/ml)を完全塩素化してPCQ濃度で5 ng/mlに相当するODCQ標準溶液を

調製した。この標準溶液を希釈し、0.2~2 ng/ml の検量線溶液を調製した。

### 3. 試薬・試液

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

### 4. 使用機器

ガスクロマトグラフ ECD: Hewlett-Packard 社 HP5890A (<sup>63</sup>Ni-ECD)

### 5. 測定条件

キャピラリーカラムカラム: Quadrex 社製 007-65HT (長さ 25 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.1 μm), カラムヘッド圧: 25 psi, 注入口温度: 300°C, 注入方法: スプリットレス, カラム温度: 80°C で 5 分間保持した後, 320°C まで 1 分間に 30°C の割合で昇温後 45 分間保持, 注入量: 4 μl, 検出器温度: 350°C

### 6. 分析方法

血液試料をよく混和し、約 2 g を 10 ml の丸底遠心管に正確に秤量した。1.5 N の水酸化カリウム / エタノールを 3.5 ml 加えてよく混合した後、90°C で 1 時間還流させた。放冷後、ヘキサンを 2 ml 加えて振とう抽出した。2000 rpm で 5 分間遠心分離した後、ヘキサン層を別の 10 ml スピッチに移した。再度ヘキサン 2 ml を加え、振とう抽出を行い先のヘキサン層と合わせた。ヘキサン層に精製水 3 ml を加えて水洗した後、無水硫酸ナトリウム (1.5 g) を充填したパスツールピペットに流し込み、7 ml のヘキサンで溶出させた。ヘキサン溶液を窒素ガスで約 1 ml に濃縮し、パスツールにフロリジル 0.5 g (130°C で 3 時間活性化させたも

の)、無水硫酸ナトリウム 0.2 g を積層させたカラムに負荷し、5%ジエチルエーテル / ヘキサン 7 ml で溶出させた。窒素ガスで濃縮乾固し、ヘキサン 2 ml を加えた。10%発煙硫酸 1 ml を加えて、攪拌し、2000 rpm, 5 min で遠心分離を行った後、硫酸層を捨てた。この操作を硫酸層が透明になるまで繰り返した。ヘキサン層をガラス製反応管に移し、0.5 ml ヘキサンで 3 回洗い込んだ後、窒素ガスで乾固させた。さらに 30 分以上減圧デシケーターに入れて完全に溶媒を留去させた。5 塩化アンチモンを 0.5 ml 加えて封管した後、200°C で 3 時間加熱し完全塩素化した。反応終了後、冷却し、開管した反応管にクロロホルム 2 ml を加えて、振とうした。次に 20%塩酸を 0.5 ml 加えて十分に振とうした後水冷し、さらに 20%塩酸 2 ml を加えて振とうした。1000 rpm で 5 分遠心分離した後、上層を捨て、同様に 20%塩酸 2 ml で 2 回洗浄した。続いて、蒸留水 2 ml, 5%酒石酸 2 ml, 5%炭酸水素ナトリウム 2 ml, 蒸留水 2 ml の順番で洗浄を行った。無水硫酸ナトリウム (1.5 g) を充填したパスツールピペットに、クロロホルム層を流し込み、5 ml のクロロホルムで溶出させた。窒素ガスで濃縮を行い、完全にクロロホルムを留去した後、ヘキサン 0.5 ml に溶解させた。次にパスツールピペットにアルミナ 0.25 g (130°C で 3 時間活性化後、精製水を 2% 加えてよく混合したもの) と無水硫酸ナトリウム 0.2 g を積層したカラムに試料液を負荷し、2%ジクロロメタン / ヘキサン 6 ml で溶出させた。先細スピッチにとり、窒素ガスで濃縮を行い、完全に溶媒を留去させた。ヘキサン 0.2 ml を加えて最終検液とした。試料は ECD/GC に 4 μl 注入し、分析を行った。

### 7. 添加回収試験

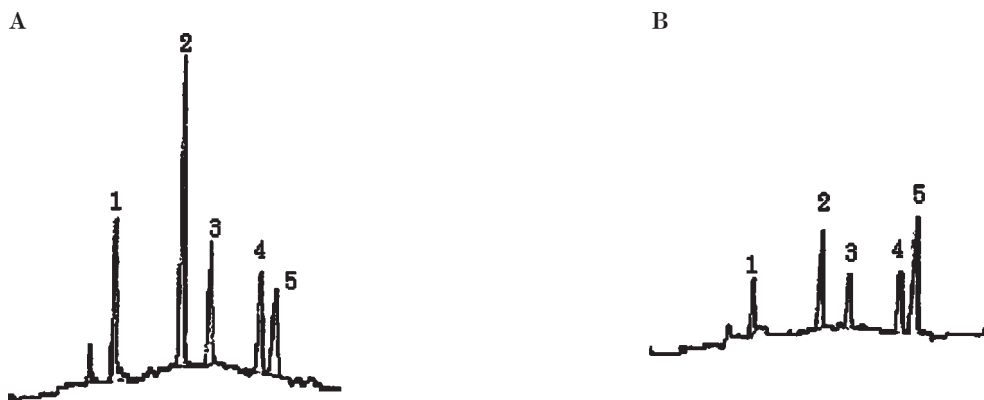
PCQ の検出されていない健常者の血液 2 g に PCQ 標準溶液 10 ng/ml を 40 μl ずつ (血液試料 1 g 当たり 0.2 ng) 添加した。6 に示す分析方法を用いて n = 3 で添加回収試験を行った。

## 結果及び考察

### 1. 血液中 PCQ 分析における添加回収試験

血液中 PCQ 分析において、分析に用いる血液量の少量化及び分析の簡易化を検討し、前報で報告した。受診者の血液中 PCQ 分析を始める前に、





**Fig. 1** The ECD / GC chromatograms of six skeletal types of perchlorinated PCQ congeners (ODCQ)  
 Peak1 : 2,2'-ODCQ, Peak2 : 2,3'-ODCQ, Peak3 : 2,4'-ODCQ, Peak4 : 4,4'ODCQ, 3,3'-ODCQ, Peak5 : 3,4'-ODCQ  
 A : PCQ standard (2ppb), B : Sample (Yusho patient)

分析の精度を確認するため、健常者の血液を用いて添加回収試験 (n=3) を行った。その結果、回収率は平均 98.5% (90.0~109.2%) で、RSD が 10.0% と良好な結果が得られた。油症診断では検出下限値として 0.02 ppb を達成することが必要である。今回の ECD/GC における検出下限値は 0.2 ppb (血液試料中で 0.02 ppb の検出下限値) であり、良好な感度を得られ、検量線は良好な直線性が得られた。Fig. 1 に 2 ng / ml 標準溶液及びサンプル (受診者 1 名) の ECD / GC クロマトグラムを示す。

添加回収試験における回収率及び分析機器 (ECD / GC) における検出感度が良好であることを確認した後、実試料の分析を開始した。ポジティブコントロールとして患者 1 名の血液を分析した結果は 4.05 ppb であり、前年度の 4.15 ppb と近い値であった。

## 2. 2005 年度油症一斉検診における PCQ 分析の結果

2005 年度油症一斉検診受診者で 81 名 (認定患者 26 名, 未認定者 55 名) の血液について PCQ 検査を実施した。その中で PCQ が検出されたのは 28 名で、濃度は 0.02 ppb~4.05 ppb であった。認定患者 (n=26) の血液中 PCQ 濃度の平均値は 0.88 ppb で、未認定者 (n=55) の平均値は 0.02 ppb 以下であった (Table 1)。

Fig. 2 は PCB のパターン別 (A, B, BC, C パターン) に 81 名の血液中 PCQ の濃度を示したも

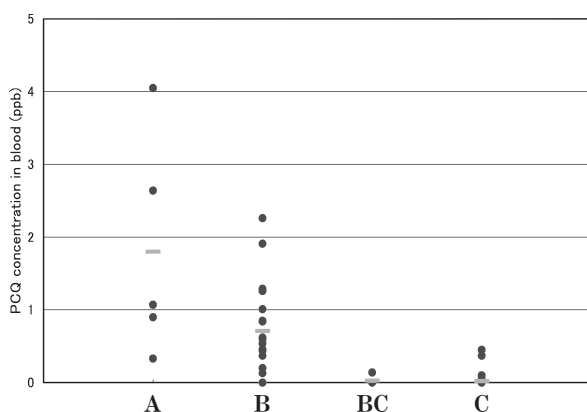
のである。PCQ 濃度の平均値は A パターンが 1.80 ppb (0.33-4.05 ppb), B パターンが 0.71 ppb (<0.02-2.26 ppb), BC パターンが 0.03 ppb (<0.02-0.14 ppb), C パターンが 0.02 ppb (<0.02-0.45 ppb) であった。A パターン及び B パターンの平均値は BC パターン, C パターンと比べて極めて高い値であった。PCQ の測定が始められた時期である 1979 年の油症検診受診者の PCQ 分析結果<sup>3)</sup> では、A パターン及び B パターンの平均値はそれぞれ 2.9 ppb (0.6-10 ppb), 2.0 ppb (0.02-7.1 ppb) であった。これと比較すると現在の油症患者中 PCQ 濃度レベルはその 3 分の 2 から 3 分の 1 程度であると考えられた。

Table 2 は 81 名の結果を血液中 PCQ 濃度及び PCB パターン別に人数を示した表である。典型的な油症患者の PCB パターンである A パターンでは 5 名全員が診断基準で定められている 0.1 ppb 以上の「異常に高い濃度」であり、その中でも 3 名は PCQ 濃度が 1 ppb 以上の極めて高い濃度であった。油症患者と健常者の中間である B パターンでは 18 名中 15 名が 0.1 ppb 以上の濃度で、1 ppb 以上の濃度は 5 名であった。A パターンと B パターンのほとんどは、現在も PCQ が 0.1 以上の高い濃度を示していることがわかった。一方、BC パターンの 5 名中 4 名, C パターンの 53 名中 46 名は PCQ が検出されなかった。血液中の PCQ 濃度レベルは PCB のパターン判定結果と大部分が相関していると思われたが、一方、PCB のパターンが B パターンであっても PCQ 濃度がく



**Table 1** Levels of PCQ in the blood of Yusho-patients and Yusho-suspected persons in the 2005 annual inspection

	Concentration (ppb)	
	Yusho-patients (n=26)	Yusho-suspected persons (n=55)
Mean	0.88	<0.02
Minimum	<0.02	<0.02
Maximum	4.05	0.05

**Fig. 2** The blood PCQ levels of subjects classified to each PCQ pattern in the 2006 annual inspection; bars indicate the means of concentrations.**Table 2** Number of subjects classified to each PCB pattern and PCQ levels in the 2005 annual inspection

PCQ concentration (ppb)	PCB Pattern			
	A	B	BC	C
1<	3	5	0	0
0.1-1	2	10	0	3
0.02-0.1	0	0	1	4
<0.02	0	3	4	46
Total	5	18	5	53

0.02 ppb という例が 3 例、逆に健常者と見分けができない C パターンの人で PCQ が 0.1 ppb 以上の高い濃度を示す例が 3 例見られた。また、診断基準における境界領域濃度の 0.03~0.1 ppb を示すケースは BC パターンで 1 名、C パターンで 3 名であった。

### 総 括

2005 年度油症一斉検診受診者 81 名の血液における PCQ 濃度を分析した結果、28 名の血液から PCQ が検出された。典型的な油症患者の PCB 濃度パターンである A パターンと油症患者と健常者の中間である B パターンのほとんどは、現在も PCQ が 0.1 ppb 以上の高い濃度を示していた。

油症患者の PCQ 濃度は、1979 年のデータと比較すると 3 分の 2 から 3 分の 1 程度に減少していたが、30 年以上経過した現在もまだ体内に高濃度に残留しており、血液中 PCQ 濃度は、PCB、PCDF 濃度とともに油症診断基準として重要な所見であると考えられる。一方、PCB のパターンが B パターンであっても PCQ が検出されない例や、逆に健常者と見分けができない C パターンの人で PCQ が 0.1 ppb 以上の高濃度で検出された例も見られた。また、診断基準における 0.03~0.1 ppb の境界領域濃度を示すケースは BC パターンで 1 名、C パターンで 3 名であった。臨床的な症状や PCB、PCDF 濃度との関連性などについての知見を得るためにも、今後も PCQ 濃度について継続的な追跡調査を行っていくことが重要であると考えられる。

### 謝 辞

本研究は平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金に負うものである。ここに記して謝意を表します。

### 参 考 文 献

- 1) 飯田隆雄, 深町和美, 高橋克巳, 増田義人: 油症原因油および油症患者血液中の PCB, PCQ および PCT, 福岡医誌 76:126-131, 1985.
- 2) 増田義人, 倉恒匡徳: 油症を起こしたライスオイル中の毒性物質, 福岡医誌 70:229-237, 1979.
- 3) 飯田隆雄, 竹中重幸, 中川礼子, 深町和美, 高橋克巳, 旭 正一: 正常者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル濃度, 福岡医誌 78, 305-308, 1987.
- 4) Kashimoto T, Miyata H and Kunita N: The presence of polychlorinated quaterphenyls in the tissues of Yusho victims. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 19: 335-340, 1981.
- 5) 前田浩一郎, 榎本 隆: 大阪府立公衆衛生研究所報告 食品衛生編, 9, 89, 1978.
- 6) 飯田隆雄, 深町和美, 竹中重幸, 中川礼子, 高橋克巳: ポリ塩化クアテルフェニルのキャピラリーガスクロマトグラフィーによる定量, 分析化学 37:230-235, 1988.
- 7) 芦塚由紀, 中川礼子, 平川博仙, 堀 就英, 飯田隆雄: 油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析, 福岡医誌 96:227-231, 2005.

(受付 2007-4-2)

## 2,2',4,5,5'-五塩素化ビフェニル (CB101) のラット, ハムスターおよび モルモット肝ミクロゾームによる代謝

<sup>1)</sup> 中村学園大学栄養科学部 食品衛生学研究室

<sup>2)</sup> 第一薬科大学 健康化学教室

<sup>3)</sup> 徳島文理大学香川薬学部 薬物動態学講座

<sup>4)</sup> 北海道医療大学薬学部 衛生薬学講座

太田千穂<sup>1)</sup>, 杵岡樹子<sup>1)</sup>, 原口浩一<sup>2)</sup>, 加藤善久<sup>3)</sup>,  
遠藤哲也<sup>4)</sup>, 古賀信幸<sup>1)\*</sup>

### Metabolism of 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl (CB101) by Liver Microsomes of Rats, Hamsters and Guinea Pigs

Chiho OHTA<sup>1)</sup>, Mikiko MATSUOKA<sup>1)</sup>, Koichi HARAGUCHI<sup>2)</sup>, Yoshihisa KATO<sup>3)</sup>,  
Tetsuya ENDO<sup>4)</sup> and Nobuyuki KOGA<sup>1)</sup>

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

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

<sup>3)</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences at Kagawa Campus, Tokushima  
Bunri University, 1314-1, Shido, Sanuki, Kagawa 769-2193

<sup>4)</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of  
Hokkaido, 1757, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293

**Abstract** Our previous studies have shown that six metabolites, namely 3-hydroxy (OH)-, 3'-OH-, 4'-OH-, 3',4'-dihydroxy (diOH)-, 3'-methylsulfone (CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>)- and 4'-CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101), were found in the serum and liver of rats, hamsters and guinea pigs 4 days after administration of CB101. In this study, the in vitro metabolism of CB101 was studied using liver microsomes of rats, hamsters and guinea pigs, and the effect of cytochrome P450 inducers, phenobarbital (PB) and 3-methylcholanthrene (MC) on CB101 metabolism was also compared. 3-OH-, 3'-OH-, 4'-OH- and 3',4'-diOH-CB101 were formed by liver microsomes of rats, hamsters and guinea pigs except that 3-OH-CB101 was not formed by hamster liver microsomes. In untreated animals, both 3'-OH- and 4'-OH-CB101 were major metabolites. By treatment of PB, 3'-OH-CB101 was increased remarkably to 140-fold of untreated in rats and to 79-fold of untreated in hamsters, and was also increased slightly to 4-fold of untreated in guinea pigs. Moreover, PB-treatment showed a significant increase of 3', 4'-diOH-CB101 in rats and hamsters. In contrast, MC-treatment increased 4'-OH-CB101 to 2.0-, 9.6- and 3.4-fold of untreated animals in rats, hamsters and guinea pigs, respectively. In all animal species, the formation of 3',4'-diOH-CB101 from 3'-OH- and 4'-OH-CB101 proceeded at much higher rate than that from CB101 and was accelerated by PB-treatment. Only in hamster, MC-treatment decreased 3',4'-diOH-CB101 from 3'-OH- and 4'-OH-CB101 to less than 50% of untreated. Addition of 5 mM reduced glutathione suppressed the formation of 4'-OH-CB101 to 43% of control by liver microsomes of MC-treated hamsters, suggesting that 4'-OH-CB101 can be formed mainly via 3',4'-epoxide from CB101. These results indicate that the metabolism of CB101 to 3',4'-diOH-CB101 is principally catalyzed by CYP2B enzymes, which prefer 4'-OH- and 3'-OH-CB101 to CB101.

Address for Correspondence: Nobuyuki KOGA  
Faculty of Nutritional Sciences, Nakamura Gakuen University, 5-7-1, Befu Johnan-ku, Fukuoka 814-0198, Japan  
Tel: +81-92-851-5415, Fax: +81-92-841-7762  
E-mail: nobuyuki@nakamura-u.ac.jp

## はじめに

2,2',4,4',5,5'-Pentachlorobiphenyl (pentaCB) (CB101) は, Clophen<sup>4)</sup> や Kanechlor<sup>13)30)</sup> など PCB 混合物の主要構成成分の 1 つであるが, しばしば環境中や動物体内に検出されている<sup>4)31)</sup>. また, 2,4,5-三塩素置換ベンゼン環を有する非平面構造の di-ortho-PCB でもある. 一般に, PCB は置換塩素数が 4 個以下では, 肝 cytochrome P450 (P450) により, 代謝されて容易に体外に排泄されるが, 置換塩素数が 5 個以上のものになると非常に代謝されにくくなる. 特に, 2,4,5-三塩素置換ベンゼン環を有する PCB の 2,3',4,4',5-pentaCB (CB118), 2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (CB138), 2,2',4,4',5,5'-hexaCB (CB153) および 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (heptaCB) (CB180) は, 野生動物やヒトの肝, 脂肪組織および血液などへの残留性が非常に高いことが知られている<sup>7)10)11)15)36)</sup>. しかし, 置換塩素数が 5 個以上でも, CB101 のように meta-para 位に隣接する水素を持つものは, 比較的容易に水酸化され, 体外に排泄される.

1976 年, Chen らは<sup>14)C</sup> 標識 CB101 を 0.6 mg/kg の投与量で雄性ラットに静脈注射したところ, 投与した放射活性の 84% が 7 日以内に糞中に排泄されること, また糞中の放射活性はいずれも代謝物であり主代謝物として 3'-水酸化 (OH) 体が, さらに微量代謝物として 3',4'-二水酸化 (diOH) 体が排泄されることを報告した<sup>6)</sup>. 最近, Haraguchi らは, ラットに CB101 を投与したところ, 3-OH 体, 3'-OH 体, 4'-OH 体, 3',4'-diOH 体と 2 種類のメチルスルホン体 (3'-および 4'-CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-CB101) が肝および血中から検出されること, 3'-OH 体と 3'-および 4'-CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>体が主代謝物であり肝に多いこと, さらに 3',4'-diOH 体はラット血中に多いことを報告した<sup>12)</sup>. さらに, ラット以外にマウス, ハムスターおよびモルモットでも同様な検討を加え, その結果, マウスは代謝パターンがラットと非常によく似ていること, モルモット肝では 3-OH 体が最も多く 3'-OH 体がそれに続くこと, ハムスター血中では 3',4'-diOH 体が動物中で最も多く検出されるが, 肝および血中の CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>体は動物中で最も少ないことを明らか

にした<sup>14)</sup>.

一方, CB101 およびその代謝物の生理作用に関しても, 最近, いくつかの報告がなされている. Kato らは, CB101 を投与したラットとマウスで血中甲状腺ホルモン量が低下すること, さらに, これらの減少が CB101 の CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>体ではなく, CB101 未変化体によって惹起されていることを報告した<sup>19)</sup>. また, 3'-CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-CB101 が phenobarbital (PB) と類似した肝薬物代謝酵素の強い誘導能を有すること<sup>18)</sup>, 一方, 4'-CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>-CB101 が抗エストロゲン作用を有すること<sup>27)</sup>, さらに 3',4'-diOH-CB101 がエストロゲン様作用を有すること<sup>8)9)</sup> なども報告されている.

ところで, CB101 の CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>体の生成経路であるが, まず P450 による酸化, すなわち 3',4'-epoxide 中間体の生成を経て, グルタチオン (GSH) 抱合反応, グリシンとグルタミン酸の脱離, C-S 結合の開裂, さらに S-メチル化反応および S-酸化反応により生成されることが考えられている<sup>3)</sup>. 一方, 3',4'-diOH 体などの catechol 体は, P450 により直接水酸化された, あるいは 3',4'-epoxide を経由して生成された OH 体が, さらに水酸化されて生成されることが考えられる. しかしながら, PCB の OH 体から diOH 体への酸化反応に関する報告はほとんどない<sup>22)</sup>. そこで, 本研究では CB101 から 3',4'-diOH 体への代謝経路を明らかにするため, ラット, モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム (Ms) を用いて CB101 の in vitro 代謝を調べた. また, 代謝に関与する P450 分子種を明らかにするため, 代表的な P450 誘導剤として知られている PB および 3-methylcholanthrene (MC) で前処理した動物でも同様に検討した.

## 実験方法

### 1. 実験材料

#### (1) CB101 の合成

CB101 は Cadogan の方法で合成した<sup>5)</sup>. すなわち, 2,4,5-trichloroaniline (1.0 g) と 2,5-dichlorobenzene (1.2 g) を tetrachloroethylene (10 ml) で溶解し, isopentyl nitrite (0.5 ml) を加え, 110°C で, 24 時間反応した. 反応終了後, 約 130°C で加温して tetrachloroethylene と低沸点物を除去した. 残留物は, アルミナカラム (アルミナ 100 g,

Merck)および分取用 TLC で精製した後, HPLC に付した. HPLC 条件は次の通りである. カラム, YMC-Pack ODS (250×20 mm i.d., 5  $\mu$ m, YMC 製); 移動相, 100% methanol; 流速, 4 ml/min; 検出波長, 254 nm. なお, CB101 の純度を電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (GC-ECD) により調べた結果, 最終的に 99.0% 以上であった.

## (2) 代謝物の合成

3-Methoxy (MeO)-CB101 および 4-MeO-2,2',3,5',6-pentaCB (CB92) の合成は, 2,3,6-trichloroanisole および 2,5-dichloroaniline を用いて Cadogan の方法で合成した<sup>9)</sup>. 反応液は, 前述の CB101 合成の場合と同様に, シリカゲル 60 カラムおよび HPLC により精製した.

3'-OH-CB101 は, 6 匹の Wistar 系雄性ラット糞中から精製した. すなわち, ラットに 3 日間 PB で前処理後, CB101 (20 mg/kg) を 1 回腹腔内投与した. 投与後 6 日間の糞をすべて回収し, 乾燥粉碎後, chloroform で抽出した. 抽出液中の代謝物は, シリカゲル 60 カラム (120 g, Merck) および再度シリカゲル 60 カラム (80 g) にかけて後, HPLC により精製を行った. 最終的に収量は約 10 mg であった. なお, メチル化は, diazomethane により行った.

4'-OH-CB101 の合成は, 2,4,5-trichloroaniline および 2,5-dichlorophenol を用いて Hutzinger らの方法で行った<sup>10)</sup>. 反応液は, 3'-OH 体合成の場合と同様に, シリカゲル 60 カラム (シリカゲル 120 g および 80 g) に 2 回かけて部分精製をし, 最終的に HPLC により精製した. なお, メチル化は, diazomethane により行った.

3',4'-dimethoxy (diMeO)-CB101 の合成は, Haraguchi らの方法で行った<sup>12)</sup>. すなわち, 2,4,5-trichloroaniline と veratrole のカップリング反応により得られた 2,3-および 3,4-diMeO-2,4,5-trichlorobiphenyl の混合物から, アルミナカラム (Activity grade II, Merck) により, 2,4,5-trichlorobiphenyl-3,4-veratrole を分離し, 次に, これを 0.1 M potassium chlorate (KClO<sub>3</sub>) とともに, 15 分間, 室温で塩素化を行い, 中間代謝物として veratrole 環に二塩素置換された 3 つの異性体の混合物を得た. これらを HPLC で分離精製した. HPLC の分析条件は次の通りである.

カラム, Mightysil (250×20 mm i.d., 5  $\mu$ m 粒径, 関東化学製); 移動相, 100% acetonitrile あるいは acetonitrile-H<sub>2</sub>O (9:1); 流速, 4 ml/min; 検出波長, 254 nm. なお, GC-ECD による純度は 99.0% 以上であった.

## (3) 動物肝 Ms の調製

Wistar 系雄性ラット (体重約 200 g), Golden Syrian 系雄性ハムスター (体重約 90 g) および Hartley 系雄性モルモット (体重約 300 g) を 1 群 4 匹として, 未処理群, PB および MC 前処理群の 3 群に分けた. PB-Na 塩は生理食塩水に溶解し, 80 mg/kg/day の用量で, MC はコーン油に溶解し, 20 mg/kg/day の用量で 3 日間腹腔内に投与した. 実験動物は, 最終投与日の翌日に屠殺して, 肝を摘出し, 常法により肝 Ms を調製した.

## 2. 肝 Ms による代謝

動物肝 Ms による CB101 の代謝は既報<sup>32)</sup> に準じて行った. すなわち, 40  $\mu$ M CB101 あるいはその OH 代謝物 (3'-および 4'-OH 体) を NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase 1.0 unit), 6 mM MgCl<sub>2</sub> および動物肝 Ms (1 mg protein) を 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) とともに合計 1 ml として, 37°C で 10 ~ 20 min インキュベート後, 代謝物を chloroform-methanol (2:1) 1 ml と n-hexane 3 ml で 3 回ずつ抽出した. 抽出液は diazomethane でメチル化後, GC-ECD または質量分析計付 GC (GC-MS) に付した. 代謝物の定量は, CB101 の検量線を用いて行った.

GC-ECD の条件は次の通りである. 分析機器, ECD 付 HP 5890 Series II ガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard 製); カラム, DB-1 fused silica capillary column (30 m×0.25 mm i.d., 0.25  $\mu$ m 膜厚, J&W Scientific 製); オープン温度, 230°C; 注入口温度, 250°C; 検出器温度, 250°C; キャリアーガス, N<sub>2</sub> (1 ml/min).

一方, 代謝物の分子量は GCMS-QP2010 (オートサンプラー-AOC-20 s およびオートインジェクター-AOC-20 i 付, 島津製作所製) を用いて, EI モードで測定した. 分析条件は次の通りである. カラム, DB-1 fused silica capillary column (30 m×0.25 mm i.d., 0.25  $\mu$ m 膜厚, J&W Scientific



製)；オープン温度，70°C (1.5 min) - 20°C/min - 230°C (0.5 min) - 4°C/min - 280°C (5 min)；注入口温度，250°C；検出器温度，230°C；キャリアーガス，He (1 ml/min)。

### 3. その他

肝 Ms のタンパク質の定量は，Lowry らの方法<sup>28)</sup>に従って行った。なお，標準タンパク質としてウシ血清アルブミンを用いた。

## 実験結果

### 1. 動物肝 Ms による CB101 の代謝

ラット，ハムスターおよびモルモット肝 Ms による CB101 の代謝を調べた。また，代謝に及ぼす P450 誘導剤の影響も調べた。Fig. 1 には，ラット肝 Ms により生成された CB101 代謝物のガスクロマトグラムを示す。未処理および MC 処理肝 Ms では 3 本の代謝物ピーク，すなわち M-1 (保持時間 11.27 min)，M-2 (13.25 min) および M-3 (13.75 min) が，また PB 前処理肝 Ms でも 3 本の代謝物ピーク，すなわち M-1，M-2 および M-4 (15.00 min) が検出された。

次に，ラット，ハムスターおよびモルモット肝 Ms による CB101 代謝物の定量結果を Table 1 に示す。代謝物の定量は CB101 未変化体の検量線を用いた。まず，未処理ラット肝 Ms では M-2 と M-3 が同程度生成され，いずれも 3 pmol/min/mg protein 前後であった。また，M-1 が痕跡程度検出された。ところが，PB 処理ラット肝 Ms では M-2 の生成活性が顕著で未処理の 140 倍もの高

さであった。さらに M-1 が 3.3 pmol/min/mg protein で生成されるとともに，未処理 Ms で生成されなかった M-4 が新たに 24.2 pmol/min/mg protein で生成された。一方，MC 処理ラット肝 Ms では，M-3 が最も多く生成されたが，未処理 Ms の 2 倍にすぎなかった。また，M-1 と M-2 も生成されたが，いずれも 3 pmol/min/mg protein 以下と低かった。

ハムスター肝 Ms でも，未処理では M-2 と M-3 が生成されたが，ラットより少なかった。ところが，PB 処理により，M-2 が未処理の 79 倍に，M-3 は約 2 倍に，さらに新たに M-4 が 4.2 pmol/min/mg protein で生成された。MC 処理では，M-2 と M-3 がいずれも未処理の 10 倍に増加したが，M-3 の増加はハムスターで特徴的でありラットの約 4 倍の高さであった。また，M-4 は PB 処理の 25% 程度と低かった。なお，M-1 はいずれのハムスター肝 Ms でも全く生成されなかった。

さらに，モルモット肝 Ms では，未処理において M-2 と M-3 がラットやハムスターと同程度生成された。M-2 は PB 処理で未処理の 3.8 倍に，また M-3 は MC 処理で 3.4 倍に増加したが，全体的に PB および MC 処理の影響はかなり少なかった。なお，M-1 と M-4 は PB および MC 処理 Ms で生成されたが，活性はいずれも 0.5~2 pmol/min/mg protein 程度であった。

### 2. 代謝物の化学構造

前述の CB101 代謝物の化学構造を決定するた

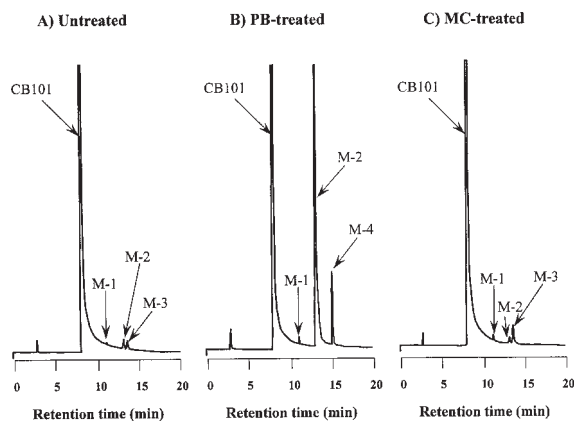


Fig. 1 Gas chromatograms of methylated derivatives of CB101 metabolites formed by liver microsomes of untreated (A), PB-treated (B) and MC-treated (C) rats.

Table 1 Effect of P450 inducers on CB101 metabolism by liver microsomes of rats, hamsters and guinea pigs.

Treatment	Metabolite formed (pmol/min/mg protein)			
	M-1	M-2	M-3	M-4
<b>Rat</b>				
Untreated	B.D.	2.1 ± 0.5 (1.0)	3.8 ± 1.3 (1.0)	N.D.
PB-treated	3.3 ± 0.3	290.6 ± 2.9* (140.0)	N.D.	24.2 ± 8.3*
MC-treated	2.9 ± 1.5	0.9 ± 0.9 (0.9)	8.4 ± 2.1* (2.0)	N.D.
<b>Hamster</b>				
Untreated	N.D.	0.5 ± 0.2 (1.0)	3.5 ± 0.7 (1.0)	N.D.
PB-treated	N.D.	22.4 ± 3.9* (79.3)	5.1 ± 2.3 (2.1)	4.2 ± 0.4*
MC-treated	N.D.	3.7 ± 0.9* (9.7)	32.4 ± 4.2* (9.6)	1.1 ± 0.7
<b>Guinea pig</b>				
Untreated	N.D.	3.5 ± 1.4 (1.0)	2.2 ± 0.9 (1.0)	N.D.
PB-treated	0.5 ± 0.4	13.3 ± 2.0* (3.8)	5.4 ± 2.0 (2.5)	2.0 ± 1.2
MC-treated	0.9 ± 0.7	3.2 ± 1.5 (0.9)	7.4 ± 0.9* (3.4)	1.9 ± 2.2

N.D., not detected. B.D., below detection limit.

Each value represents the mean ± S.D. of three or four animals and those in parentheses are the relative ratio of untreated animals.

\* Significantly different from untreated animals ( $p < 0.05$ ).

め、50倍量のスケール(50 ml)でCB101をNADPH生成系およびPB前処理ラット肝MsあるいはMC前処理ハムスター肝Msとともに、37°Cで60 min インキュベートした。反応後、chloroform-methanol(2:1)およびn-hexaneで抽出し、シリカゲル60カラムでCB101未変化体を除いた。代謝物画分はdimethyl sulfateでメチル化後、GC-MSに供した。その結果、M-1、M-2およびM-3のメチル誘導体は、いずれも分子量354を有しており、また、M-1およびM-2は破片イオン[M<sup>+</sup>-43]が、一方、M-3は破片イオン[M<sup>+</sup>-15]が多く検出されることから、M-1およびM-2は3位あるいは3'位に、またM-3は4位あるいは4'位にメトキシ(MeO)基を有することが示唆された(データ未掲載)。また、M-4のメチル誘導体は分子量384を有することから、3',4'-diMeO体と推定された。別途合成した標準品と比較したところ、GC保持時間およびマススペクトルが一致したことから、M-1、M-2、M-3およびM-4は、それぞれ3-OH-CB101、3'-OH-CB101、4'-OH-CB101および3',4'-diOH-CB101であることが確認された<sup>13)14)</sup>。

### 3. 3'-および4'-OH-CB101から3',4'-diOH-CB101の生成

CB101のin vitro代謝では、3-OH体(M-1)、3'-OH体(M-2)、4'-OH体(M-3)および3',4'-diOH体(M-4)が生成された。しかし、3',4'-diOH体が、3'-あるいは4'-OH体から2次的に生成されるかどうかは不明である。そこで、3'-OH-CB101と4'-OH-CB101を基質として用い、3',4'-diOH体への酸化反応をラット、ハムスターおよびモルモット肝Msで比較した。

まず、3'-OH-CB101をNADPH生成系存在下、動物肝Msとともに、37°Cで20 min反応させた。有機溶媒で抽出した代謝物はメチル化後、GC-ECDに付した。Fig. 2Aにその結果を示す。未処理肝Msにおいて、3'-OH体から3',4'-diOH体への酸化活性の強さは、モルモット>ハムスター>ラットの順であり、モルモットはラットの8倍もの強さであった。次に、PB処理肝Msでみたところ、いずれの動物でも3',4'-diOH体の生成が著しく促進され、ラットで未処理の12.9倍、ハムスターで3.0倍そしてモルモットでは4.2倍となっ

た。一方、MC処理肝Msにおいて、3',4'-diOH体の生成量はラットとモルモットで未処理とほとんど差はなかったが、ハムスターでは未処理より有意に低い結果となった。

次に、4'-OH-CB101を基質として用いて同様に検討した。インキュベーション時間は10 minとした。Fig. 2Bに結果を示す。未処理肝Msにおいて、4'-OH体から3',4'-diOH体への酸化活性の強さは、3'-OH-CB101の場合と同様に、モルモット>ハムスター>ラットの順であったが、いずれの動物でも3'-OH体の場合の約3倍も高かった。この活性はいずれの動物でもPB処理により、著しく促進された。なお、MC処理肝Msにおける酸化活性は、ラットとモルモットでは未処理と比べ有意な差は見られなかったが、ハムスターでは未処理の20%まで著しく低下していた。

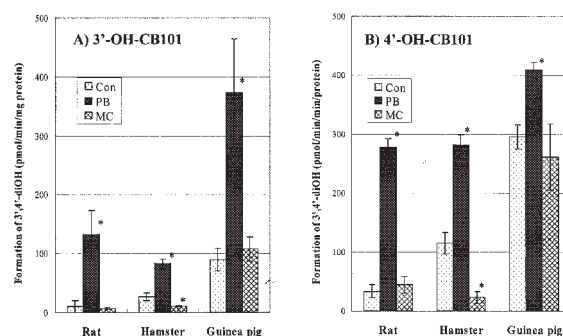


Fig. 2 Hydroxylation activities for 3'-OH-CB101 (A) and 4'-OH-CB101 (B) to 3',4'-diOH-CB101 in liver microsomes of rats, hamsters and guinea pigs.

Values are means  $\pm$  S.D. (vertical bars) of four animals.

\* Significantly different from untreated animals ( $p < 0.05$ ).

### 4. GSHの添加効果

CB101代謝物の生成に中間体として3',4'-epoxideが関与しているかどうかを調べるため、GSHを添加して代謝に及ぼす影響を調べた。もし、GSH添加により3'-OH体、4'-OH体および3',4'-diOH体の生成が減少すれば、それら代謝物の生成は、中間体として3',4'-epoxideを経由して進行していると考えられることができる<sup>17)26)35)</sup>。5 mM GSH存在下、MC前処理ハムスター肝MsによるCB101代謝を調べた。その結果、2つの主代謝物のうち、3'-OH体(M-2)は全く影響を受けなかったが、4'-OH体(M-3)は、5 mM GSHの添加に

より、生成量が未添加時の 43% まで有意に低下した (Table 2). このことから、4'-OH 体は 3',4'-epoxide を経由して一部生成されていることが示唆された.

**Table 2** Effect of reduced glutathione (GSH) on CB101 metabolism by liver microsomes of MC-treated hamsters

Addition	Metabolite formed (pmol/min/mg protein)			
	M-1	M-2	M-3	M-4
None	N.D.	1.1 ± 0.4 (1.00)	11.9 ± 2.2 (1.00)	0.6 ± 0.1 (1.00)
5 mM GSH	N.D.	0.8 ± 0.4 (0.75)	5.2 ± 0.1 * (0.43)	0.4 ± 0.1 (0.66)

N.D., not detected.

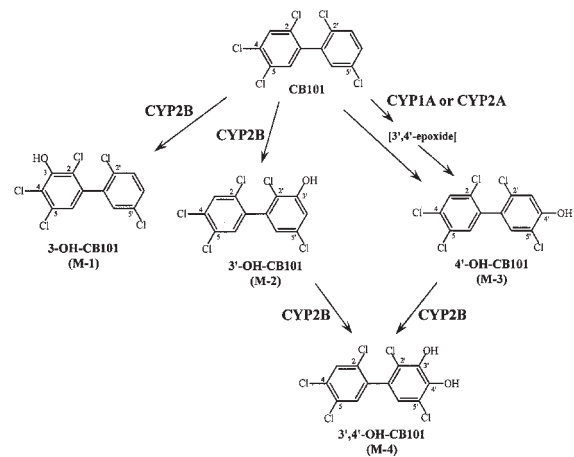
Each value represents mean ± S.D. of triplicate determinations.

\* Significantly different from the data in the absence of 5 mM GSH (p < 0.05).

## 考 察

CB101 の代謝をラット、ハムスターおよびモルモット肝 Ms を用いて調べた. その結果, Fig. 3 に示すように, これまでの *in vivo* 代謝の報告<sup>12)-14)</sup> と一致して, 3-OH 体 (M-1), 3'-OH 体 (M-2), 4'-OH 体 (M-3) および 3',4'-diOH 体 (M-4) が生成された. いずれの動物においても 3'-OH 体と 4'-OH 体が主代謝物であった. 一方, 3-OH 体はいずれの動物でも未処理肝では生成されなかったが, ラットとモルモット肝 Ms では, PB あるいは MC 前処理で極微量ながら生成された. また, いずれの動物においても, 3'-OH 体は PB 処理肝 Ms によって, 一方, 4'-OH 体は MC 処理肝 Ms によって最も多く生成された. さらに, 3',4'-diOH 体はすべての動物の未処理肝で全く生成されなかったが, PB 前処理により新たに出現した. 特にラットで顕著で, 次にハムスター, モルモットの順であった. これらの事実から, CB101 の 3'-OH 体および 3',4'-diOH 体の生成には PB 誘導性 P450 が, また 4'-OH 体の生成には MC 誘導性 P450 が主に関与していることが示唆された.

PCB 代謝に関与する P450 のうち, PB 誘導性 P450 としては, ラット CYP2B1 と CYP2B2<sup>17)</sup>, ハムスター-CYP2B (HPB-1)<sup>25)</sup>, モルモット CYP2B18<sup>21)</sup>, ヒト CYP2B6<sup>2)</sup> およびウサギ CYP2B4<sup>22)</sup> が知られており, 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl (tetraCB) (CB 52) や 2,3',4',5'-tetraCB (CB70) などの 2,5-二塩素置換 PCB の 3-水酸化反応を主に触媒している. 本研究での CB101 の 3'-水酸化反応には主にこれらの P450 が関与していると考えられる. ただ, ウサギ CYP2B4 は CB52 の 3-および 4-水酸化反応を同程度触媒す



**Fig. 3** Postulated metabolic pathways of CB101 in animal liver.

る点で, 他の P450 と異なっているが, Table 1 のモルモット肝での結果をみると, CYP2B18 も同様に, 3'-および 4'-水酸化活性の両方を有しているようである. また, モルモット CYP2B18 は, CB52 や CB70 の 3-水酸化反応<sup>21)24)</sup> 以外に, 2,3-epoxide を経由して生成されると思われる CB118 や CB153 の 2-水酸化反応<sup>1)33)</sup>, さらに 2,2',3,4',5,5',6-heptaCB (CB187) の 4-および 4'-水酸化反応<sup>32)</sup> などを触媒することが明らかにされているが, CB101 の 3'-水酸化活性については, ラット CYP2B1 に比べかなり低く, ハムスターの CYP2B 酵素と同程度か, それより若干低いことが示唆された. 我々の報告によると, CYP2B18 が示す CB187 の 4-および 4'-水酸化活性は, ラットやハムスターの CYP2B 酵素より数倍高かった<sup>32)</sup>. これらの結果から, CYP2B18 の PCB に対する基質特異性は他の CYP2B 分子種に比べてかなり広く, さらに PCB 異性体により水酸化部位がそれぞれに異なるといった興味深い事実が明らかとなった.

一方, PCB 代謝に関与する MC 誘導性 P450 としては, ラット CYP1A1<sup>17)</sup> およびハムスター CYP2A8<sup>23)24)</sup> が知られている. ラット CYP1A1 は 3,3',4,4'-tetraCB (CB77) の 4-と 5-水酸化反応および 3,3',5,5'-tetraCB (CB80) の 4-水酸化反応を, また, ハムスター-CYP2A8 は CB52 および CB70 の 4-水酸化反応を触媒する. ごく最近, McGraw と Waller により, ヒト CYP2A6 が CB101 の 4'-水酸化活性を有することが報告された<sup>29)</sup>. 今回の動物肝 Ms による 4'-OH 体の生成に



においても、ラット CYP1A1 とハムスター CYP2A8 が最も重要であると思われる。モルモット肝 Ms による 4'-OH 体の生成は MC 処理で未処理の約 3 倍に増加したが、モルモット CYP1A 酵素の触媒活性についてはよくわかっていない。この点は今後の研究課題である。

3',4'-diOH-CB101 はいずれの動物でも、3'-および 4'-OH 体から容易に生成されること、また PB 前処理により著しくその生成量が増加すること、さらに 3'-OH 体より 4'-OH 体の方からより多く生成されることが明らかとなった (Fig. 2)。驚いたことに、モルモットでは基質として CB101 を用いた場合には、3',4'-diOH 体の生成量が低かったのに対し、両 OH 体を用いた場合にはラットやハムスターの数倍多く生成された。この結果は、モルモット CYP2B18 が、CB101 から 3'-あるいは 4'-OH 体への酸化反応よりは、両-OH 体から 3',4'-diOH 体への酸化反応に対して、ずっと高い触媒活性を有することを示唆している。一方、MC 前処理ハムスターでは 3',4'-diOH 体の生成量は、3'-と 4'-OH 体を用いた場合、それぞれ未処理の 42% と 20% に激減した。この結果は、逆にハムスター CYP1A2 あるいは CYP2A8 が 3'-あるいは 4'-OH 体から 3',4'-diOH 体への酸化反応に対し触媒活性が低いことを示唆している。

PCB の水酸化機構として次の 2 つの経路が考えられている。1 つはベンゼン環の C-H 結合に酸素原子が挿入されて生成する経路 (直接水酸化)<sup>34)</sup> で、3'-あるいは 3'-水酸化反応がこれである。もう 1 つは、epoxide 体を生成した後、NIH 転位を起こして生成する経路<sup>20)35)</sup> で、4'-水酸化反応はこの経路であると考えられている。本研究で CB101 代謝において、5 mM GSH の添加により、4'-OH 体の生成は有意に減少したが 3'-OH 体にはほとんど影響が見られなかった。これらのことから、CB101 は上記 2 つの経路で水酸化されることが示唆された。

CB101 単独投与あるいは Kanechlor-500 投与ハムスター血中から、ラットやモルモットよりも多くの 3',4'-diOH-CB101 が検出されている<sup>13)14)</sup>。しかしながら、今回の *in vitro* 代謝において、PB 処理肝 Ms による 3',4'-diOH 体の生成量は、ハムスターではラットの 17% にすぎなかった。この理由は現在のところ不明であるが、ラット肝中では

OH 体や diOH 体以外に、3'-および 4'-CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub> 体が高濃度検出されるのに対しハムスター肝では CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub> 体がほとんど検出されないことも報告されている<sup>14)</sup>。これらの事実から、ハムスターの方がラットより GSH 抱合活性が低いために、生成された 3',4'-epoxide の多くが 3'-あるいは 4'-OH 体から 3',4'-diOH 体へと酸化され、血中へ分布したものと考えられる。

## 総 括

1. CB101 の代謝をラット、ハムスターおよびモルモット肝 Ms を用いて調べた。その結果、ラットとモルモットでは 4 種類の代謝物 (M-1, M-2, M-3 および M-4) が、またハムスターでは M-1 を除く 3 種類が生成された。代謝物標品と GC-MS で比較したところ、それぞれ 3'-OH-CB101, 3'-OH-CB101, 4'-OH-CB101 および 3',4'-diOH-CB101 であることが明らかになった。いずれの動物においても PB 処理により 3'-OH 体および 3',4'-diOH 体の生成が強く促進された。また、MC 処理により 4'-OH 体および 3',4'-diOH 体生成が促進されたが、4'-OH 体の生成はハムスターで特に顕著であった。なお、3'-OH 体はラットとモルモットでのみ生成されたが、その量はかなり少なかった。
2. 3'-および 4'-OH-CB101 から 3',4'-diOH 体への酸化反応を動物肝 Ms で調べた。3',4'-diOH 体は、CB101 に比べ、両 OH 体からよく生成されたが、すべての動物で、4'-OH 体を用いた場合の方が 3'-OH 体よりは数倍多く生成された。活性の強さはモルモット > ラット = ハムスターの順であった。また、PB 前処理で著しく生成が増強されたが、MC 前処理ハムスターでは生成量が逆に有意に減少した。
3. MC 前処理ハムスター肝 Ms による CB101 代謝に及ぼす 5 mM GSH の添加効果を調べたところ、4'-OH 体は有意に減少したが、3'-OH 体はほとんど影響を受けなかった。この結果から、4'-OH 体の生成は一部 3',4'-epoxide を経由して進行していることが示唆された。
4. 以上の結果から、3',4'-diOH-CB101 は、



CB101 からだけでなく、3'-OH-CB101 と 4'-OH-CB101 から生成されることが明らかとなった。また、CB101 から 3',4'-diOH-CB101 への酸化反応は主として PB 誘導性 CYP2B 酵素によって触媒され、その基質特異性は 4'-OH 体 > 3'-OH 体 > CB101 の順であることも明らかとなった。

## 謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費（食品の安心・安全確保推進研究事業および化学物質リスク研究事業）および日本学術振興会科学研究費補助金基盤研究 (C) (2) (No. 16590101 原口浩一; No. 18510061 加藤善久) に一部負うものである。ここに記して謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) Ariyoshi N, Koga N, Yoshimura H and Oguri K: Metabolism of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB153) in guinea pig. *Xenobiotica* 27: 973-983, 1997.
- 2) Ariyoshi N, Oguri K, Koga N, Yoshimura H and Funae Y: Metabolism of highly persistent PCB congener, 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl, by human CYP2B6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 212: 455-460, 1995.
- 3) Bakke JE, Bergman AL and Larsen GL: Metabolism of 2,4',5-trichlorobiphenyl by the mercapturic acid pathway. *Science* 217: 645-647, 1982.
- 4) Ballschmiter K, Rappe C and Buser HR: Chemical properties, analytical methods and environmental levels of PCBs, PCTs, PCNs and PBBs. In Kimbrough RD and Jensen AA (ed): *Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products.* pp 47-69, Elsevier, 1989.
- 5) Cadogan JIG: A convenient new method of aromatic arylation. *J. Chem. Soc.*: 4257-4258, 1962.
- 6) Chen PR, McKinney JD and Matthews HB: Metabolism of 2,4,5,2',5'-pentachlorobiphenyl in the rat. Qualitative and quantitative aspects. *Drug Metab. Dispos.* 4: 362-367, 1976.
- 7) Fångström B, Athanasiadou M, Grandjean P, Weihe P and Bergman Å: Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspect.* 110: 895-899, 2002.
- 8) Garner CE, Jefferson WN, Burka LT, Matthews HB and Newbold RR: In vitro estrogenicity of the catechol metabolites of selected polychlorinated biphenyls. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 154: 188-197, 1999.
- 9) Garner CE, Burka LT, Etheridge AE and Matthews HB: Catechol metabolites of polychlorinated biphenyls inhibit the catechol-O-methyltransferase-mediated metabolism of catechol estrogens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 162: 115-123, 2000.
- 10) Guvenius DM, Hassanzadeh P, Bergman Å and Norén K: Metabolites of polychlorinated biphenyls in human liver and adipose tissue. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 2264-2269, 2002.
- 11) Haraguchi K, Athanasiadou M, Bergman Å, Hovander L and Jensen S: PCB and PCB methyl sulfones in selected groups of seals from Swedish waters. *AMBIO* 21: 546-549, 1992.
- 12) Haraguchi K, Kato Y, Koga N and Degawa M: Metabolism of polychlorinated biphenyls by Gunn rats: Identification and serum retention of catechol metabolites. *Chem. Res. Toxicol.* 17: 1684-1691, 2004.
- 13) Haraguchi K, Koga N and Kato Y: Comparative metabolism of polychlorinated biphenyls and tissue distribution of persistent metabolites in rats, hamsters and guinea pigs. *Drug Metab. Dispos.* 33: 373-380, 2005.
- 14) Haraguchi K, Kato Y, Koga N and Degawa M: Species differences in the tissue distribution of catechol and methylsulphonyl metabolites of 2,4,5,2',5'-penta- and 2,3,4,2',3',6'-hexachlorobiphenyls in rats, mice, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica* 35: 85-96, 2005.
- 15) Humphrey HE, Gardiner JC, Pandya JR, Sweeney AM, Gasior DM, McCaffrey RJ and Schantz SL: PCB congener profile in the serum of humans consuming Great Lakes fish. *Environ. Health Perspect.* 108: 167-172, 2000.
- 16) Hutzinger O, Safe S and Zitko V: Polychlorinated biphenyls: synthesis of some individual chlorobiphenyls. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 6: 209-219, 1971.
- 17) Ishida C, Koga N, Hanioka N, Saeki HK and Yoshimura H: Metabolism in vitro of 3,4,3',4'- and 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl by rat liver microsomes and highly purified cytochrome P-450. *J. Pharmacobio-Dyn.* 14: 276-284, 1991.

- 18) Kato Y, Haraguchi K, Kawashima M, Yamada S, Masuda Y and Kimura R: Induction of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes by methylsulphonyl metabolites of polychlorinated biphenyl congeners in rats. *Chem.-Biol. Interact.* 95 : 257-268, 1995.
- 19) Kato Y, Haraguchi K, Yamazaki T, Kimura R, Koga N, Yamada S and Degawa M: The decrease in level of serum thyroxine by 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl in rats and mice: No correlation with formation of methylsulphonyl metabolite. *Drug Metab. Dispos.* 33 : 1661-1665, 2005.
- 20) Koga N, Beppu M, Ishida C and Yoshimura H: Further studies on metabolism in vivo of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl in rats: identification of minor metabolites in rat faeces. *Xenobiotica* 19 : 1307-1318, 1989.
- 21) Koga N, Kanamaru T, Kikuichi N, Oishi N, Kato S and Yoshimura H: Guinea pig liver cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60 : 898-903, 1998.
- 22) Koga N, Kanamaru T, Oishi N, Kato S, Kuroki H and Yoshimura H: Metabolism of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl by rabbit liver microsomes. *Organohalogen Compounds* 37 : 409-412, 1998.
- 23) Koga N, Kikuichi N, Kanamaru T, Ariyoshi N, Oguri K and Yoshimura H: Hamster liver cytochrome P450 (CYP2A8) as a 4-hydroxylase for 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 225 : 685-688, 1996.
- 24) Koga N, Kikuichi N, Kanamaru T, Kuroki H, Matsusue K, Ishida C, Ariyoshi N, Oguri K and Yoshimura H: Metabolism of 2,3',4',5-tetrachlorobiphenyl by cytochrome P450 from rats, guinea pigs and hamsters. *Chemosphere* 37 : 1895-1904, 1998.
- 25) Koga N, Kikuichi-Nishimura N, Hara T, Harada N, Ishii Y, Yamada H, Oguri K and Yoshimura H: Purification and characterization of a newly identified isoform of cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl in hamster liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 317 : 464-470, 1995.
- 26) Koga N, Nishimura N, Kuroki H, Masuda Y and Yoshimura H: Metabolism of 3,5,3',5'-tetrachlorobiphenyl by rat liver microsomes and purified P4501A1. *Xenobiotica* 24 : 775-783, 1994.
- 27) Letcher RJ, Lemmen JG, van der Burg B, Brouwer A, Bergman A, Giesy JP and van den Berg M: In vitro antiestrogenic effects of aryl methyl sulfone metabolites of polychlorinated biphenyls and 2,2-bis(4-chlorophenyl)-1,1-dichloroethene on 17 $\beta$ -estradiol-induced gene expression in several bioassay systems. *Toxicol. Sci.* 69 : 362-372, 2002.
- 28) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275, 1951.
- 29) McGraw Sr JE and Waller DP: Specific human CYP450 isoform metabolism of a pentachlorobiphenyl (PCB-IUPAC # 101). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344 : 129-133, 2006.
- 30) 三村敬介, 田村水穂, 原口浩一, 増田義人: 高分解能ガスクロマトグラフ / 低分解能質量分析計による全 PCB 異性体の分析. *福岡医誌* 90 : 192-201, 1999.
- 31) 三村敬介, 田村水穂, 原口浩一, 増田義人: 油症患者母乳及び血液中の全 PCB 異性体の分析. *福岡医誌* 90 : 202-209, 1999.
- 32) Ohta C, Haraguchi K, Kato Y and Koga N: In vitro metabolism of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. *Xenobiotica* 35 : 319-330, 2005.
- 33) 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 古賀信幸: 2,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (CB118) のモルモット肝ミクロゾームによる代謝. *福岡医誌* 96 : 232-240, 2005.
- 34) Preston BD, Miller JA and Miller EC: Non-arene oxide aromatic ring hydroxylation of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl as the major metabolic pathway catalyzed by phenobarbital-induced rat liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 258 : 8304-8311, 1983.
- 35) Shimada T and Sawabe Y: Activation of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl to protein-bound metabolites by rat liver microsomal cytochrome P-448-containing monooxygenase system. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 70 : 486-493, 1983.
- 36) Sonzogni W, Maack L, Gibson T, Degenhardt D, Anderson H and Fiore B: Polychlorinated biphenyl congeners in blood of Wisconsin sport fish consumers. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20 : 56-60, 1991.

(受付 2007-4-3)

## 福岡医学雑誌投稿規定

1. 本誌には原著論文、症例報告、総説、学会報告等を掲載する。
2. 原著論文は、和文の場合は英文抄録、はじめに、実験方法、実験結果、考察、総括または結論、謝辞、文献の順とし、英文の場合は、Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References, の順で記すものとする。ただし、短報の場合は、この区別をつけなくともよい。図、表の標題、説明文は、英文とすることが望ましい。
3. 和文原著には英文の抄録を、欧文原著には和文抄録を付けることとし、それぞれ本誌印刷1ページ以内とする。
4. 和文は現代かなづかい、平がなまじりの横書きとする。外国語は typewriter を使用するか、あるいは block letter で鮮明に記すことが必要である。
5. 数字は算用数字を用い、度量衡の単位は、cm, mm,  $\mu\text{m}$ , nm, g, mg,  $\mu\text{g}$ , ng, ml, dl,  $\mu\text{l}$ ,  $\text{cm}^2$  など、一般的に用いられる略字を使用する。
6. 原稿の第1ページには、標題、著者の所属(必要あれば指導者名付記)、著者名のみを記し、印刷所要部数を赤で付記する。ランニングタイトルを20字以内(欧文の場合は40文字以内)で鉛筆で付記する。
7. 引用した文献は末尾に一括して番号を付けて記載し、その順序は引用した順とする。著者名は全員併記する。本文の引用箇所には上付きで<sup>1)2)</sup>と記す。なお総説等の場合、重要なものについて5~10程度に○をつけて読者の便宜を図る。記載の形式は次の例による。
  - 1) 雑誌の場合：著者名、論文表題、雑誌名、巻：最初最終頁、発行年、とする。  
原著の first and middle name の省略のピリオドは用いない。  
(例) Hatch TP, Miceli M and Silverman JA: Synthesis of protein in host-free reticulate bodies of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis*. J. Bacteriol. 162: 938-942, 1985.  
(例) 神村英利, 吉村英敏: 油症原因物質の排泄促進, 福岡医誌 78: 266-280, 1987.
  - 2) 単行本の場合：著者名、書名、第何版、引用頁、発行社、発行地、発行年。  
(例) Bloom W and Fawcett DW: A Textbook of Histology 10th ed. pp. 179-227, Saunders Co. Philadelphia, 1975.
  - 3) 分担執筆の場合：著者名、章の表題、編者、書名、第何版、最初最終頁、発行者、発行地、発行年。  
(例) Yamada Y: Far-storing cells, In Yamakawa I (ed): Structure and Function of the Liver. 1st ed. pp. 188-202, Nanzando Tokyo, 1980.
8. 写真原稿は鮮明なものでなければならない。表は1ページに組める大きさであることを要する。
9. 定期号のほかに補冊を刊行することがある。教室論文集等を補冊とすることの可否は幹事会で決定する。
10. 投稿時には原稿を4部揃えて福岡医学雑誌編集室へ提出する。
11. 本誌に掲載する論文は、2名のレフリーによる査読を原則とし、その採否は編集幹事が決定する。  
續 輝久\* (基礎放射線医学), 笹栗俊之\* (臨床薬理学), 池田典昭\* (法医学), 橋爪 誠\* (災害・救急医学), 前原喜彦\* (消化器・総合外科学), 池本清海\* (歯・口腔顎顔面病態学), 山田英之\* (薬・分子衛生薬学), 野中和明 (歯・口腔保健推進学), 吉開泰信 (生医研・感染制御学), 池松秀之\* (原土井病院), 尾形裕也\* (医療経営・管理学), 鮎澤純子 (医療経営・管理学), 寺嶋廣美\* (医保・医用放射線科学), 平田伸子 (医保・看護学), 岡村 建 (医保・病態情報学)

(\*: 編集幹事)

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

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

平成 19 年 5 月 25 日 発行

発行所 福岡医学学会

〒812-8582 福岡市東区馬出3丁目1番1号 (九州大学医学部内)

TEL ダイヤルイン (092) 642-6896

(日本出版協会準会員番号 B211042 振替 01750-2-2233)

編集兼発行者 續 輝 久

印刷所 秀巧社印刷株式会社

福岡市南区向野2丁目13-29