

昭和29年11月5日第三種郵便物認可
平成21年5月25日（毎月25日発行）
第1052号

Vol. 100 No. 5
May 2009

CODEN : FKIZA4
ISSN 0016-254X

福岡医学雑誌

FUKUOKA ACTA MEDICA

第 100 卷 第 5 号 (1052)

平成 21 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 22 集

責任編集者 古江 増 隆

The Twenty-second 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 22 集

(福岡医学雑誌 第 100 巻 第 5 号 平成 21 年 5 月)

目 次

序 言	古江 増隆…109
油症患者における歯周疾患ならびに口腔内色素沈着の疫学的調査 (第七報)	
橋口 勇・吉嶺 嘉人・前田 英史・後藤 康治 藤井 慎介・友清 淳・吉田 桐枝・西垣奏一郎 門野内 聡・堀 清美・奥村 英彦・赤峰 昭文…111	
2005-2007 年度の福岡県年次検診における皮膚症状	
三苫 千景・内 博史・中山樹一郎・旭 正一・古江 増隆…118	
油症認定患者血清中抗 SS-A 抗体, 抗 SS-B 抗体の検討	
穂山雄一郎・小川 文秀・清水 和宏・佐藤 伸一…124	
油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清 IgE 値に関する研究	
内 博史・古江 増隆…127	
油症における末梢血リンパ球亜集団の検討	辻 博…131
カネミ油症検診者の骨密度と PCB, PCQ, PCDF	
吉村 俊朗・中野 治郎・栢田 智子・徳田 昌紘 榊原 淳・片岡 英樹・沖田 実…136	
油症などにみられる PCB, PCDF の人体に対する毒性影響	増田 義人…141
平成 16 年から 19 年度におけるカネミ油症検診者の血液中ポリ塩化ビフェニール濃度 (英文)	
戸高 尊・堀 就英・安武 大輔・吉富 秀亮・平川 博仙 梶原 淳睦・小野塚大介・飯田 隆雄・吉村 健清・古江 増隆…156	
2001 年度~2004 年度に血中 PeCDF 値を測定したカネミ油症認定患者の 血液検査等の集計結果とその関係に関する研究	
神奈川芳行・松本 伸哉・赤羽 学・小池 創一 吉村 健清・内 博史・古江 増隆・今村 知明…166	
油症患者における PeCDF 半減期の推定および二つの再吸収機構を考慮した排泄シミュレーション	
赤羽 学・松本 伸哉・神奈川芳行・梶原 淳睦・戸高 尊 平川 博仙・小池 創一・古江 増隆・今村 知明…172	
油症患者の保存さい帯 (へその緒) 中のダイオキシン類濃度	
梶原 淳睦・戸高 尊・平川 博仙・堀 就英・安武 大輔 中川 礼子・飯田 隆雄・長山 淳哉・吉村 健清・古江 増隆…179	
保存さい帯 (へその緒) を利用した油症被害者の PCB 汚染評価に関する検討	
宮田 秀明・青笹 治・中尾 晃幸・太田 壮一…183	

発酵玄米健康補助食品摂取による油症原因物質の体外排泄促進—PCDFs と PCDDs の場合—

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…192

2,2',5,5'-四塩素化ビフェニル (CB52) のウサギ肝ミクロゾームによる代謝

太田 千穂・原口 浩一・加藤 善久・遠藤 哲也・古賀 信幸…200

Cholebine による 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran 排泄促進

石田 卓巳・坂井 雄一・石井 祐次・古江 増隆・山田 英之…210

The Twenty-second Reports of the Study on Yusho
—PCBs and Dioxin-Related Compounds—
(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 100, No. 5, 2009)

CONTENTS

- Foreword M. Furue···109
- An Epidemiologic Examination on the Prevalence of the Periodontal Diseases and
Oral Pigmentation in Yusho Patients in 2008
I.Hashiguchi, Y. Yoshimine, H. Maeda, Y. Gotou, S. Fujii,
A. Tomokiyo, K. Yoshida, S. Nishigaki, S. Monnouchi, K. Hori,
H. Okumura and A. Akamine···111
- Evaluation of Dermatological Symptom of Yusho Patients in the Annual
Examination in 2005-2007
C. Mitoma, H. Uchi, J. Nakayama, M. Asahi and M. Furue···118
- Estimation of Anti-SS-A Ab and Anti-SS-B Ab in the Serum of Yusho Victims
Y. Akiyama, F. Ogawa, K. Shimizu and S. Sato···124
- Prevalence of Atopic Dermatitis and Serum IgE of Yusho Patients
H. Uchi and M. Furue···127
- Lymphocyte Subpopulations in Patients with Yusho H. Tsuji···131
- Bone Mineral Density, PCB, PCQ and PCDF in Yusho
T. Yoshimura, J. Nakano, T. Masuda, M. Tokuda,
A. Sakakibara, H. Kataoka and M. Okita···136
- Toxic Effects of PCB/PCDF to Human Observed in Yusho and Other Poisonings Y. Masuda···141
- Concentrations of Polychlorinated Biphenyls in Blood Collected from Yusho
Patients during Medical Check-ups Performed from 2004 to 2007
T. Todaka, T. Hori, D. Yasutake, H. Yoshitomi, H. Hirakawa,
D. Onozuka, J. Kajiwara, T. Iida, T. Yoshimura and M. Furue···156
- Differential Correlation of Medical/Laboratory Examinations with Blood Levels of
Polychlorinated Biphenyls, Polychlorinated Quarterphenyls and
2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran in Yusho Patients from 2001 to 2004
Y. Kanagawa, S. Matsumoto, M. Akahane, S. Koike,
T. Yoshimura, H. Uchi, M. Furue and T. Imamura···166
- Estimated Half-Life of Penta-Chlorodibenzofuran (PeCDF) and Simulation of
PeCDF Excretion
M. Akahane, S. Matsumoto, Y. Kanagawa, J. Kajiwara, T. Todaka,
H. Hirakawa, S. Koike, M. Furue and T. Imamura···172

- Dioxin Concentration in the Preserved Umbilical Cord from Yusho Patients
J. Kajiwara, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, D. Yasutake,
R. Nakagawa, T. Iida, J. Nagayama, T. Yoshimura and M. Furue···179
- Investigation of PCB Pollution Evaluation for Yusho Victims Using Their Preserved
Umbilical Cord
H. Miyata, O. Aozasa, T. Nakao and S. Ohta···183
- Promotive Excretion of Causative Agents of Yusho by Intake of Fermented Brown
Rice with *Aspergillus oryze* in Patients with Yusho—with Regard to PCDFs and PCDDs—
J. Nagayama, H. Hirakawa, J. Kajiwara, T. Iida, T. Todaka,
T. Uenotsuchi, S. Shibata, H. Tsuji and T. Iwasaki···192
- Metabolism of 2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl (CB52) by Rabbit Liver Microsomes
C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga···200
- The Accelerated Excretion of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran by Cholebine
T. Ishida, Y. Sakai, Y. Ishii, M. Furue and H. Yamada···210

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 1930 individuals, occurred in Kyushu (Western Japan) in 1968. The incident is called Yusho, oil disease, as it was caused by ingestion of rice bran oil that was contaminated with Kanechlor-400, a commercial brand of Japanese polychlorinated biphenyls (PCBs). It was later found the rice oil had been contaminated with not only PCBs but also polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), polychlorinated quaterphenyls (PCQs) and others.

Yusho is, thus, recognized as a poisoning by a mixture of PCBs, dioxins and related compounds. For more than 40 years the patients have been suffering from various symptoms such as general malaise, headache, acneform eruption, dark-brownish nail pigmentation, increased discharge from the eyes with swelling of eyelids, pigmentation of oral mucosa, peripheral neuropathy, irregular menstruation in women.

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

The clinical and basic studies and follow-up of patients conducted by this study group are extremely important not only for supporting patients' health but also for understanding the potential prolonged effects of exposure to PCBs and dioxins in humans. From this point of view, a patient-consultation system for Yusho has been established from 2002. The Yusho consultants keep in touch with the patients by direct interview, by phone or by mail. Various types of questionnaire were carried out by Yusho consultants. Statistical correlations were analyzed between blood PeCDF levels and clinical/laboratory manifestations in addition to questionnaire comments. These clinical analysis have revealed that 1) the high concentrations of dioxins still remained in the body of patients even 40 years after the exposure, that 2) the blood concentrations of PeCDF significantly correlated with high blood sugar and lipid levels, and that 3) the death caused by liver cancers and lung cancers in male was significantly higher in the Yusho patients than in the normal population.

Patients with Yusho still complain various subjective and objective symptoms. Clinical trials using several Kampo drugs for characteristic symptoms have shown that Bakumondoto is effective to cough and sputum associated with Yusho. We are conducting a clinical trial of colestimide to reduce the blood levels of dioxins and adaparen for chloride acne. 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22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19年度と平成20年度の研究成果ならびに関連分野の情報などをまとめております。油症は1968年(昭和43年)に西日本一帯の広範囲な住民の方々が、熱媒体として使用されていたPCBの混入した食用米ぬか油を摂取したことによって起こった食中毒事件です。その後、研究班によってPCDFなどのダイオキシン類も混入していたことがつきとめられ、油症はPCB類とダイオキシン類による複合中毒であったことが証明されました。事件発生5年後くらいからPCBの血中濃度測定が可能になりました。その後、PCQも油症に比較的特異的に検出されることが判明し診断基準に加わりました。ダイオキシン類は血中にごくわずかにしか含まれていないために、その定量は困難な状況でしたが、研究班内での技術改良により少ない血液量で再現性のあるダイオキシン類測定が可能となり、2001年(平成13年)は福岡県の検診でパイロット的に測定を行い、2002年(平成14年)以降は全国の検診で測定を開始しました。これらのデータを妥当性・精度・再現性などの面から解析しました。その結果、血液中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 値を診断基準に追補することが妥当と考えられ、油症診断基準(平成16年9月29日補遺)が新たに作成されました。

患者さんの健康管理と健康相談の窓口として、2002年から油症相談員システムを立ち上げました。油症相談員は検診での直接面接、電話や手紙による問診や相談受付などを行ないます。油症相談員の活躍によって、従来よりも信頼性の高いアンケート調査を行なうことが可能となりました。そのようなアンケート調査や実際の検診結果などと血液中のダイオキシン類濃度を統計学的に比較することが可能となりました。その結果、発生後40年たった現在でも様々なダイオキシン類が患者の体内に高濃度残留していること、PeCDFの血中濃度は高血糖や高トリグリセリドと相関していること、油症発生後40年間の死因調査によって肝臓や肺癌による死亡が男性に多いことなどが明らかになりました。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、認定者の方々との交流をさらに深めたいと思っています。

治療では、漢方薬による臨床試験によって、麦門冬湯が油症患者の咳や痰を軽快させることを見出しました。コレバインによってダイオキシン濃度を低下させることができるかどうか、アダパレンが塩素ニキビに効果があるかどうかの臨床試験も行っています。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、そして各県の行政の方々、厚生労働省担当課の皆様にも深く感謝申し上げます。

油症患者における歯周疾患ならびに 口腔内色素沈着の疫学的調査 (第七報)

¹⁾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

²⁾奥村歯科医院

橋口 勇¹⁾, 吉嶺 嘉人¹⁾, 前田 英史¹⁾, 後藤 康治¹⁾, 藤井 慎介¹⁾,
友清 淳¹⁾, 吉田 桐枝¹⁾, 西垣 奏一郎¹⁾, 門野内 聡¹⁾,
堀 清美¹⁾, 奥村 英彦²⁾, 赤峰 昭文¹⁾

An Epidemiologic Examination on the Prevalence of the Periodontal Diseases and Oral Pigmentation in Yusho Patients in 2008

Isamu HASHIGUCHI¹⁾, Yoshito YOSHIMINE¹⁾, Hidefumi MAEDA¹⁾, Yasuharu GOTOU¹⁾,
Shinsuke FUJII¹⁾, Atsushi TOMOKIYO¹⁾, Kirie YOSHIDA¹⁾, Souichiro NISHIGAKI¹⁾,
Satoshi MONNOUCHI¹⁾, Kiyomi HORI¹⁾, Hidehiko OKUMURA²⁾ and Akifumi AKAMINE¹⁾

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

²⁾*Okumura Dental Clinic, Nagasaki*

Abstract An epidemiologic examination was carried out to reveal the prevalence of the periodontal diseases and oral pigmentation in patients with Yusho in 2008. The results obtained were as follows. 1) Yusho patients complained of tooth pain and periodontal diseases such as gingival swelling, gingival bleeding, but not of oral pigmentation.

2) 116 patients out of 148 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, 399 teeth out of a total 710 examined teeth showed a periodontal pocket with more than 3 mm in depth. However, it was determined that 74 teeth had a periodontal pocket deeper than 4 mm.

3) Oral pigmentation was observed in 91 patients out of 155 patients with Yusho. In this study, gingival pigmentation was most predominant among oral pigmentation. The prevalence of oral pigmentation in male patients seemed to be somewhat higher than that in female patients. In addition, the prevalence of oral pigmentation tended to be higher in younger patients than in elder patients. Pigmentation of the buccal mucosa, lip or palate, however, was observed only in patients beyond the age of fifty.

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

油症発症後早期においては、歯根形態異常や永久歯萌出遅延が観察されることに加えて顕著な口腔内色素沈着が認められることが報告されている¹⁾。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、時

間の経過とともに口腔内色素沈着の色調は徐々に薄くなってきているが、依然として被検者の約半数に口腔内色素沈着が認められることを報告してきた。また、歯周疾患罹患率が高いことも併せて報告してきた^{2)~5)}。そこで、平成20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。

表1 油症患者の年齢別受診者数

年齢	性別		計
	男 性	女 性	
30 ~ 39	3 (3)	4 (4)	7 (7)
40 ~ 49	17 (17)	8 (8)	25 (25)
50 ~ 59	11 (11)	14 (14)	25 (25)
60 ~ 69	18 (17)	21 (21)	39 (38)
70 ~ 79	20 (18)	23 (21)	43 (39)
80 ~ 99	6 (5)	10 (9)	16 (14)
計	75 (71)	80 (77)	155(148)

() : 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)
歯肉腫脹	9	6	15
歯痛	7	7	14
歯肉出血	3	6	9
義歯不適	2	6	8
歯牙動揺	3	3	6
歯牙挺出感	2	3	5
その他	14	14	28

*重複回答有り.

表3 3 mm以上の歯周ポケットの分布状態

年齢	罹患歯数		0		1		2		3		4		5		6		計 (名)
	男 性	女 性	男 性	女 性	男 性	女 性	男 性	女 性	男 性	女 性	男 性	女 性	男 性	女 性	男 性	女 性	
30 ~ 49	0	1	2	0	6	1	4	4	5	2	0	1	3	3	32		
50 ~ 59	0	3	3	2	1	3	1	1	5	2	0	1	1	2	25		
60 ~ 69	2	2	5	3	3	4	5	3	0	6	0	3	2	0	38		
70 ~ 79	4	6	2	5	5	1	3	3	2	3	1	1	1	2	39		
80 ~ 99	0	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	14		
計 (名)	6	13	13	13	16	10	14	12	13	14	2	7	7	8	148		

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
罹患歯数	30	22	31	41	31	36	191
男性 総被検歯数	53	54	50	62	64	49	332
%	56.6	40.7	62.0	66.1	48.4	73.5	57.5
罹患歯数	28	34	39	43	28	36	208
女性 総被検歯数	55	66	61	70	71	55	378
%	50.9	51.5	63.9	61.4	39.4	65.5	55.0
罹患歯数	58	56	70	84	59	72	399
計 総被検歯数	108	120	111	132	135	104	710
%	53.7	46.7	63.1	63.6	43.7	69.2	56.2

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

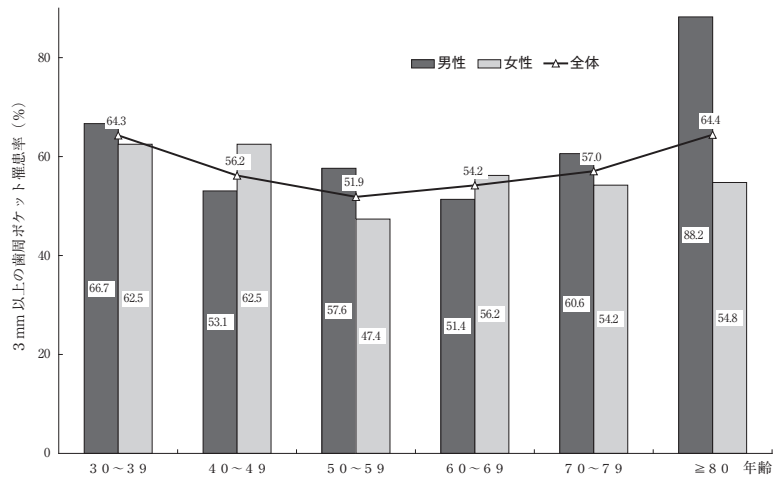


図1 年齢別にみた歯周ポケット罹患率

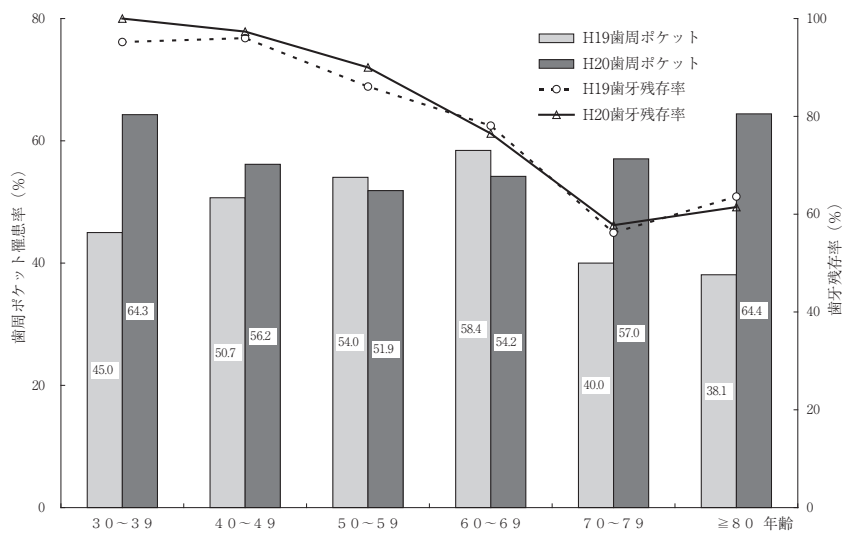


図2 平成19年度、20年度における年齢別にみた歯周ポケット罹患率と歯牙残存率

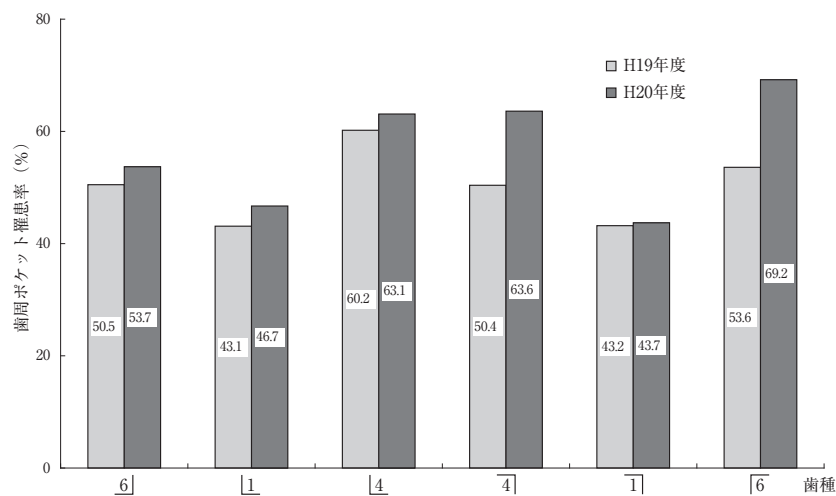


図3 平成19年度、20年度における歯種別の歯周ポケット罹患率
 6: 上顎右側第一大臼歯, 1: 上顎左側中切歯, 4: 上顎左側第一小臼歯
 4: 下顎右側第一小臼歯, 1: 下顎右側中切歯, 6: 下顎左側第一大臼歯

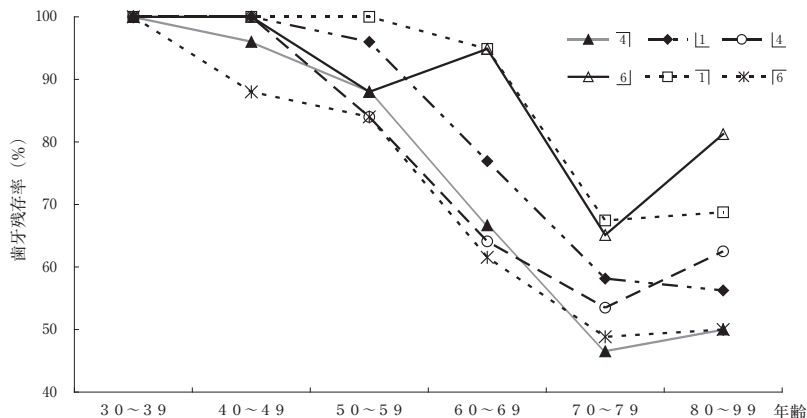


図4 歯種別、年齢別にみた歯牙残存率
 6：上顎右側第一大臼歯，1：上顎左側中切歯，4：上顎左側第一小臼歯
 4：下顎右側第一小臼歯，1：下顎右側中切歯，6：下顎左側第一大臼歯

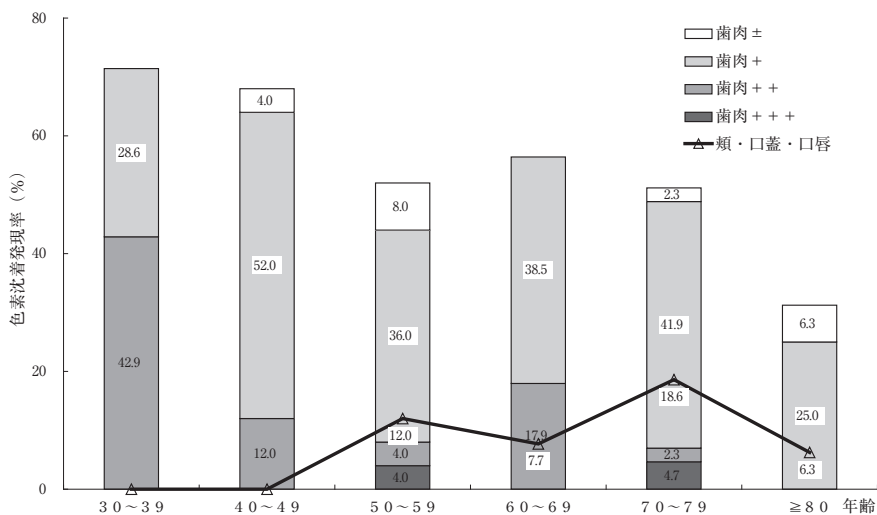


図5 年齢別にみた色素沈着発現率

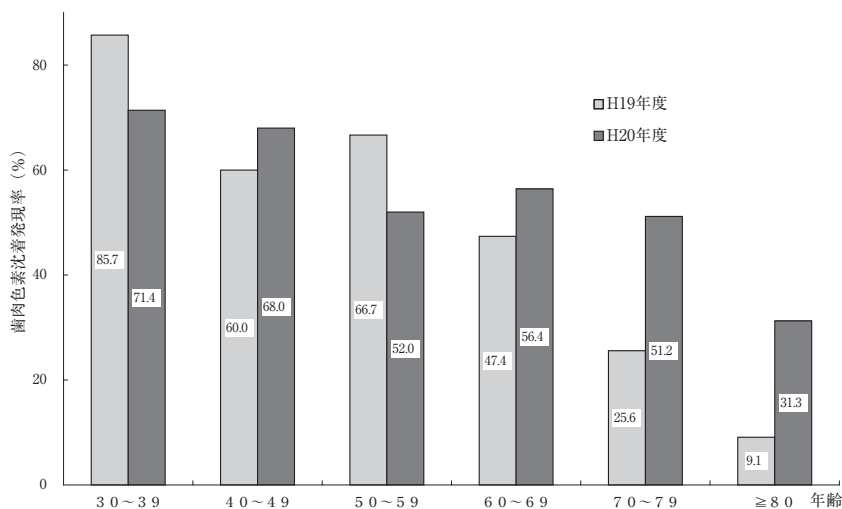


図6 平成19年度、20年度における年齢別にみた色素沈着発現率

検診方法

平成 20 年度の福岡県油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象として、問診、視診や X 線診（パントモグラフ）と同時に歯周ポケット診査を行った。歯周ポケット診査は Ramfjord が提唱している方法に準じて行った。すなわち、上顎右側第一大臼歯、上顎左側中切歯、上顎左側第一小臼歯、下顎右側第一小臼歯、下顎右側中切歯、下顎左側第一大臼歯を対象歯として、各歯牙の近心頬側歯肉溝に約 25 g の荷重下でポケット探針 PCP-11（Hu-Friedy 社）を挿入し、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 20 年度に歯科を受診した油症認定患者は男性 75 名、女性 80 名、計 155 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 81 名で、その内訳としては、歯肉腫脹、歯痛、歯肉出血といった歯周組織や歯髄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 148 名（男性 71 名、女性 77 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 129 名（87.2%）と高い割合を示した（表 3）。同様に 3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は、710 の総被検歯のうち 399 歯（56.2%）であり、男女共ほぼ同様の罹患率を示した（表 4）。一方、4 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は 74 歯（男性 48 歯、女性 26 歯）で、総被検歯に占める割合は 10.4%（男性 14.5%、女性 6.9%）と低かった。歯種別では、下顎左側第一大臼歯が 69.2% と最も罹患率が高く、次いで、下顎右側第一小臼歯、上顎左側第一小臼歯、上顎右側第一大臼歯、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 43% と高い値を示した（表 4）。年齢別にみると、50 歳代の患者の罹患率ももっとも低く 51.9% であったが、50 歳未満の患者では年齢が若いほど罹患率が高く、また 60 歳以上の患者では加齢と共に歯周ポケッ

ト罹患率の増加が認められた（図 1）。平成 20 年度の歯牙残存率と歯周ポケット発現率について平成 19 年度と比較すると、歯牙残存率にはほとんど変化がみられないのに対し、歯周ポケット罹患率は 50 歳以上 70 歳未満の患者以外は全ての年齢層で高い値を示し、特に 30 歳代や 70 歳以上の患者において顕著な増加が認められた（図 2）。歯種別にみると、下顎右側第一小臼歯や下顎左側第一大臼歯における罹患率は、平成 20 年度に比べて 10% 以上増加していたが、それ以外の歯種の増加は軽度であった（図 3）。また、歯種別の歯牙残存率をみると、加齢とともにいずれの歯種も歯牙残存率が低下することが明らかとなり、加えて各年代に共通して大白歯の喪失割合が他の歯種に比べて高い傾向にあることが示された（図 4）。

口腔粘膜に色素沈着を有する者は男性 51 名（68.0%）、女性 40 名（50.0%）、計 91 名（58.7%）で、男性の方が高い発現率を示した。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、口蓋、口唇の順で認められたが、程度別にみると + の色素沈着を有する患者が最も多かった（図 5）。年齢別にみると、50 歳未満の患者では 68.8% の発現率を示したのに対し、50 歳以上の患者では発現率は 56.1% とやや低い値を示した。歯肉以外の色素沈着に関しては、50 歳未満の患者では観察されなかった。一方、50 歳以上の患者においては頬粘膜、口蓋や口唇に色素沈着を有する者がそれぞれ 15 名、3 名、1 名認められたが、発現率は低かった（図 5）。色素沈着の発現率を平成 19 年度と比較すると、30 歳代と 50 歳代以外の患者における歯肉色素沈着発現率は高い値を示し、特に 70 歳以上の高齢者で発現率の大幅な増加が認められた（図 6）。

考 察

3 mm 以上の歯周ポケットを 1 歯でも有する者の割合および総被検歯に占める 3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙の割合は、いずれも平成 19 年の結果（それぞれ 81.7%、49.9%）に比べて高い値を示した。3 mm 以上の歯周ポケット罹患率を年齢別にみると、30 歳代の患者においても高齢者と同等の罹患率を示したことは興味深い。油症児童では骨の石灰化や発育の抑制がみられること⁶⁾や、PCB 投与ラットにおいて骨中のカルシ

ウム濃度が低下すること⁷⁾が報告されている。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。一方、歯種別にみると、平成19年度に比べて下顎左側第一大臼歯が約16%、下顎右側第一小臼歯が約13%の増加を示した。下顎第一大臼歯は最も早く萌出する永久歯であり、また、デンタルプラークの沈着が多く清掃も困難な部位である⁸⁾ことから、プラーク中の細菌が原因となり、高い罹患率を示したとも考えられる。小臼歯が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、各年代に共通して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、その結果咬合性外傷が生じ歯槽骨の吸収を惹起したのかもしれない。深さ4 mm以上の歯周ポケットの罹患率は低いことや前年度の罹患率は低かったことから、平成20年度にみられた歯周ポケット罹患率の増加の原因としてはデンタルプラークや咬合性外傷といった局所的な因子が挙げられ、PCBやPCDF中毒のような全身的因子は二次的に関与していると考えられる。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。

口腔内色素沈着の発現率は健常者に比して依然として高い値を示しており、PCBやPCDF等の作用によって色素沈着が発現すると考えられる。眼科や皮膚科領域では油症発症後経年的に色素沈着は減少していることが報告されている⁹⁾¹⁰⁾。口腔内色素沈着においても、油症発症早期に比較して++や+++を示す色素沈着の発現率は低下している。しかし、平成18年度の発現率(平均52.8%、男性60.4%、女性47.1%)や平成19年度の発現率(平均45.9%、男性54.2%、女性38.2%)に比べると、男性ならびに女性の両者とも発現率が増加していた。油症発症早期において、色素沈着部の歯肉搔爬術を行った2名の油症患者両者共に、1年以内に処置前と同様の色素沈着が再発したことが報告されている¹¹⁾。奥村ら¹²⁾は、口腔粘膜内のPCBやPCQ濃度は血中濃度に比べてそれぞれ約36倍、91倍と非常に高い値を示すことを報告している。口腔内に高濃度に蓄積した

PCB等によって、色素沈着の再発が生じた可能性も考えられる。ところで、50歳以上の患者のみに頬粘膜、口蓋や口唇の色素沈着が発現したことは興味深い。若年者は高齢者に比べてPCBやPCDF濃度が低いことも一因として考えられるが、その詳細については不明である。今後の検索が必要と考えられる。

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20年度油症一斉検診受診者を対象に口腔内診査を行い、以下の結果が得られた。

1. 油症患者の主訴としては歯周組織炎や歯髄炎が多く、色素沈着による審美障害の訴えはなかった。
2. 深さ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148名中129名(87.2%)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、710の総被検歯のうち399歯(56.2%)であったが、そのほとんどは深さ4 mm未満であった。
3. 口腔内色素沈着を有している患者は91名で、発現率は58.7%であった。部位としては、歯肉の色素沈着が最も多かった。傾向としては、女性より男性の発現率が高く、また高齢者に比較して若年者に多く認められた。歯肉以外の色素沈着は50歳以上の患者のみに認められた。

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のかもしれない。

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) 吉村健清: 油症児童・生徒の発育調査, 福岡医誌 62: 109-116, 1971.
 - 7) Yagi N, Kimura M and Itokawa Y: Sodium, potassium, magnesium and calcium levels in polychlorinated biphenyl (PCB) poisoned rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 516-519, 1976.
 - 8) Hall W and Douglass G: Plaque control, In Schluger S, Yuodelis RA and Page RC (eds): *Periodontal Disease*. pp. 344-369, Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.
 - 9) 本房昭三, 堀 嘉昭, 利谷昭治 旭 正一: 1989, 1990 年度の福岡県油症年次検診における皮膚症状, 福岡医誌 82: 345-350, 1991.
 - 10) 向野利彦, 大西克尚: 油症患者の眼症状, 福岡医誌 82: 342-344, 1991.
 - 11) 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.
 - 12) 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.
- (Received for publication March 25, 2009)

2005-2007 年度の福岡県年次検診における皮膚症状

¹⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

²⁾福岡大学医学部 皮膚科教室

³⁾産業医科大学 皮膚科学教室

⁴⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

三 苦 千 景¹⁾, 内 博 史¹⁾, 中 山 樹一郎²⁾,
旭 正 一³⁾, 古 江 増 隆¹⁾⁴⁾

Evaluation of Dermatological Symptom of Yusho Patients in the Annual Examination in 2005-2007

Chikage MITOMA¹⁾, Hiroshi UCHI¹⁾, Juichiro NAKAYAMA²⁾,
Masakazu ASAH³⁾ and Masutaka FURUE¹⁾⁴⁾

¹⁾Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin,
Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582, Japan

²⁾Department of Dermatology, Fukuoka University School of
Medicine, Fukuoka 814-0180, Japan

³⁾Department of Dermatology, University of Occupational and
Environmental Health, Kitakyushu 807-8555, Japan

⁴⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan

Abstract Yusho is recognized as a poisoning by a mixture of polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins and related compounds. We have continued a follow-up of skin symptoms in patients not only for supporting patients' health but also for understanding the possible prolonged effects of exposure to PCBs and dioxins in humans. We evaluated the severity grades and the skin severity scores of the symptoms who visited the annual examinations of Fukuoka prefecture from 2005 to 2007. Forty years have passed since the Yusho incident, and about 70% of the patients currently present no skin symptoms. In contrast, in about 30% of the patients, characteristic skin symptoms of Yusho, such as pigmentation of skin, black comedones and acneform eruptions, could still be observed. We analyzed statistical correlations between blood levels of PCBs or dioxin and skin severity grades.

はじめに

油症は Polychlorinated biphenyls (PCBs) と Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) による混合中毒である¹⁾。油症発生から5年が経過した1973年に患者血液中のPCB濃度の測定が開始された。2002年、全国の油症検診にてダイオキシン類濃度測定が開始し、血液中PCB濃度に加え、ダイオキシン類濃度と皮膚症状の関連性についても検討が始まった。これまでの検討では、皮膚症状

の一部と血液中総PCDFもしくは血液中PCB濃度と相関があることや²⁾、PCBパターンが油症特有のAパターンをとる患者の皮膚症状が重症で今なお広範囲に及ぶ傾向が報告されている³⁾。今回我々は2005-2007年度の福岡県油症検診の皮膚症状の推移を検討した。また、血液中PCB濃度、PCBパターン、ダイオキシン類濃度と皮膚症状の重症度との関連についても検討を加えたので報告する。

方 法

1. 2005-2007 年度皮膚科検診における皮膚症状の推移

- ①対象：2005-2007 年度に、福岡県（福岡市、北九州市、久留米市もしくは大牟田市）での油症一斉検診時に、皮膚科検診を行った。2005 年は受診者数 145 名（男性 59 名、女性 86 名）、2006 年は 161 名（男性 66 名、女性 95 名）、2007 年は受診者数 200 名（男性 91 名、女性 109 名）だった。
- ②検診項目：問診 4 項目（最近の化膿傾向、最近の粉瘤再発傾向、かつてのざ瘡様皮疹、かつての色素沈着）と他覚所見 5 項目（黒色面皰、ざ瘡様皮疹、癬痕形成、色素沈着、爪変形）を評価した。
- ③皮膚症状の評価：検診表の記述をもとに、認定患者の皮膚症状を皮膚重症度と重症度得点数の 2 つにスコア化した。皮膚重症度は、1969 年から用いている皮膚症状の評価方法で、重症度 0：皮膚症状なし、重症度 I：皮膚、爪、粘膜の色素沈着、重症度 II：黒色面皰、重症度 III：ざ瘡様皮疹、重症度 IV：以上の皮膚症状が高度かつ広範に分布、と分類する。さらに、それぞれの間で該当する症状を 0I、I II、II III、III IV として評価した。皮膚重症度得点数は 1976 年から使用し、皮膚症状の性質とそれらの占める面積の両者を評価している。

2. 2007 年度検診での皮膚症状と血液中 PCB パターンと PCB 濃度についての検討

- ①対象：2007 年度の皮膚科検診および血液中 PCB 濃度測定をともにうけた認定患者 148 名（男性 72 名、女性 76 名）を対象とし、1995 年度の 89 名の結果と比較した⁴⁾。また、検診を受診した未認定患者 30 名（男性 10 名、女性 20 名）の結果と比較検討した。
- ②血液 PCB パターン
PCB はクロマトグラフィーのパターンにより 4 つのタイプに分類される。A パターンは油症に特徴的なパターンであり、C パターンは一般人に見られるパターン、B および BC パターンはその中間に位置する⁵⁾。

3. 2007 年度検診での皮膚症状と血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度についての検討

- ①対象：2007 年度の皮膚科検診および血液中 2,3,4,7,8-PeCDF (PeCDF) 濃度測定をともにうけた認定患者 48 名（男性 27 名、女性 21 名）を対象とした。また、未認定患者 24 名（男性 8 名、女性 16 名）と比較検討した。

結 果

1. 2005-2007 年度の皮膚重症度の推移

Table 1 に、2005-2007 年度の認定患者の皮膚重症度を示す⁶⁾⁷⁾。2005 年度は 91 名、2006 年度は 118 名、2007 年度は 148 名が皮膚科検診を受診し、皮膚重症度 0 もしくは 0I の患者は、この 3 年では 64.8%、68.8%、72.9% と約 70% だった。一方、皮膚重症度 IV の患者は 2006 年 3 名 (2.5%)、2007 年 1 名 (0.7%) と少数ながら認められた。なお、油症発生翌年の 1969 年の検診では皮膚重症度 0 (11.6%)、I (24.7%)、II (25.6%)、III (24.7%)、IV (13.4%) と報告されており²⁾、その当時と比べると著しく重症度 0 の患者が増え、重症度 II 以上の油症特有の症状を有する患者は減少している。しかし、Table 1 に示すように最近 15 年では重症度の分布には大きな変化がない。皮膚症状がほとんどない患者と、今なお全身に油症特有の皮膚症状が残存する患者とに二極化される状況が続いている。

2. 2005-2007 年度の皮膚重症度得点数の推移

Table 2 に、2005-2007 年度の認定患者の皮膚重症度得点数の推移を示す³⁾⁶⁾。皮膚重症度得点数 0・1 の患者は、2005 年度 44 名 (48.4%)、2006 年度 81 名 (68.6%)、2007 年度 90 名 (60.8%) だった。年度により分布頻度に若干の違いが認められるも、この 3 年では得点数 3 点以下の患者が約 80% を占める一方で、得点数 8・9 点の患者が 1-2% 存在している。1993 年度と比較しても、この傾向に著しい変化はなかった。

3. 血液中 PCB パターンと皮膚重症度

Table 3 に 2007 年の認定患者の PCB パターン別皮膚重症度分布を示す。2007 年度は A 42 名 (28.4%)、B 46 名 (31.1%)、BC 14 名 (9.5%)、C 46 名 (31.1%) で、1995 年は順に 33.7%、23.

Table 1 Severity grades of skin symptoms in patients with Yusho from 2005-2007

Year	1993		1997		2005		2006		2007	
Severity grades	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%
0	41	58.8	34	54	43	64.8	68	68.6	66	72.9
0 I	7		13		16		13		42	
I	4	7.0	9	18.4	3	3.3	6	5.1	2	4.1
I II	2		7		0		0		4	
II	0	24.4	12	23.0	11	15.4	7	11.9	8	10.8
II III	21		8		3		7		8	
III	8	12.8	3	4.6	10	16.5	5	11.9	14	11.5
III IV	3		1		5		9		3	
IV	0	0	0	0	0	0	3	2.5	1	0.7
total	86		87		91		118		148	

Table 2 Skin severity scores of the symptoms in patients with Yusho from 2005-2007

	1993		2003		2005		2006		2007	
Skin severity scores	number	%	number	%	number	%	number	%	number	%
0-1	51	59.3	55	49.1	44	48.4	81	68.6	90	60.8
2-3	21	24.4	40	35.7	29	35.2	29	24.6	32	21.6
4-5	7	8.1	11	9.8	12	13.2	6	5.1	16	10.8
6-7	4	4.7	5	4.5	2	2.2	0	0.0	7	4.7
8-9	3	3.5	1	0.9	1	1.1	2	1.7	3	2.0
10-13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
total	86		112		91		118		148	

Table 3 PCB pattern of blood and severity grades of symptoms in patients with Yusho in 2007

Severity grades	0/0I	I/I II	II/II III	III/III IV	IV	total
PCB pattern						
A	28 (66.7%)	1 (2.4%)	6 (14.3%)	6 (14.3%)	1 (2.4%)	42
B	36 (78.3%)	2 (4.3%)	5 (10.9%)	3 (6.5%)	0 (0%)	46
BC	7 (50%)	2 (14.3%)	1 (7.1%)	4 (28.6%)	0 (0%)	14
C	37 (80.4%)	1 (2.2%)	4 (8.7%)	4 (8.7%)	0 (0%)	46

PCB pattern of blood and severity grades of symptoms in patients with Yusho in 1995

Severity grades	0	I	II	III	IV	total
PCB pattern						
A	14 (46.7%)	1 (3.3%)	8 (26.7%)	7 (23.3%)	0 (0%)	30
B	15 (71.4%)	3 (14.3%)	2 (9.5%)	1 (4.8%)	0 (0%)	21
BC	0 (0%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	2
C	22 (61.1%)	3 (8.3%)	8 (22.2%)	3 (8.3%)	0 (0%)	36

6%, 2.2%, 40.4%だったため⁴⁾, 分布にそれほど変化はない。2007年度は, 油症特有のパターンである A パターンの 66.7% の患者に皮膚症状はほとんどないが, B, C パターンの患者と比べてその割合は低く, 重症度 II 以上の油症特有の皮膚症状を有する患者の割合が高い。なお, BC パターンの患者の半数に皮膚症状を有し, 重症度 III 以上の患者が約 30% 認めるが, 患者数が 14 名と少なく, 今後の推移をみる必要がある。

4. 血液中 PCB 濃度と皮膚重症度

まず, 2007 年度の認定患者 148 名と未認定患者 30 名の血液中総 PCB 濃度をマン・ホイットニーの U 検定により比較した。認定患者の血液中 PCB 濃度は 1.895 ± 1.406 ppb (平均値 \pm 標準偏差), 未認定患者 30 名の血液中 PCB 濃度は 1.105 ± 0.806 ppb (平均値 \pm 標準偏差) であり, 有意に異なっていた ($P=0.002$)。

次に血液中 PCB 濃度と皮膚重症度との関連について検討した。認定患者を皮膚重症度 O/OI (108 名 男性 50 名, 女性 58 名) と皮膚重症度 I 以上 (I-IV, 40 名 男性 22 名, 女性 18 名) の 2 群にわけ, 2 群の血液中総 PCB 濃度をマン・ホイットニーの U 検定により比較した (Fig. 1)。皮膚重症度 O/OI 群の血液中 PCB 濃度は, 1.718 ± 1.230 ppb (平均値 \pm 標準偏差), 重症度 I-IV 群では, 2.389 ± 1.732 ppb (平均値 \pm 標準偏差) で, 2 群に有意差はなかった ($P=0.0520$)。

5. 血液中 PCB パターン, PCB 平均濃度と皮膚重症度得点数の年次推移

Table 4 に 2007 年の認定患者の PCB パターン別平均血液中総 PCB 濃度, 平均皮膚重症度得点数を示す。1993 年と 1997 年の結果を比較すると⁶⁾⁷⁾, A, B, BC, C いずれの血液 PCB パターン群において, 平均血液 PCB 濃度は低下しているが, 平均重症度得点数はほとんど変化がなかった。

6. 血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と皮膚重症度と皮膚重症度得点数

血液中 PeCDF 濃度と皮膚重症度, 重症度得点数との関連について検討した。認定患者 48 名の血液 PeCDF 濃度は, 60.008 ± 143.920 pg/g lipid (平均値 \pm 標準偏差) で, 検診を受けた未認

定患者 24 名の濃度は 15.607 ± 14.438 pg/g lipid (平均値 \pm 標準偏差) であり, 両者の PeCDF 濃度をマン・ホイットニーの U 検定で解析したところ, 有意に異なっていた ($P=0.0099$)。

Table 5 に皮膚重症度, 重症度得点数別の PeCDF 濃度の平均値, 最大値, 最小値, 標準偏差を示す。認定患者 48 名中, PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid 以上は 10 名, 100 pg/g lipid 以上は 6 名だった。なお, PeCDF 濃度が 150 pg/g lipid 以上の高値を示した 2 名はいずれも女性で, 1 名は 812.444 pg/g lipid で重症度 II III, 重症度得点数 7, 1 名は 626.669 pg/g lipid で重症度 IV, 重症度得点数 9 で, いずれも今なお皮膚症状が重症かつ広範囲に及ぶ状態だった。

次に皮膚重症度 O/OI (35 名, 男性 20 名, 女性 15 名) と皮膚重症度 I 以上 (I-IV, 13 名, 男性 7 名, 女性 6 名) の 2 群にわけ, 2 群の血液中 PeCDF 濃度をマン・ホイットニーの U 検定を用いて解析した (Fig. 2)。皮膚重症度 O/OI 群の PeCDF 濃度は, 30.845 ± 34.675 pg/g lipid (平均値 \pm 標準偏差), 皮膚重症度 I-IV 群は, 138.522 ± 261.841 pg/g lipid (平均値 \pm 標準偏差) で, 有意差はなかった ($P=0.0602$)。

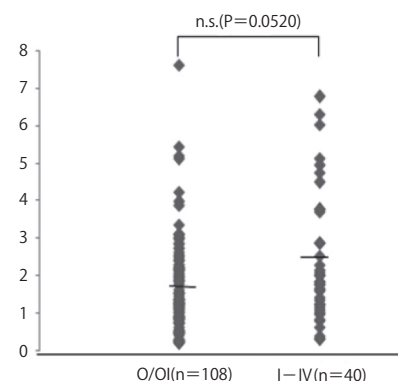


Fig. 1 Severity grades and blood levels of PCB (ppb)

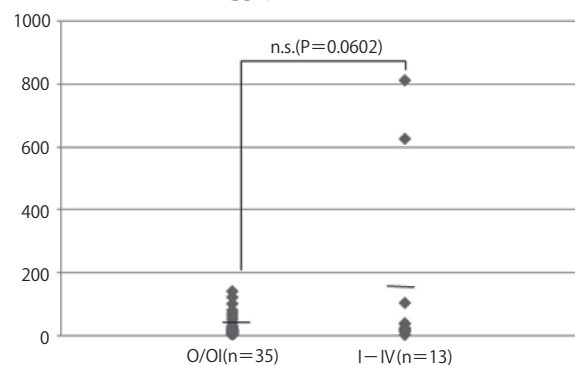


Fig. 2 Severity grades and blood levels of 2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)

Table 4 Blood PCB patterns, mean levels of blood PCB, and skin severity scores of patients with Yusho in 2007

PCB pattern	1993			1997			2007		
	number	mean of blood levels of total PCB (ppb)	mean of skin severity scores	number	mean of blood levels of total PCB (ppb)	mean of skin severity scores	number	mean of blood levels of total PCB (ppb)	mean of skin severity scores
A	37	7.03	2.27	36	3.49	2.29	42	2.83	2.60
B	21	4.22	1.43	20	2.68	1.05	46	1.73	1.21
BC	1	1.6	1	4	2.65	2	14	1.09	2.21
C	30	3.27	1.3	29	2.19	1.14	46	1.43	1.14
total	89	5.04	1.72	89	2.85	1.62	148	1.89	1.69

Table 5 Blood levels of 2,3,4,7,8-PeCDF and skin symptoms in patients with Yusho in 2007

Severity grades	number	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			
		mean	max	min	SD
0/OI	35	48.34553	142.4718	3.606936	39.28938
I/I II	1	39.28646	39.28646	39.28646	
II/II III	8	120.4333	812.4444	4.306122	321.1063
III/III IV	3	57.1219	105.6411	25.28926	42.69589
IV	1	626.6685	626.6685	626.6685	
total	48	60.008			

Skin severity scores	number	2,3,4,7,8-PeCDF (pg/g lipid)			
		mean	max	min	SD
0-1	33	32.09136	142.4718	3.724324	35.33553
2-3	8	21.07081	49.32593	4.306122	15.76296
4-5	5	42.73723	105.6411	18.36364	36.10198
6-7	1	812.4444	812.4444	812.4444	
8-9	1	626.6685	626.6685	626.6685	
10-13	0				
14-	0				
total	48	60.008			143.92

考 察

2005-2007年度の福岡県油症検診における皮膚科症状の推移を検討した。皮膚科検診受診者数は年々増加していた。皮膚症状は2003年、2004年度の報告と同様に⁶⁾、約70%の患者に症状をほとんど認めないが、約30%の患者には面皰やざ瘡様皮疹などの症状が残存する。油症皮膚症状の2極化が続いていた。皮膚重症度、重症度得点数の2つのスコアで評価したところ、ここ15年ほど明らかな改善傾向は認めなかった。ついで、皮膚症状と血液中PCBやダイオキシン類濃度との関連性を検討した。認定患者の平均血液中総PCB濃

度は1993年以降、徐々に低下しているが、PCBパターンの分布は1995年と比較して大差なかった。PCB Aパターンの患者群の平均血液中PCB濃度と重症度得点数が最も高い傾向があった。また、皮膚症状をほとんど認めない皮膚重症度O/OI群と、症状を認めるIからIV群に分け、2群の血液総PCB濃度、PeCDF濃度を統計学的に解析したが、有意差は認めなかった。前回の報告と同様に、油症患者の皮膚症状の改善傾向に鈍化がみられる状況が続いていた。油症発生40年が経過しており、油症症状に加齢に伴う影響が加わっており、今後も皮膚症状の推移を注意深く観察する必要がある。

参考文献

- 1) Nakayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oil used by patients with yusho. *Fukuoka Acta. Med.* 66 : 593-599, 1975.
- 2) Uenotsuchi T, Nakayama J, Asahi M, Takamichi O, Akimoto T, Muto M, Kiyomizu K, Katayama I, Kanagawa Y, Imamura T and Furue M : Skin symptoms in Yusho patients related to blood dioxin level. *Fukuoka Acta. Med.* 96 : 164-168, 2005.
- 3) Uenotsuchi T, Furue M, Nakayama J, Asahi M, Kanagawa Y and Imamura T : Evaluation of dermatological symptoms of Yusho patients in the annual examination in 2003-2004. *Fukuoka Acta. Med.* 96 : 216-219, 2005.
- 4) Nakayama J, Hori Y, Toshitani S and Asahi M : Dermatological findings in the annual examination of the patients with Yusho in 1995-1996. *Fukuoka Acta. Med.* 88 : 236-239, 1997.
- 5) Masuda Y : Health status of Japanese and Taiwanese after exposure to contaminated rice oil. *Environ. Health Perspect.* 60 : 321-325, 1985.
- 6) Nakayama J, Hori Y, Toshitani S and Asahi M : Dermatological findings in the annual examination of the patients with Yusho in 1993-1994. *Fukuoka Acta. Med.* 86 : 277-281, 1995.
- 7) Nakayama J, Toshitani S, Asahi M and Furue M : Evaluation of dermatological symptoms of Yusho patients in the annual examination in 1997-1998. *Fukuoka Acta. Med.* 90 : 277-281, 1999.

(Received for publication March 26, 2009)

油症認定患者血清中抗 SS-A 抗体, 抗 SS-B 抗体の検討

¹⁾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

²⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

穂山 雄一郎¹⁾²⁾, 小川 文秀¹⁾, 清水 和宏¹⁾, 佐藤 伸一¹⁾

Estimation of Anti-SS-A Ab and Anti-SS-B Ab in the Serum of Yusho Victims

Yuichiro AKIYAMA¹⁾²⁾, Fumihide OGAWA¹⁾, Kazuhiro SHIMIZU¹⁾ and Shinichi SATO¹⁾

¹⁾Department of Dermatology, Nagasaki University School of Medicine, 1-7-1,
Sakamoto, Nagasaki 852-8501, Japan

²⁾Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin,
Kyushu University Hospital, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, 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. Furthermore, oxidative stress contributes to the generation of autoantibodies because of oxidative modification. In order to estimate the autoantibody in Yusho victims, we measured serum levels of anti-SS-A antibody (Ab) and anti-SS-B Ab both in certified Yusho victims and age-matched controls. The mean values of anti-SS-A Ab were 4.0 ± 17.1 (Index) in certified Yusho victims and 0.7 ± 0.5 (Index) in controls. And the mean values of anti-SS-B Ab were 7.4 ± 4.6 (Index) in certified Yusho victims and 5.6 ± 1.7 (Index) in controls. Although the occurrence rates of anti-SS-A Ab and anti-SS-B Ab were high in Yusho victims, there were no significant difference between Yusho victims and controls.

はじめに

1968年のカネミ油症事件発生後40年以上経過し、初期に認められた激しい症状は消退傾向にあるが、今でもご瘡様の皮膚症状、咳や痰などの呼吸器症状、しびれや頭重などの神経症状、全身倦怠感などの全身症状など多彩な症状で悩まされている。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いる。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¹⁾、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 が有意に高いこと²⁾、また酸化ストレスに対する防御能を知る目安となる Total Antioxidant Power 値が油症患者血清において有意に上昇していることを報告している³⁾。すなわち油症は慢性酸化ストレス状態であると考えられる。酸化ストレスは自己抗原を酸化修飾し免疫寛容 (トレランス) が導入されていない抗原エピトープを自己抗原上に露出させる事によって自己免疫反応を誘導する事が知られている。今回我々は、アポトーシスにより発現される自己抗原として頻度が高いと報告されている Sjögren's syndrome (SS)-A, SS-B を選択し、それに対する自己抗体である抗 SS-A 抗体, 抗 SS-B 抗体の発現頻度を油症患者血清にて検討した。

研究方法

1. 抗 SS-A 抗体価測定

- ①対象：2006 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 57 名を対象とした。検診時に採血を行い，血清を分離後凍結保存した。年齢を合致させた健常人 20 名を対照とした。
- ②血清中抗 SS-A 抗体測定：測定は MBL 社の MESACUP-2 テスト SS-A (ELISA kit) を使用し測定した。

2. 抗 SS-B 抗体価測定

- ①対象：2007 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 56 名を対象とした。検診時に採血を行い，血清を分離後凍結保存した。年齢を合致させた健常人 21 名を対照とした。
- ②血清中抗 SS-B 抗体測定：測定は MBL 社の MESACUP-2 テスト SS-B (ELISA kit) を使用し測定した。

3. 統計的処理

それぞれの計測値をもって Mann-Whitney's U test にて検討した。

研究結果

1. 抗 SS-A 抗体価測定結果

平均年齢は油症患者 70.3 ± 9.7 歳，健常人 67.0 ± 11.6 歳で有意差を認めなかった。油症患者血中抗 SS-A 抗体値は 4.0 ± 17.1 (Index)，健常人では 0.7 ± 0.5 (Index) で有意差は認めなかった。また，抗 SS-A 抗体陽性度をもとにした分割表分析においても有意差を認めることは出来なかった。(図 1，表 1)

2. 抗 SS-B 抗体価測定結果

平均年齢は油症患者 70.7 ± 10.4 歳，健常人 69.3 ± 10.6 歳で有意差を認めなかった。油症患者血中抗 SS-B 抗体値は 7.4 ± 4.6 (Index)，健常人では 5.6 ± 1.7 (Index) で有意差は認めなかった。また，抗 SS-B 抗体陽性度をもとにした分割表分析においても有意差を認めることは出来なかった。(図 2，表 2)

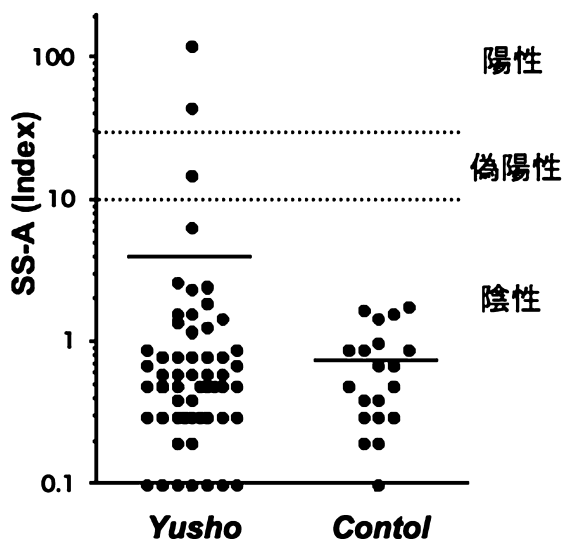


図 1 油症患者血清中の抗 SS-A

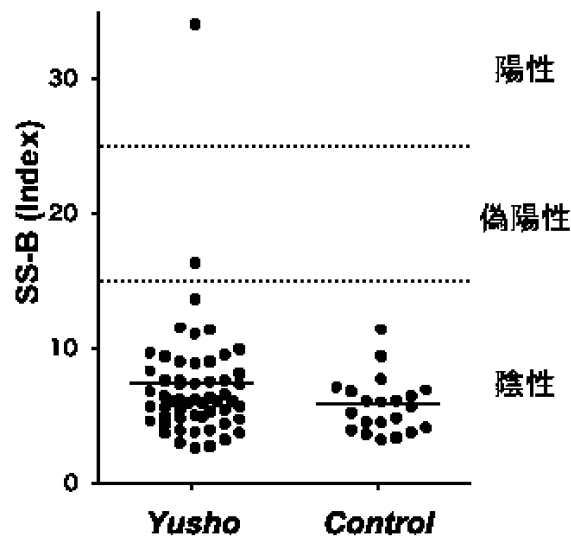


図 2 油症患者血清中の抗 SS-B

表 1 抗 SS-A 抗体陽性率における比較

	判定			合計
	陰性	偽陽性	陽性	
油症患者	54	1	2	57
健常人	20	0	0	20
合計	74	1	2	77

表 2 抗 SS-B 抗体陽性率における比較

	判定			合計
	陰性	偽陽性	陽性	
油症患者	54	1	1	56
健常人	21	0	0	21
合計	75	1	1	77

考 察

抗 SS-A 抗体の対応抗原である SS-A は細胞質に局在する 60kDa の蛋白と hY1-5 とよばれる低分子 RNA が結合した複合体である。臨床的にはその名前の如く抗 SS-A 抗体はシェーグレン症候群や全身性エリテマトーデスに高頻度に見つかり強皮症や皮膚筋炎にも認められる⁴⁾。一方、抗 SS-B 抗体は 5SrRNA やウイルス由来 RNA が結合した RNA-蛋白複合体と結合し、対応する SS-B 抗原蛋白は 50kDa とされている。臨床的にはその名前の如く抗 SS-B 抗体はシェーグレン症候群に特異性が高く、全身性エリテマトーデスにも認められる事が多い⁴⁾。今回我々は油症が慢性酸化ストレスである事より、長期に酸化修飾を受けて自己免疫反応が誘導されているのではないかとの仮説をたて、対象とする自己抗原として SS-A, SS-B を選択し抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体の出現頻度を油症患者血清にて検討した。しかしながら油症患者において抗 SS-A 抗体、抗 SS-B 抗体ともに出現頻度は高いものの健常人との間に有意差を認めることはできなかった。我々は代謝過程で superoxide の発生が報告されている PCB の血中濃度が高い油症患者において、慢性酸化ストレス状態であることを油症患者尿中 8-Isoprostane の高値により確認している²⁾。即ち油症において高 PCB 血症が持続する限り酸化修飾は今後も継続していくと考えられ、自己抗体

が出現する確率はあがっていくものと推察される。また抗 SS-A 抗体・抗 SS-B 抗体は疾患特異性が高いため、油症患者においてシェーグレン症候群や全身性エリテマトーデス等、自己免疫疾患の発生する可能性も念頭に置かねばならず今後油症患者において嚴重なるフォローアップが重要と考えられる。

参 考 文 献

- 1) 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.
- 2) Shimizu K, Ogawa F, Thiele JJ, Bae S and Sato S : Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning with polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. *J Appl Toxicol* 27 : 195-197, 2007.
- 3) Shimizu K, Ogawa F and Sato S : [Estimation of total antioxidant power in the serum of Yusho victims]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 98 : 141-142, 2007.
- 4) Akizuki M and Okano T : [Clinical significance of anti-SSA/Ro antibodies and anti-SSB/La antibodies assay]. *Nippon Rinsho* 48 Suppl : 501-504, 1990.

(Received for publication March 12, 2009)

油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎有病率と血清 IgE 値に関する研究

¹⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

内 博 史¹⁾, 古 江 増 隆¹⁾²⁾

Prevalence of Atopic Dermatitis and Serum IgE of Yusho Patients

Hiroshi UCHI¹⁾ and Masutaka FURUE¹⁾²⁾

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

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

Abstract Dioxins may have impact on the human immunological system, which would increase the risk to develop allergic diseases, such as atopic dermatitis. In order to determine the lifetime prevalence of atopic dermatitis in Yusho patients, a questionnaire-based survey was conducted in 2007. Six hundred and thirty-eight out of 731 certified yusho patients answered the questionnaires, and the prevalence of atopic dermatitis in Yusho patients was 8.8%. We also measured serum IgE in 83 certified and 98 non-certified Yusho patients who attended an annual medical check-up in 2007. Mean serum levels of IgE in certified Yusho patients were 386.2 ± 1128.0 IU/ml, whereas those in non-certified Yusho patients were 272.1 ± 603.6 IU/ml. There was no significant difference in serum levels of IgE between certified and non-certified Yusho patients. In addition, no significant correlation was observed between serum levels of IgE and blood levels of dioxins in certified Yusho patients.

はじめに

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

方 法

1. アンケート調査

平成 19 年度に油症認定患者 731 名に対してアトピー性皮膚炎有病率に関するアンケート調査を行った。アンケートは郵送で行い「これまでにアトピー性皮膚炎と医師に診断されたことがあるか」および「診断された時期」を尋ねた。回答が得られなかった場合は油症相談員が直接電話で同じ質問を行った。質問に「はい」と答えた患者の割合を生涯有病率とした。アンケート用紙を郵送した 731 名のうち、523 名より回答を得た。その中で 433 名が患者本人による回答であり、90 名が家族による回答であった。回答を得られなかった 208 名に油症相談員が電話によるインタビューを行い 115 名から回答を得、93 名が回答を拒否した。

データの解析はいずれかの方法で回答を得られた638名について行った。

2. 非特異的 IgE, 特異的 IgE 測定

平成 19 年度に油症検診受診者の中から同意を得られた認定患者 83 名, 未認定患者 98 名を対象に採血を行い, 血清中の非特異的 IgE およびヤケヒョウヒダニ, カンジダ, スギ, 卵白特異的 IgE を測定し, 平均値を t 検定により比較した. また血中ダイオキシン類濃度との相関を回帰分析により検討した.

結 果

638 名のうち男性は 315 名, 平均年齢は 59.4 ± 14.6 歳, 女性は 323 名, 平均年齢は 61.8 ± 14.9 歳であった. 638 名のうち 56 名 (8.8%; 男性 22 名, 女性 34 名) がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると回答した. 年齢・性別による油症患者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率を表 1 に示す. 40 代をのぞいて女性が男性より高い有病率を示した. 年齢別では 20 代で 25% と最も高く,

次いで 60 代で 11.7%, 40 代で 9.8%, 70 代で 6.9% の順であった. 56 名のうち 33 名が診断時期についても回答し, 10 名が 20 年以内, 23 名が 20 年以上 40 年未満で, 油症発症以前にアトピー性皮膚炎を発症したものはなかった.

血清 IgE を測定した認定患者 83 名のうち男性は 37 名, 女性は 46 名, 平均年齢は 58.7 ± 14.4 歳, 未認定患者 98 名のうち男性 38 名, 女性 60 名, 平均年齢は 55.5 ± 18.6 歳であった. 認定患者と未認定患者の血中ダイオキシン類濃度を表 2 に示す. 認定患者の血中ダイオキシン類濃度は, 未認定患者より有意に高値であった. 血清 IgE 値の比較では, 表 3 に示すように非特異的 IgE 値の平均は認定者で 386.2 ± 1128.0 IU/ml, 未認定者で 272.1 ± 603.6 IU/ml と有意差を認めなかった. 特異的 IgE 値の比較でもヤケヒョウヒダニ, スギ, カンジダ, 卵白いずれも認定者と未認定者の間に有意差を認めなかった. 年齢別に分けた非特異的 IgE 値の検討でも (表 4), 認定者, 未認定者の間に有意差を認めなかった. また認定者における血中ダイオキシン類濃度と血清 IgE 値の間に相関を認めなかった (表 5).

表 1 油症認定患者におけるアトピー性皮膚炎生涯有病率

Age groups	AD patients			Number of participants			Prevalence (%)		
	Men	Women	Total	Men	Women	Total	Men	Women	Total
30s	5	5	10	26	14	40	19.2	35.7	25.0
40s	7	7	14	69	74	143	10.1	9.5	9.8
50s	1	4	5	69	59	128	1.5	6.8	3.9
60s	6	8	14	59	61	120	10.2	13.1	11.7
70s	2	7	9	62	68	130	3.2	10.3	6.9
80s	1	3	4	27	44	71	3.7	6.8	5.6
90s	0	0	0	3	3	6	0	0	0
Total	22	34	56	315	323	638	7.0	10.5	8.8

表 2 認定患者と未認定患者における血中ダイオキシン類濃度の比較 (pg/g lipid)

Registered	1,2,3,7,8-	1,2,3,6,7,8-	2,3,4,7,8-	1,2,3,4,7,8-	1,2,3,6,7,8-	3,3',4,4',5',5'-
	PeCDD	HxCDD	PeCDF	HxCDF	HxCDF	HxCB
mean	8.42	33.04	72.26	22.38	10.37	138.1
SD	5.37	33.00	123.1	66.90	20.02	129.2
min	1.40	6.53	3.61	1	1	13.2
max	31.64	242.4	812.4	562.1	166.6	731.0
Unregistered						
mean	6.47	18.59	14.39	3.24	3.81	74.04
SD	3.25	9.34	8.80	2.25	2.49	65.70
min	0.5	3.61	1.16	1	1	5
max	17.94	48.86	40.69	12.18	13.37	364.8
P	0.004	0.0002	0.00005	0.011	0.004	0.00008

表3 認定患者と未認定患者での非特異的・特異的血清 IgE 値の比較 (IU/ml, UA/ml)

Registered	Total IgE	D. pteronyssinus	Crder	Candida	Egg white
mean	386.2	5.29	5.34	0.60	0.34
SD	1128.0	14.50	16.53	0.95	0.016
min	5	0.34	0.34	0.34	0.34
max	9520	90.8	101	5.73	0.48
Unregistered					
mean	272.1	7.58	4.59	0.44	0.35
SD	603.6	20.89	11.75	0.83	0.060
min	5	0.34	0.34	0.34	0.34
max	4990	101	80.1	8.57	0.8
P	0.41	0.39	0.73	0.24	0.25

表4 各年齢群での認定患者と未認定患者における非特異的 IgE 値の比較 (IU/ml)

Registered	< 30	40s	50s	60s	> 70	Total
mean	391.9	215.7	885.3	250	208	386.2
SD	432.9	442.9	2223	362	342	1128.0
min	32.7	16.2	6.6	5	7	5
max	1190	2020	9520	1210	1230	9520
n	6	20	19	16	22	83
Unregistered						
mean	347.2	522	294.4	125	163	272.1
SD	484	1354	502.3	173	254	603.6
min	5	5	20.4	5	5	5
max	1610	4990	2030	656	1250	9520
n	22	13	19	14	30	0.41
P	0.83	0.44	0.272	0.23	0.61	98

表5 認定患者における各ダイオキシン類と非特異的 IgE 値との相関

	2,3,7,8- TCDD	1,2,3,7,8- PeCDD	1,2,3,4,7,8- HxCDD	1,2,3,6,7,8- HxCDD	1,2,3,7,8,9- HxCDD	1,2,3,4,6,7,8- HpCDD	OCDD
R2	0.01	0.0025	0.0005	0.022	0.001	0.0026	0.0004
P	0.36	0.66	0.84	0.18	0.78	0.65	0.87
y-intercept	350.5	240.7	300.2	205.9	254.0	330.0	260.0
gradient	-47.0	4.72	-7.02	2.23	6.81	-1.06	0.027
	2,3,7,8- TCDF	1,2,3,7,8- PeCDF	2,3,4,7,8- PeCDF	1,2,3,4,7,8- HxCDF	1,2,3,6,7,8- HxCDF	2,3,4,6,7,8- HxCDF	1,2,3,4,6,7,8- HpCDF
R2	0.0009	2.5E-6	0.0093	0.034	0.024	0.0085	0.012
P	0.79	0.99	0.39	0.10	0.16	0.42	0.33
y-intercept	296.0	280.3	251.3	248.6	239.3	332.8	239.8
gradient	-14.9	-0.62	0.39	1.36	3.86	-43.9	7.58
	3,4,4',5'- TCB	3,3',4,4'- TCB	3,3',4,4',5'- PeCB	3,3',4,4',5,5'- HxCB			
R2	0.0005	0.0006	0.013	0.006			
P	0.85	0.82	0.31	0.49			
y-intercept	239.8	254.8	332.2	238.4			
gradient	7.58	4.31	-0.57	0.30			

考 察

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

今回の生涯有病率調査では、638名の油症認定患者のうち56名(8.8%)がアトピー性皮膚炎と診断されたことがあると回答した。過去に報告された日本での健常成人におけるアトピー性皮膚炎有病率調査では、アンケート調査による生涯有病率調査で平均2.9%⁵⁾、皮膚科医による検診によるもので平均6.9%⁶⁾の有病率と報告されている。調査の方法がそれぞれ異なるため直接の比較は不可能であるが、いずれも今回の油症認定患者における有病率を下回っている。また台湾油症におけるコホート調査でも患者群が健常群に比べ2倍の頻度で皮膚アレルギー症状を有していたと報告されており⁷⁾、ダイオキシン類がアトピー性皮膚炎発症に何らかの影響を及ぼしている可能性は否定できないと思われた。一方、アレルギー性疾患で高値を示すことが多い血清IgE値は、未認定患者と認定患者の間で有意差を認めなかった。また認定患者において、血中ダイオキシン類濃度と血清IgE値に相関を認めなかった。今回は症例数が少ないため、今後さらに症例数を増やし検討を行う必要がある。また、アトピー性皮膚炎の重症度と

相関するCC chemokine 17 (CCL17)や、AhRの活性化と相関するCCL5などのケモカイン、Th2、Th17サイトカインなど他のバイオマーカーと、ダイオキシン類濃度、アトピー性皮膚炎有病率との相関などを今後検討する必要があると考えられる。

結 論

ダイオキシン類の暴露により、アトピー性皮膚炎有病率が増加している可能性が示唆されたが、血清IgE値と血中ダイオキシン値との相関は認められなかった。

参 考 文 献

- 1) Ito T, Inoue K, Nohara K, Tohyama C and Fujimaki H : TCDD exposure exacerbates atopic dermatitis-related inflammation in NC/Nga mice. *Toxicol. Lett.* 177 : 31-37, 2008.
- 2) Takenaka H, Zhang K, Diaz-Sanchez D, Tsien A and Saxon A : Enhanced human IgE production results from exposure to the aromatic hydrocarbons from diesel exhaust: direct effects on B-cell IgE production. *J. Allergy Clin. Immunol.* 95 : 103-115, 1995.
- 3) Fujimaki H, Nohara K, Kobayashi T, Suzuki K, Eguchi-Kasai K, Tsukumo S, Kijima M and Tohyama C : Effect of a single oral dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on immune function in male NC/Nga mice. *Toxicol. Sci.* 66 : 117-124, 2002.
- 4) Negishi T, Kato Y, Ooneda O, Mimura J, Takada T, Mochizuki H, Yamamoto M, Fujii-Kuriyama Y and Furusako S : Effects of aryl hydrocarbon receptor signaling on the modulation of TH1/TH2 balance. *J. Immunol.* 175 : 7348-7356, 2005.
- 5) Muto T, Hsieh SD, Sakurai Y, Yoshinaga H, Suto H, Okumura K and Ogawa H : Prevalence of atopic dermatitis in Japanese adults. *Br. J. Dermatol.* 148 : 117-121, 2003.
- 6) Saeki H, Tsunemi Y, Fujita H, Kagami S, Sasaki K, Ohmatsu H, Watanabe A and Tamaki K : Prevalence of atopic dermatitis determined by clinical examination in Japanese adults. *J. Dermatol.* 33 : 817-819, 2006.
- 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.

(Received for publication March 19, 2009)

油症における末梢血リンパ球亜集団の検討

北九州津屋崎病院 内科

辻 博

Lymphocyte Subpopulations in Patients with Yusho

Hiroshi TSUJI

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

Abstract To investigate chronic immune effects of polychlorinated biphenyl (PCB) and polychlorinated dibenzofuran (PCDF), lymphocyte subpopulations in peripheral blood were studied in 156 patients with Yusho in 2008. Significant relationships between the concentrations of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) in the blood and the absolute densities of the total lymphocyte population, or of the T-cell subpopulation reactive with CD4 were observed, while there was no correlation between the blood PCB levels and the densities of total lymphocyte population, or CD4, CD8 or CD20 positive cells in peripheral blood. Mean absolute densities of total lymphocyte population and T-cell subpopulation expressing CD4 were significantly increased in the Yusho patients with high 2,3,4,7,8-PeCDF levels compared with those in the patients with low 2,3,4,7,8-PeCDF levels. We conclude that the increase of CD4 positive cells in patients with Yusho may be associated with blood 2,3,4,7,8-PeCDF levels.

はじめに

本邦において1968年4月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の毒性影響が大きいと考えられる¹⁾²⁾。PCDFは、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDD) およびコプラナー PCB とともにダイオキシン類と総称され、これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である³⁾。油症発生以来40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濃度が今なお高く血中PCBの組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される^{4)~6)}。2001年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され、油症患者では現在においても未だに血中PCDF濃度が高値であり、PCDFの体内残留が推測される⁷⁾。

最近、PCBおよびダイオキシン類が内分泌攪乱物質として正常なホルモン作用を攪乱し、生殖機能の障害、悪性腫瘍の発生、免疫能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている⁸⁾⁹⁾。油症における免疫機能影響については、1997年度の福岡県油症一斉検診において免疫グロブリンIgA、IgG、IgMのいずれか1分画以上の上昇を40.0%に、自己抗体では抗核抗体を45.6%と高率に認め、油症において液性免疫の障害を高頻度に認めることが報告されている¹⁰⁾。

今回我々は、2008年度福岡県油症一斉検診において末梢血リンパ球亜集団を測定し、油症原因物質であるPCDFの細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

対象および方法

2008年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者157例にアンケートによるインフォームドコンセントを実施し、末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた156例を対象者とした。

検診の内容は自覚症状、既往歴、家族歴、理学的所見、検尿、赤血球沈降速度、末梢血液検査、

血液生化学検査, 胸部レントゲン検査および心電図などよりなり, 採血は午前中の空腹時に行なった. 白血球はフローサイトメトリー法 (XE-2100, シスメックス社) により, リンパ球は鏡検法により測定した. リンパ球亜集団として helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞, suppressor/cytotoxic T 細胞を示す CD8 陽性細胞および B 細胞を示す CD20 陽性細胞を標識抗ヒトマウスモノクローナル抗体 (T4-FITC, T8-RDI および CD20-FITC, ベックマンコールター社) を用いたフローサイトメトリー法 (FACSCalibur フローサイトメーター, 日本ベクトン・ディッキンソン社) により測定した. リンパ球亜集団は, 総リンパ球に対する比率および絶対密度で表した.

また, PCB の測定は福岡県保健環境研究所, 福岡市保健環境研究所, 北九州市環境科学研究所および北九州生活科学センターで, 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) の測定は福岡県保健環境研究所で行なった. 血中 PCB 濃度は 2008 年度福岡県油症一斉検診において測定した 156 例の測定値を用いてリンパ球およびリンパ球亜集団との関連について検討した. 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2008 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2001 年度 2 例, 2002 年度 1 例, 2003 年度 3 例, 2004 年度 5 例, 2005 年度 9 例, 2006 年度 89 例, 2007 年度 26 例の計 135 例の測定値を用いてリンパ球およびリンパ球亜集団との関連について検討した.

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

結 果

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診し, 末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた油症患者 156 例の内訳は女性 81 例, 男性 75 例で, 平均年齢は 63.4 ± 13.5 (36 - 91) 歳であった. 血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.483$, $P < 0.001$) を, 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.407$, $P < 0.001$) を認めた.

油症患者 156 例について血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球, リンパ球亜集団との相関について検討した (Table 1). 血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球数の間に相関を認めなかった. 末梢血リンパ球亜集団については血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞数, CD8 陽性細胞数および CD20 陽性細胞数の間に相関をみなかった. また, 末梢血リンパ球亜集団の総リンパ球に対する比率についても血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞, CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかった.

次に, 血中 PCB 濃度 2.2 ppb 未満の 117 例を血中 PCB 低濃度群, 血中 PCB 濃度 2.2 ppb 以上の 39 例を血中 PCB 高濃度群として, 両群間のリンパ球, CD4 陽性細胞, CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞について検討を行なった (Table 2). 血中 PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は

Table 1 油症患者における血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球数, CD4 陽性細胞数, CD8 陽性細胞数および CD20 陽性細胞数の関連

	r
リンパ球	0.048
CD4 陽性細胞	0.108
CD8 陽性細胞	0.036
CD20 陽性細胞	- 0.054

Table 2 血中 PCB 低濃度群および高濃度群におけるリンパ球およびリンパ球亜集団

No.		PCB 濃度	
		< 2.2 ppb 117	≥ 2.2 ppb 39
リンパ球	(/μl)	1759.3 ± 533.7	1884.9 ± 483.1
CD4 陽性細胞	(/μl)	768.1 ± 262.5	873.6 ± 271.1 ^a
CD8 陽性細胞	(/μl)	521.7 ± 229.7	562.2 ± 217.3
CD20 陽性細胞	(/μl)	189.4 ± 106.6	187.7 ± 100.7

^aP < 0.05 vs. PCB 濃度 < 2.2 ppb

Table 3 油症患者における血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数, CD4 陽性細胞数, CD8 陽性細胞数および CD20 陽性細胞数の関連

	r
リンパ球	0.206 ^a
CD4 陽性細胞	0.186 ^a
CD8 陽性細胞	0.109
CD20 陽性細胞	0.147

^aP < 0.05.**Table 4** 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群および高濃度群におけるリンパ球およびリンパ球亜集団

No.		2,3,4,7,8-PeCDF 濃度	
		< 300 pg/g lipids 111	≥ 300 pg/g lipids 24
リンパ球	(/μl)	1708.4 ± 466.9	2039.1 ± 399.8 ^a
CD4 陽性細胞	(/μl)	759.1 ± 244.6	914.4 ± 250.2 ^b
CD8 陽性細胞	(/μl)	508.5 ± 201.6	581.0 ± 200.4
CD20 陽性細胞	(/μl)	176.1 ± 88.8	209.1 ± 113.1

^aP < 0.005 vs. 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 < 300 pg/g lipids, ^bP < 0.01 vs. 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 < 300 pg/g lipids.

1.12 ± 0.55 ppb, 血中 PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 3.31 ± 1.24ppb であった. 末梢血リンパ球数は両群間に差をみなかった. リンパ球亜集団では CD4 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 768.1 ± 262.5/μl に対し血中 PCB 高濃度群 873.6 ± 271.1/μl と有意の上昇を認めた (P < 0.05). CD8 陽性細胞, CD20 陽性細胞は両群間に差をみなかった. また, 血中 PCB 低濃度群および血中 PCB 高濃度群の CD4 陽性細胞, CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の総リンパ球に対する比率に差をみなかった.

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診し末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた油症患者 156 例中, 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 135 例について血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球, リンパ球亜集団の関連について検討した (Table 3). 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数の間に有意の正の相関を認めた (r=0.206, P < 0.05). 末梢血リンパ球亜集団については血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞数の間に有意の正の相関を認めた (r=0.186, P < 0.05). 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかった. また, 末梢血リンパ球亜集団の総リンパ球に対する比率については血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞, CD8 陽性細胞

および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかった.

次に, 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 300 pg/g lipids 未満の 111 例および 300 pg/g lipids 以上の 24 例について両群間のリンパ球, 末梢血リンパ球亜集団の検討を行なった (Table 4). 平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度はそれぞれ 69.5 ± 76.5 pg/g lipids, 537.6 ± 208.9 pg/g lipids であった. 末梢血リンパ球数は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 300 pg/g lipids 未満群 1708.4 ± 466.9/μl に対し 300 pg/g lipids 以上群では 2039.1 ± 399.8/μl と有意の上昇を認めた (P < 0.005). そして, 末梢血リンパ球亜集団では CD4 陽性細胞は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 300 pg/g lipids 未満群 759.1 ± 244.6/μl に対し 300 pg/g lipids 以上群では 914.4 ± 250.2/μl と有意の上昇を認めた (P < 0.01). CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞は両群間に差をみなかった. CD4 陽性細胞, CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の総リンパ球に対する比率は両群間に差をみなかった.

考 察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている. 油症発生 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において, 甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0

ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体を高濃度群の 41 例中 8 例 (19.5%) と低濃度群の 40 例中 1 例 (2.5%) に比べ高頻度に認めた¹¹⁾。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA, IgG, IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0% に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9% に、抗核抗体を 45.6% と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された¹⁰⁾。

今回の検討では血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかったが、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数、CD4 陽性細胞の間に相関が認められた。油症患者の末梢血リンパ球、helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加に 2,3,4,7,8-PeCDF の関与が示唆された。そして、血中 PCB 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められた。また、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 300 pg/g lipids 未満および 300 pg/g lipids 以上の患者の比較において 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞の増加を認めた。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者にみられるリンパ球の増加は helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加によるものと考えられ、CD4 陽性細胞の増加には血中 PCB 濃度に比べ血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の関与がより大きいと考えられた。そして、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められ、油症患者に高頻度にみられる免疫グロブリン上昇や自己抗体出現の原因となっている可能性が示唆された。油症発生以来 40 年が経過し、種々の亜急性中毒症状は軽快しているが、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では未だに helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞が増加していると考えられる。

今後は細胞性免疫機能検査としてフィトヘムアグルチニン (PHA) およびコンカナバリン A

(Con-A) などのマイトジェン刺激によるリンパ球幼若化反応を検討し油症原因物質である PCDF の慢性的影響について検討する必要があると考えられる。

総 括

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 156 例について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度および血中 PCB 濃度との関連について検討した。血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数、CD4 陽性細胞の間に相関を認め、油症患者の末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞の増加に 2,3,4,7,8-PeCDF の関与が示唆された。そして、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において低値の患者に比べ末梢血リンパ球、CD4 陽性細胞の増加を認めた。

参考文献

- 1) Masuda Y and Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance : A Review. *Amer J Ind Med* 5 : 31-44, 1984.
- 2) Oishi S, Morita M and Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 43 : 13-22, 1978.
- 3) Gonzalez FJ, Liu SY and Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : molecular mechanism. *Pharmacogenetics* 3 : 51-57, 1993.
- 4) 飯田隆男, 芥野岑男, 高田智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人 : ヒトの血液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) 増田義人, 原口浩一, 古野純典 : 油症患者における PCB 異性体の 30 年にわたる特異な残留. *福岡医誌* 94 : 136-143, 2003.
- 7) 飯田隆男, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和夫, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆 : 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年). *福岡医誌* 94 : 126-135, 2003.
- 8) Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP and Becker JL : Endometriosis in rhesus monk-

- eyes (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam. Appl. Toxicol.* 21 : 433-441, 1993.
- 9) Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y and Kato S : Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 423 : 545-550, 2003.
- 10) 辻博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏 : 油症患者における免疫機能の検討. *福岡医誌* 90 : 147-149, 1999.
- 11) 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.

(Received for publication March 26, 2009)

カネミ油症検診者の骨密度と PCB, PCQ, PCDF

¹⁾長崎大学医歯薬学総合研究科 保健学専攻

²⁾長崎大学 第一内科

吉村俊朗¹⁾, 中野治郎¹⁾, 栢田智子²⁾, 徳田昌紘²⁾,
榊原淳²⁾, 片岡英樹²⁾, 沖田実¹⁾

Bone Mineral Density, PCB, PCQ and PCDF in Yusho

Toshiro YOSHIMURA¹⁾, Jiro NAKANO¹⁾, Tomoko MASUDA²⁾, Masahiro TOKUDA²⁾,
Atsushi SAKAKIBARA²⁾, Hideki KATAOKA²⁾ and Minoru OKITA¹⁾

¹⁾Department of Health Sciences, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University

²⁾First Department of Internal Medicine, Nagasaki University School of Medicine

Abstract We measured bone mineral density of the distal end of radius with dual energy X-ray absorptiometry, serum cross-linked N-telopeptides of type I collagen, serum bone-specific alkaline phosphatase, serum Ca, serum P, blood PCB level, blood PCQ level and blood PCDF level in Yusho. As a result, the osteoporosis group (< 70% of the young adult mean [YAM] bone mineral density [BMD]) was observed in 7.1% of the studied male subjects. And, the moderate group (> or = 70% and < 80% of YAM BMD), 16.1%, the normal (> or = 80% of YAM BMD) group was 76.8%. Also, 42.3% of all female tested subjects observed in osteoporosis group. The moderate group, 19.2%, the normal group was 38.5%. There was no difference in PCB blood level, PCQ, PCDF for men and women in osteoporosis group, moderate group, and in the normal group. Serum cross-linked N-telopeptides of type I collagen increased in the male osteoporosis group, but serum bone-specific alkaline phosphatase did not change. This study was inconclusive since the results did not determine the influence that PCB, PCQ, PCDF gave to bone density and bone metabolism.

はじめに

近年、PCBやダイオキシンは骨代謝に影響を及ぼしうることが報告されており¹⁾、カネミ油症検診者においても骨粗鬆症の合併の可能性が指摘されている。しかしながら、諸家ら²⁾³⁾の見解は一定ではないため、さらに検討を加えてカネミ油症における骨粗鬆症と PCB 等の因果関係を明らかにしていく必要がある。そこで今回、カネミ油症検診者での骨密度の変化、骨吸収の指標となる I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (type I collagen cross-linked N-telopeptide : 以下, NTX) と骨形成の指標となる骨型アルカリフォスファターゼ (bone-alkaline phosphatase : 以下, BAP) を測定し、カネミ油症検診者での骨密度と骨代謝の影響を検討したので報告する。

対象と方法

1. 対象

2007年の長崎県カネミ油症検診者のうち、以下に述べる骨密度・代謝に関連する項目が測定できた160名(男性:56人,年齢中央値63歳,33歳~86歳;女性:104人,年齢中央値69歳,37歳~85歳)を対象とした。

2. 測定と方法

1) 骨密度の測定と分類

2007年の長崎県カネミ油症検診において、dual energy X-ray absorptiometry : 以下, DPX) 方式の骨密度 (bone mineral density : 以下, BMD) 測定検査を行い、検査部位は橈骨遠位端とした。そして、若年成人平均値 (young adult mean : 以下, YAM) に対する相対的な割合を算出し (以下,

YAM%), YAM% が 80% 以上の対象者を正常群, YAM% が 70% 以上 80% 未満の対象者を骨量減少群, YAM% が 70% 未満のものを骨粗鬆症群として分類した.

2) 血中 PCB・PCQ・PCDF 濃度の測定

1995 年から 2007 年までの長崎県カネミ油症検診で得られた対象者の血清を用い, 吸光分析によるガスクロマトグラフィー法による血中 PCB, PCQ, PCDF 濃度の測定を長崎または福岡の公害衛生研究所で行った. そして 1995 年から 2007 年までの血中 PCB, PCQ 濃度の値を平均し, その値を採用した. また血中 PCDF 濃度に関しては 2002 年の値を採用した.

3) 骨代謝マーカーと関連物質の測定

2007 年の長崎県カネミ油症検診で得られた対象者の血清を用い, ELISA 法による血清 NTX, BAP 値の測定を行った. 加えて, オルトクレゾールフタレインコンプレクソン (OCPC) 法による Ca の測定, モリブデン酸直接法による無機 P の測定を行った.

なお, 血清を用いた各項目の測定は, 通常の検診にて用いる血清を使用し, 西日本 SRL 社にて行った. また, 対象者に対する採血項目の説明は紙面で通知した.

3. 統計処理

血中 PCB, PCQ, PCDF 濃度, 血清 NTX, BAP 値, 血中 Ca, P 濃度について YAM% を基準に分類した骨粗鬆症群, 骨量減少群, 正常群の 3 群間の比較を男性と女性に分けて行った. 統計手法としては一次分散分析法を適用し, 有意差を認めた場合にはさらに Bonferroni 法による 2 群間の比較を行った. なお, すべての統計手法とも有意水準は 5% 未満とした.

結 果

男性では骨粗鬆症群は全受診者の 7.1% であり, 骨量低下群は 16.1%, 正常群は 76.8% であった. また, 女性では骨粗鬆症群は全受診者の 42.3% であり, 骨量低下群は 19.2%, 骨量正常群は 38.5% であった.

各群の血中 PCB 濃度は, 男性では骨粗鬆症群

が 3.1 ± 2.7 ppb, 骨量減少群が 3.2 ± 2.3 ppb, 正常群が 2.4 ± 2.1 ppb, 女性では骨粗鬆症群が 3.1 ± 2.7 ppb, 骨量減少群が 3.2 ± 2.3 ppb, 骨量正常群が 2.4 ± 2.1 ppb であり, 男女とも各群間の差は認められなかった (Fig. 1). また血中 PCQ 濃度は, 男性では骨粗鬆症群が 0.1 ± 0.2 ppb と, 骨量減少群が 0.2 ± 0.3 ppb, 骨量正常群が 0.6 ± 2.3 ppb, 女性では骨粗鬆症群が 0.5 ± 0.8 ppb, 骨量減少群が 0.3 ± 0.3 ppb, 正常群が 0.2 ± 0.3 ppb であり, 各群間の差は認められなかった (Fig. 2). 血中 PCDF 濃度の結果も血中 PCB, PCQ 濃度と同様に男女とも各群間の差は認められなかった (Fig. 3).

骨吸収の指標として測定した血清 NTX 値は, 男性の骨粗鬆症群が正常群より有意に高値を示したが, 男性の骨粗鬆症群はばらつきが大きかった (Fig. 4). 骨形成の指標として測定した血清 BAP 値は, 男女とも各群間に差は認められなかった (Fig. 5). その他, 血中 Ca, P 濃度においても, 各群において有意な差を認めなかった (Fig. 6, Fig. 7).

考 察

カネミ油症検診者では, 男性検診者の 7.1%, 女性検診者の 42.3% に骨粗鬆症が認められ, 骨量減少群は男性検診者の 16.1%, 女性検診者の 19.2% に認められた. しかし, カネミ油症検診者の骨粗鬆症群に血中 PCB, PCQ, PCDF 濃度, 血中 Ca, P 濃度の明らかな上昇または低下は認められなかった. 骨代謝の指標を見ると, 骨粗鬆症群の血清 NTX 値のみ正常群より有意に高値を示し, このことからカネミ油症検診者では骨吸収が促進している可能性が伺われた.

広島住民を対象に DXA 方式で骨密度を測定したデータによれば, 50 歳以上の女性の 24% が, 男性の 4% が骨粗鬆症であったと報告されている⁴⁾. これに対して今回の結果ではカネミ油症検診者の 30% に骨粗鬆症が認められ, 先行研究に比べやや高頻度であった. しかし, 今回は長崎住民を対象としたコントロールデータとの比較がなく, この点に関して今後の検討が必要である.

骨強度は, 骨密度と骨質の 2 因子で成り立つとされる. BMD は, 単位面積または単位体積あたりのミネラル量で表現され, あらゆるヒトの現在

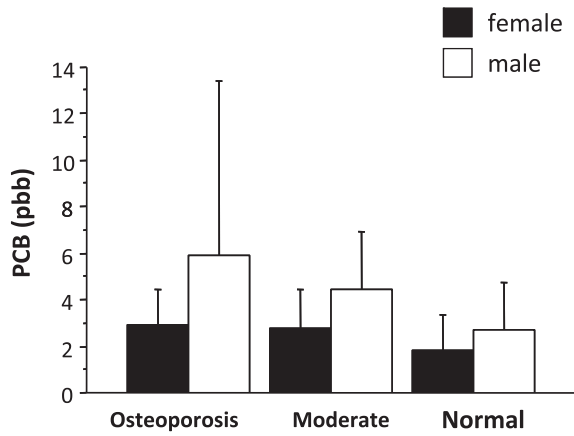


Fig. 1 Blood Levels of PCB in classification of YAM%
 Osteoporosis : YAM% < 70%, moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

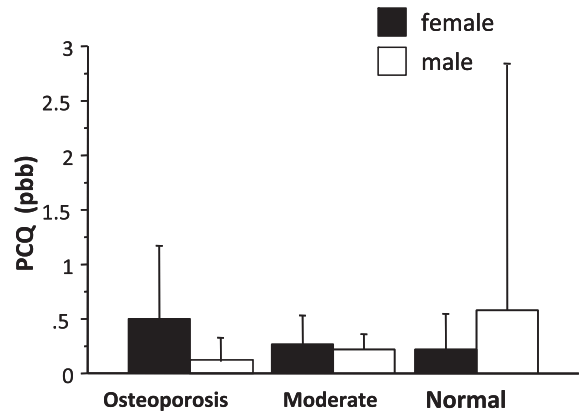


Fig. 2 Blood Levels of PCQ in classification of YAM%
 Osteoporosis : YAM% < 70%, Moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

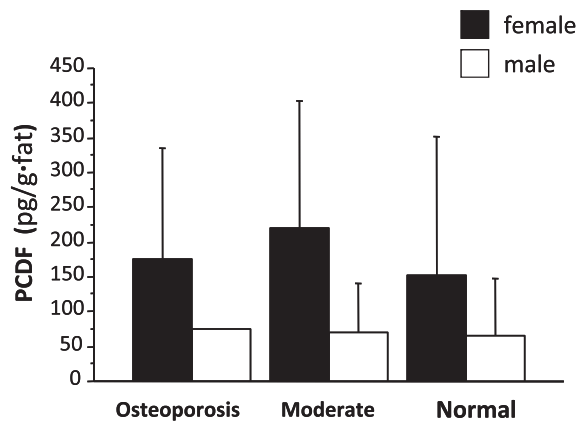


Fig. 3 Blood Levels of PCDF in classification of YAM%
 Osteoporosis: YAM% < 70%, Moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

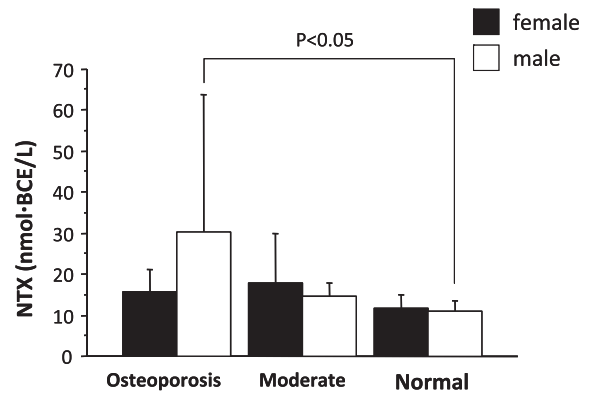


Fig. 4 Blood Levels of NTX in classification of YAM%
 Osteoporosis : YAM% < 70%, Moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

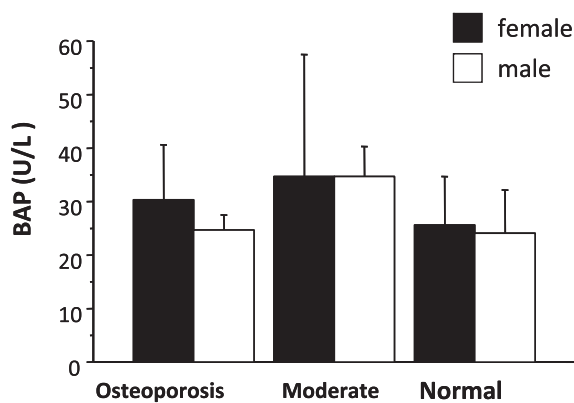


Fig. 5 Blood Levels of BAP in classification of YAM%
 Osteoporosis : YAM% < 70%, Moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

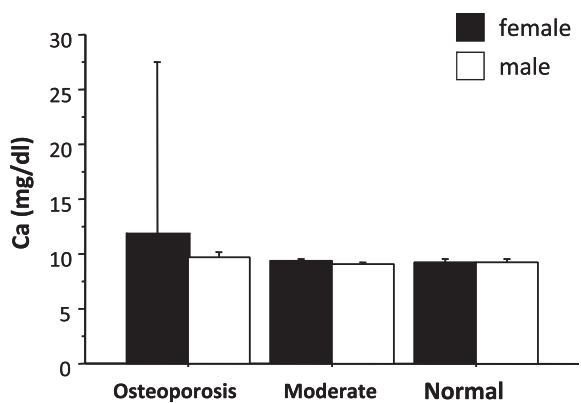


Fig. 6 Blood Levels of Ca in classification of YAM%
 Osteoporosis : YAM% < 70%, Moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

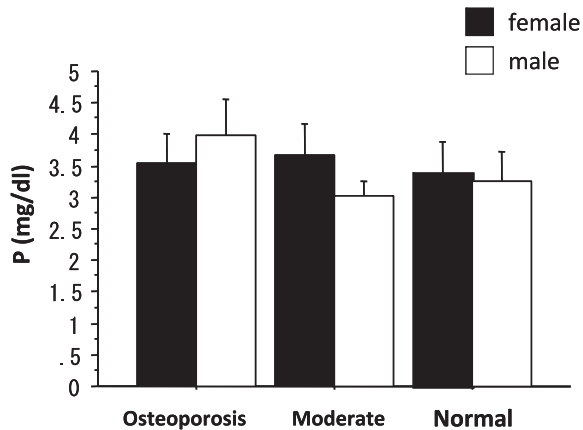


Fig. 7 Blood Levels of P in classification of YAM%
 Osteoporosis : YAM% < 70%, Moderate : 70% <= YAM% < 80%, Normal : YAM% >= 80% (mean ± SD)

の BMD はその個人のピーク骨量とそこからの減少速度で規定されている。一方、骨質とは、骨の微細構造、骨代謝回転、微小ダメージの蓄積、石灰化の程度およびコラーゲンなどの骨基質の特性により規定される⁵⁾。現時点では、骨質を数値的に比較的容易に示すことができるのは、生化学的骨代謝マーカーによる骨代謝回転の評価であり、これ以外での臨床的評価は煩雑さを伴うか十分なコンセンサスが得られていない。

骨の代謝とは、基本的に骨の破壊と新生により骨が入れ替わる新陳代謝を意味し、骨の破壊を骨吸収、骨の新生を骨形成という。骨代謝マーカーとは骨吸収と骨形成の状態を血液や尿を用いて評価する指標の総称である。骨吸収マーカーは骨吸収を担う破骨細胞機能を、また、骨形成マーカーは骨形成を担う骨芽細胞機能をそれぞれ反映する⁶⁾。

今回、測定した骨代謝マーカーとして、骨吸収マーカーは骨基質の主成分である I 型コラーゲンの分解産物である NTX を血清で測定した。NTX は生理的に日内変動があり、午前中に高値を呈しやすい⁷⁾。また、男女ともに骨密度が低い群は血清 NTX が高値を示し、また骨代謝が亢進している群では骨密度も低下し、骨折の危険が増す⁸⁾。今回の結果は、女性においては血清 NTX の上昇が観察されていない。この理由は不明だが、PCB などの影響があるのか今後検討する必要がある。

アルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase : 以下、ALP) は細胞膜に存在する糖蛋白質

で、アルカリ性の条件下 (pH 9~11) でリン酸エステルを無機リンおよびアルコールに分解する酵素である。この酵素は形成する遺伝子によって、小腸型、胎盤型、胎盤様型、臓器非特異型の 4 型に分類することができる。このうち、臓器非特異型は肝臓、腎臓、骨組織で多く産生され、それぞれの臓器特異的に糖鎖付の修飾を受けることから、アインザイムとして電気泳動などで分離可能である。また、骨組織に特異的に存在する ALP は BAP とも呼ばれ、細胞膜に存在し、ホスファチジルイノシトール (Phosphatidylinositol) を介して膜に結合している。本研究で骨形成マーカーとして測定した骨型 ALP、いわゆる BAP は骨芽細胞の機能を反映し、日内変動もなく血清中で比較的安定な値を呈する。

男性において骨密度と BAP の値との関係では一定の傾向はない⁹⁾。

今回の結果では、骨粗鬆症群ならびに骨量減少群に血清 BAP 値の上昇も低下も認められていないが、実験的に PCB は骨芽細胞分化を抑制することが報告されている¹⁾。加えて、本研究での対象者がより高齢者である要因も関係するが、骨粗鬆症の発症率は他の報告と比べ高率であり、今後、詳細な検討が必要である。

結 論

カネミ油症検診者において骨粗鬆症が高率に認められ、男性で骨吸収マーカーが増加していた。今のところ PCB との関係は明らかではないが、その影響に関しては今後の検討が必要である。

参考文献

- 1) Ramajayam G, Sridhar M, Karthikeyan S, Lavanya R, Veni S, Vignesh RC, Ilangovan R, Djody SS, Gopalakrishnan V, Arunakaran J and Srinivasan N : Effects of Aroclor 1254 on femoral bone metabolism in adult male Wistar rats. *Toxicology*. 241 : 99-105, 2007.
- 2) Côté S, Ayotte P, Dodin S, Blanchet C, Mulvad G, Petersen HS, Gingras S and Dewailly E : Plasma organochlorine concentrations and bone ultrasound measurements : across-sectional study in peri- and postmenopausal Inuit women from Greenland. *Environ Health*. 5 : 33, 2006.
- 3) Singh SU, Casper RF, Fritz PC, Sukhu B, Ganss B, Girard B Jr, Savouret JF and Tenenbaum

- HC : Inhibition of dioxin effects on bone formation in vitro by a newly described aryl hydrocarbon receptor antagonist, resveratrol. *J Endocrinol.* 167 : 183-195, 2000.
- 4) 藤原佐枝子, 増成直美, 児玉和紀ほか: 腰椎. 大腿骨骨塩量カットオフ値を使った骨粗鬆症有病率の検討, *Osteoporosis Jpn* 5 : 223-226, 1997.
 - 5) 西沢良記: 骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン. 1. 骨疾患における骨代謝マーカーの意義. *The Bone* 21 : 59-61, 2007.
 - 6) 太田博明: 骨代謝マーカーの運用に向けて. *臨床と薬物治療* 19 : 963-968, 2000.
 - 7) Greenspan SL, Dresner-Pollak R, Parker RA, London D and Ferguson L : Diurnal variation of bone mineral turnover in elderly men and women. *Calcif Tissue Int.* 60 : 419-423, 1997.
 - 8) Looker AC, Bauer DC, Chesnut CH 3rd, Gundberg CM, Hochberg MC, Klee G, Kleerekoper M, Watts NB and Bell NH : Clinical use of biochemical markers of bone remodeling : current status and future directions. *Osteoporos Int.* 11 : 467-480, 2000.
 - 9) Szulc P and Delmas PD : Biochemical markers of bone turnover in men. *Calcif Tissue Int.* : 229-34. 2001

(Received for publication April 1, 2009)

油症などにみられる PCB, PCDF の人体に対する毒性影響

第一薬科大学 健康化学教室

増 田 義 人

Toxic Effects of PCB/PCDF to Human Observed in Yusho and Other Poisonings

Yoshito MASUDA

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

Abstract Yusho PCB poisoning occurred in 1968, when the human environment had been polluted with PCBs and related compounds. The causal rice oil was contaminated with large amounts of PCBs and PCDFs by accidental leakage at the rice oil producing Kanemi Company on February 7–15, 1968. Much less concentrations of PCBs were identified in the rice oil produced and shipped from the Company before and after the critical days. Concentration trend of PCBs and TEQ in human body were examined for 40 years from 1968 to present. Concentrations in the blood of heavily exposed Yusho patients and normal Japanese were PCBs : 80 and 1.5 $\mu\text{g/g-fat}$, and TEQ : 60 and 0.1 ng/g-fat , respectively, in 1969, and decreased to PCBs : 1 and 0.2 $\mu\text{g/g-fat}$, and TEQ : 0.5 and 0.02 ng/g-fat , respectively, in 2007. PCBs and PCDFs have been persistently retained in human body for 40 years. Serious cases of Yusho and Yucheng having very high PCB, PCDF concentrations in blood have suffered from severe chloracne, pigmentation, eye discharge and others at the first stage and recovered very slowly with a lapse of several years. However, their hormone mediated signs and symptoms, such as high triglyceride and thyroxin levels in serum, disorder of immunoglobulin, goiter, decrease of sperm mobility, disorder of teeth and joints conditions, decrease of IQ score in children, headache and numbness, etc, are persisting for more than 30 years. The residents in East Slovakia who have been exposed to PCBs wasted from a PCB factory and have about 3 times higher blood PCB concentrations than the controls, have suffered from disorder of FT4 and T3 levels in serum, disorder of thyroid gland and thymus, dental defects in enamel developmental, hearing impairment at low frequency tone, tendency to diabetes and others. Residents in the Great Lakes area, USA, whose blood PCB levels are estimated to be higher than other places, have shown disorder of thyroid, T4, TSH levels, endometriosis, joint disorder, and low IQ score in children. The levels of PCBs and PCDFs in the blood of Yusho patients and Controls are compared to the normal levels of estradiol, testosterone and thyroxin. In the blood of Yusho patients, concentrations of single congeners of PCB118, PCB153, PCB156 and PentaCDF are high enough to disturb the hormonal effects. Blood PCB concentrations in normal Japanese are higher than the FT3 and FT4 levels, indicating hormonal disturbance will be easily produced. PCBs are metabolized to produce HO-PCBs, which bind to TTR and retain in blood medium. Blood HO-PCB concentrations in Yusho patients and normal persons are higher than the FT3, FT4 levels in serum. Therefore, the hormonal effects of thyroxin will be disturbed in Yusho and normal persons. As HO-PCB will be easily transferred to fetus through placenta, fetus development will be possible to be disturbed. In Yusho and other cases, PCBs and TEQ (PentaCDF, PCB118 etc) were ingested together and the strong enzyme inducers of PentaCDF and others have metabolized PCBs to HO-PCBs, which have retained in the blood. Complex reactions of PCDFs, PCBs and HO-PCBs have disturbed the hormonal effects and the induced symptoms and diseases would have been caused.

はじめに

日本のポリ塩化ビフェニル (PCB) 生産供給は 1954 年に始まり、生産量は年ごとに増加し 1970 年には 1 万 1 千トンに達したが、1972 年に PCB の生産と使用が同時に中止された。それまでの PCB 総供給量は約 6 万トンになった。その生産量の増加とともに我が国の PCB による環境汚染は相当に深刻なものになった。PCB は安定な化合物であり、分解されにくく、油脂に溶けやすい性質のために、廃棄された PCB は非常に長期間環境中に残留した。環境汚染の PCB はプランクトン、魚類、動物と連携する食物連鎖により汚染濃度は順次高くなった。魚介類などの食品を通して人体の PCB 体内汚染濃度も上昇し 1970 年ごろが最も高くなっていった¹⁾。PCB の生産と人体汚染が最も高くなる少し前の 1968 年に油症事件が起きた。油症は PCB 及び PCB の異常な加熱により生じたポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF)、ポリ塩化クオターフェニル (PCQ) などの混合物による中毒事件であることが判明した。油症では摂取された PCB、PCDF は体内に高濃度に蓄積され、その排出が非常に遅いので 40 年経過した現在まで継続している。初めは塩素座そう、色素沈着、眼脂過多など油症特有の症状を呈していたが、時間経過とともに変化して、ホルモン異常による症状は続いている。一般人も PCB 環境汚染のためにはかなりの PCB を体内に蓄積しており、場所によっては PCB による毒性影響がみられた。油症及び一般人の体内 PCB 濃度及び症状を比較しながら 40 年間の変遷について考察する。

実験方法及び引用資料

1. ライスオイルの PCB 分析

福岡地方検察庁小倉支部から依頼されたカネミ瓶入りライスオイルを 1972 年当時としては最新の電子捕獲検出器付ガスクロマト装置 (ECD-GC) で分析した。概略の分析方法は、ライスオイルのアルカリ分解、ヘキサン抽出後シリカゲルカラムで PCB の分離、ECD-GC による PCB の検出である²⁾。カネクロール 400 (KC-400) を標準物質とし、ピーク高さの合計で定量分析した。

2. 福岡県油症一斉検診における血液中 PCB、PCDF の分析

PCB の分析は 1974 年から 1987 年までは ECD-GC で KC-400 + KC-500 (1 : 1) を標準とするピーク高さ法、1988 年から数値化法が用いられピーク毎の定量分析が行われた。1995 年以降は内標準物質を使用する ECD-GC 又はガスクロマトグラム質量分析装置 (GC-MS) で分析された。PCDF の分析は PCDF 内標準を用いる高分離能ガスクロマトグラフ・高分解能質量分析装置が用いられた³⁾。

3. 血液中水酸化 PCB (HO-PCB) の分析

HO-PCB 分析法の概略は次の通り。血清 2 ~ 3 g に塩酸及び 2-プロパノールを加え、n-ヘキサン + メチル t-ブチルエーテル溶液で抽出した。有機溶媒層を 1% 塩化カリウム溶液で洗浄した後、ヘキサン溶液を水酸化カリウム・エタノール溶液に通して分配分離した。フェノール層はジアゾメタンでメチル化した後、硫酸で洗浄し、硫酸・シリカゲルカラムを通してクリーンアップした。MeO-PCB 溶液を ECD-GC で分析した⁴⁾。

4. PCB 中毒及びダイオキシン毒性に関する文献

ダイオキシン類の耐容 1 日摂取量 (TDI) を決定する会議：世界保健機関 (WHO) 1990 年、厚生省 1996 年、環境庁 1997 年、WHO 1998 年、及び中央環境審議会 1999 年において審議に使用された文献等¹⁾。

国際ダイオキシン会議 (1980 年から 2008 年まで毎年開催されている会議) における油症に関連する論文。

日本及び台湾の油症、スロバキア東部の PCB 中毒、一般環境汚染レベルの PCB 等の健康影響などに関する論文等。

結果と考察

1. 油症発生当時の PCB 汚染の状況

PCB は化学的に安定で、不燃性であり、電気絶縁性が高い化合物であるので、安全なものとしてコンデンサなどの電気絶縁油、工場の熱媒体、合成樹脂の難燃剤などに使用された。我が国では 1954 年頃より PCB の生産がはじまり、1972 年ま

での18年間で約59,000トン生産された⁵⁾。PCBが油症の原因物質であることが1968年に解明されたにもかかわらず、PCBの生産量は1970年まで増加していた。当時はPCBの人体に対する有害性は殆ど考えられていなかったようだ。その後、PCBは環境を汚染し、魚などの食品を通して人体にも蓄積されることが分かった。PCBのマイクロカプセル乳剤を紙に塗布した感圧複写紙がヒトの手に触れる日常の事務室などで使用されていた。感圧複写紙を取り扱った人にはPCBが手に付着し、石鹸で洗ってもとれにくいことが分かった⁶⁾。1972年からPCBの製造と使用が原則禁止となった。PCBは難燃性であるので、一般環境に排出されたものは、焼却しても分解されにくく、安定な化合物であるので、環境汚染物質として環境中に長期間残留した⁷⁾。魚介類及び感圧複写紙などに含まれるPCBを分析するときには、試料をヘキサンで抽出した後PCBをクリーンアップして取り出しECD-GCで定量分析していた。それに使用するヘキサンがPCBに汚染されていたので低濃度PCBの定量分析は非常に難しかった。購入したヘキサンを直接GCに注入してみると明らか

にPCBのクロマトグラムを観察したことがある。その時はヘキサン中のPCB濃度まで考えなかったが、後ほど計算してみると最も汚染された場合では100 ppb程度と推定される。そのPCBを取り除くために、ヘキサンを洗浄したフラスコに入れ、分溜塔をつけて2回蒸留していた。そのヘキサンを濃縮してからGC-ECDに注入してPCBなどの塩素系化合物によるピークが見られないことを確かめてからPCB分析溶媒に使用した。現在では5000倍に蒸留濃縮してもPCBなどの汚染物質が検出されないと保証されたPCB分析用のヘキサンが販売されている。米糠からライスオイルを抽出する過程でヘキサンが使用されていた⁸⁾。事件当時に使用されたヘキサンもPCBに汚染されていたものと考えられる。

検察庁から提供された1967年10月3日から1968年10月14日までにカネミ倉庫から出荷されたカネミビン入油のPCBを分析した。その試料には蛍光X線分析法で測定された総塩素量のデータが付いていた。ビン入りライスオイルの総塩素濃度及びPCB濃度をFig. 1に示す。塩素量は1968年2月7日から2月15日の間に出荷され

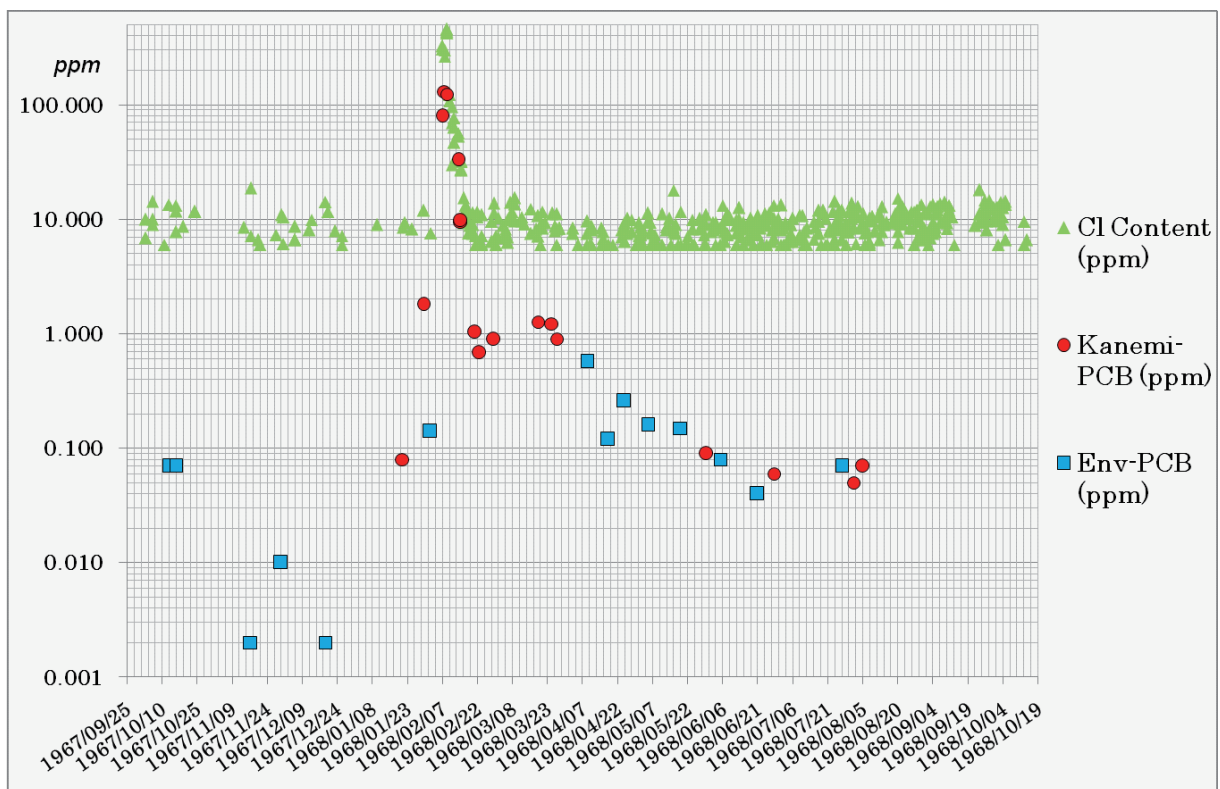


Fig. 1 Chlorine Content and PCB concentrations in Kanemi-bottled Oil shipped from Oct 3, 1967 to Oct 14, 1968. PCBs with GC peak pattern similar to those of the Kanemi-PCB (Red) or environmental PCB (Blue) are separately shown

たライスオイルでは 30~460 ppm の高い濃度であったが、その他の期間に出荷されたライスオイルにも 10 ppm 程度の濃度であった。この塩素量には PCB 及び有機塩素化合物だけでなく無機塩素の濃度も含まれていたと考えられる。カネミビン入り油を ECD-GC で PCB の分析をした結果、その PCB 濃度は 2 月 7 日から 2 月 9 日の間に出荷されたライスオイルでは 80~130 ppm と最も高かったが、その前後の数日間に出荷されたライスオイルにもかなり高い濃度で検出された。その他の期間に出荷されたライスオイルにも微量ながら PCB は常に検出された (Fig. 1)。その GC ピークパターンは汚染したカネミライスオイルの PCB パターンに近いものもあれば一般環境汚染の PCB ピークパターンを示すものもあった。カネミビン入り油の PCB の由来はライスオイルを抽出するときに使用されたヘキサンに混入されていた PCB 及びヘキサン抽出溶液を脱臭する工程で漏れ出た PCB が考えられる。

ライスオイルに PCB が混入された原因を究明するときに“ピンホール説”と“溶接エラー説”があった⁹⁾。カネミライスオイルの製造工程の最終段階で、ライスオイルが減圧下で加熱され脱臭される際に加熱された PCB を蛇管のピンホールからライスオイルに混入したとする“ピンホール説”と脱臭タンクのサーミスター温度計を溶接して修理する際に不注意により穴をあけてしまい PCB がライスオイルに混入した。そのライスオイルを再び加熱脱臭することで製品にした“溶接エラー説”である。カネミ倉庫から出荷されたライスオイルのうち PCB 等で汚染された濃度が高いのが 1968 年 2 月 7~10 日の数日間に集中していることから溶接エラー説の方が有力である。その時のライスオイル中の PCB のガスクロマトグラムは KC-400 の低塩素化部分が消失して高塩素化部分が増加している²⁾これはその時に強く高温、減圧にすれば PCB が除去できると考えて行った結果かもしれない。

2. PCB および PCDF の人体汚染

PCB などの工業製品に接触した経験のない一般の人の脂肪組織および母乳から PCB が検出されたのは 1972 年である。母乳中の PCB 濃度は 10~100 ppb 程度であり、牛乳の PCB 濃度の数倍

であった¹⁰⁾。これらのデータは油症ではない一般の人も食事を通してかなりの PCB に汚染されていたことを示している。その後、油症患者の脂肪組織や血液から PCB が検出され、その PCB の GC ピークパターンが一般の人のピークパターンとは異なっていることを発見した²⁾¹¹⁾¹²⁾。ガスクロマトグラムの多数のピークを 1,1,1-trichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT) の代謝産物 1,1-dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethylene (DDE) の大きなピークの後に出てくるピークに 1, 2, 3, 4, 5, --- と順番に番号を付けた。油症患者の PCB は 1/2 のピーク高さの割合が一般人よりも低く、5/2 のピーク高さの割合は一般人よりも高いのが特徴であった。油症患者に特異な PCB ピークパターンを A とし、一般人と同様なピークパターンを C とし、その中間の PCB ピークパターンを B として分類された。血液 PCB 濃度とこの PCB パターンは油症患者の皮膚重症度、血清中のトリグリセライド濃度等とよく相関していたので油症診断基準に加えられた¹³⁾。PCB ピーク 1, 2 及び 5 の構造はそれぞれ 2,3', 4,4', 5-pentaCB (PCB118)、2,2', 4,4', 5, 5'-hexaCB (PCB153) 及び 2, 3, 3', 4, 4', 5-hexaCB (PCB156) であることが確かめられた¹⁴⁾。患者さんの血液中 PCB 濃度および PCB パターンは毎年検査されて、その変化が記録されており、40 年経過した現在まで体内に残留している³⁾。

PCB 製品である KC に微量含まれる PCDF を初めて検出した。微量の PCDF をクロマトグラフィーで分離し、質量分析装置で測定した。そのスペクトルは別途合成した PCDF 標準品のスペクトルと一致したので PCDF の存在が確認できた¹⁵⁾。未使用 KC-400 の PCDF 含量は 18 ppm であったが、PCB を約 1000 ppm 混入されていたライスオイルには 5 ppm の PCDF が検出された。KC-400 が高温で長時間加熱されて熱媒体として使用されている間に PCDF 濃度が約 200 倍に増加した後にライスオイルに混入したのと考えられる¹⁶⁾¹⁷⁾。高い温度で KC-400 を加熱すれば PCDF のほかにポリ塩化クォーターフェニル (PCQ) 及び PCQ エーテル (PCQE) も同時に生成された¹⁸⁾。油症患者さんの脂肪組織及び肝臓からも PCDF がそれぞれ 6~13 ppb 及び 3~25

ppb 検出され、肝臓中の PCDF 濃度は PCB 濃度の 10~50% 程度になっていた¹⁹⁾。KC-400 にはわずか 18 ppm 存在していた PCDF が過度な加熱により 1000 ppm に増加し、さらに、体内に摂取されて肝臓に蓄積されたときには PCB 濃度に近い状態になって毒性を発現したものと考えられる¹⁶⁾。油症患者体内の PCDF は別に合成された PCDF 異性体とそのガスクロマトグラム保持時間及び質量スペクトルのフラグメントグラムが一致することで、2,3,4,7,8-pentaCDF (PentaCDF) など 5 つの PCDF 異性体の存在が確認できた¹⁹⁾。その他の PCDF 異性体もそれぞれ順次合成し、それらを標準品とし、患者の脂肪組織、肝臓、肺臓に存在する PCDF 異性体を確認した²⁰⁾²¹⁾。さらに 4 塩化から 8 塩化の PCDF 及びポリ塩化ジベンゾジオキシン (PCDD) 異性体 136 種すべてを用いて 9 種類のキャピラリーカラム付 GC-MS における分離分析の状態を調べた²²⁾。1979 年、台湾で油症と同じような中毒事件が発生した。その患者さん数名の血液を事件後 1~3 年おきに提供していただき PCB、PCDF 異性体の分析をした。同じ時期から福岡の油症患者さんの血液についても PCB、PCDF 異性体の分析をして、人体のそれらの化合物の濃度の減衰状態（生体半減期）を調べた³⁾。台湾油症患者 3 名及び福岡油症患者 5 名の事件発生当時から PCB、PCDF 異性体の現在までの減衰状態及び半減期を Table 1 に示す。

PCB118 以外の PCB、PCDF 異性体の半減期は当初から 14~15 年後では 2.4~4.1 年であり、37~38 年後では 4.4~7.5 年と非常に長い。これに対し PCB118 は事件後 10 年経過した時点では

一般人のその濃度より低くなり、37~38 年後では一般人のレベルになった。油症発生当時から現在までの油症患者体内の PCB 及び PCDF 等を 2,3,7,8-tetraCDD (TCDD) 毒性に換算した TEQ 濃度の減衰状態を Fig. 2 に示す。比較のために 1968 年から現在までの一般人体内の PCB 及び TEQ の平均濃度の推移も Fig. 2 に示している。

油症患者では PCB 及び TEQ 濃度は初めの 5 年間は割合に早く減少していたが、その後は一般人と同じように非常にゆっくりと減少していた。1977 年以後の油症患者の PCB 濃度は一般人の 5~8 倍を、TEQ 濃度は一般人の 30~50 倍を保ちながら徐々に減少していた。一般人の体内 PCB 濃度は TEQ 濃度の 1 万倍を保ちながら減少している。1970 年代の一般人の PCB 濃度は油症患者の現在の PCB 濃度と同じ程度またはそれ以上であったようだ。1999 年に福岡在住の一般人 152 名の血液を分析した結果、PCB、TEQ 濃度が高年齢になるほど高濃度であることが分かった。それは PCB 汚染が高い 1970 年代に食事から PCB などを体内に蓄積し、高齢になるまで保持し続けていたためであろうと考察した²³⁾。

KC-400 は 4 塩化 PCB を主体とする多くの PCB 異性体の集合体であるが、それを摂取したヒトの体内に長期間残留しているのは 5~7 個塩素置換された 10 種類程度の PCB である。大部分の PCB は糞、汗等と共に排出された、又は代謝されてメチルスルホン PCB (MeSO₂-PCB) 又は水酸化 PCB (HO-PCB) に変化したものと考えられる。MeSO₂-PCB が油症患者の体内から検出され、肺臓の脂肪中濃度は脂肪組織の濃度よりも高かった。これは PCB が脂肪組織で高い濃度であることと

Table 1 Average concentrations and half-lives of PCB and PCDF congeners in the blood of Yucheng patients (n=3) and Yusho patients (n=5) after the incidents

	233 days after		14-15 years after				37-38 years after	
	Yucheng	Yusho	Yucheng		Yusho		Yusho (n=4)	
	Conc ng/g-blood	Conc* ng/g-blood	Conc ng/g-blood	Half-life year	Conc ng/g-blood	Half-life year	Conc ng/g-blood	Half-life year
2,3',4,4',5-pentaCB	39	39	0.2	1.9	0.24	1.9	0.05	4.1
2,2',4,4',5,5'-hexaCB	80	46	5.1	3.7	2.7	3.4	0.81	6.7
2,3,3',4,4',5-hexaCB	22	12	2.3	4.6	1.1	4.1	0.43	7.5
2,3,4,7,8-pentaCDF	0.058	0.35	0.0013	2.7	0.0068	2.4	0.0027	5.2
1,2,3,4,7,8-hexaCDF	0.14	0.25	0.0047	3.0	0.0067	2.7	0.0009	4.4

* Calculated value from the concentrations at 14-15 years after the incidents

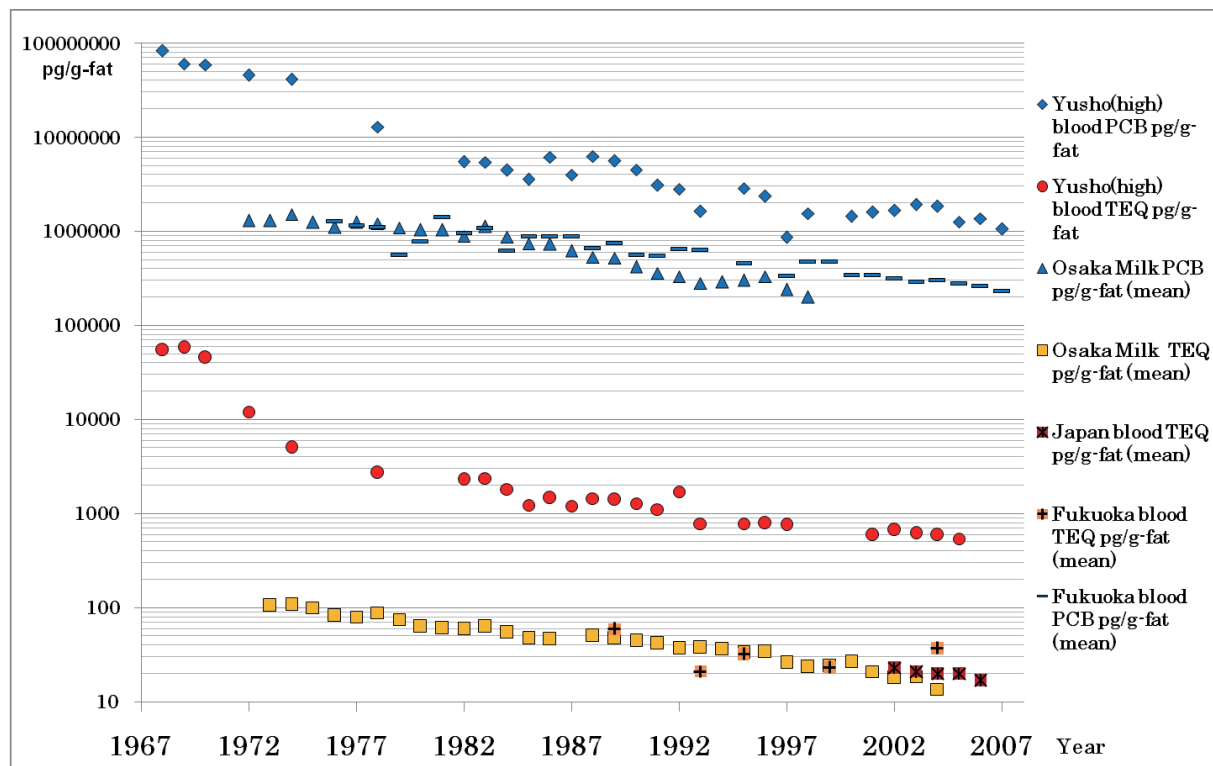


Fig. 2 Concentration trend of PCBs and TEQ in Yusho and Control in Japan, 1968-2007

は対照的であり、MeSO₂-PCBが肺臓に比較的によく蓄積されることを示している²⁴⁾²⁵⁾。2005年に採取された油症患者の血液からOH-PCBが検出された⁴⁾。そのHO-PCBの化学構造と濃度をTable 2に示す。HO-PCBの濃度は0.8 ng/g-serumであり、一般人の濃度0.11 ng/g-serum²⁶⁾よりもかなり高い濃度であった。

油症患者のHO-PCB濃度はPCB濃度の40%程度であり、一般人の20%程度²⁷⁾よりもかなり高い割合であった。

油症事件当時の油症患者さんの血液中には10 ng/g-blood程度の非常に高い濃度のPCBが検出されていたので、その20~40%程度の高濃度のHO-PCBも血液中に存在していたと考えられる。

Table 2 Concentrations of HO-PCBs and PCBs in Yusho Patients (n=9), Sampled in 2005

	Concentration (ng/g-serum)			
	mean	median	min	max
4'-HO-2,3',4,5,5'-pentaCB (120)	0.059	0.062	0.000	0.108
4-HO-2,3,3',4,5-pentaCB (107)	0.144	0.165	0.037	0.239
3-HO-2,2',4,4',5,5'-hexaCB (153)	0.036	0.027	0.020	0.066
4-HO-2,2',3,4',5,5'-hexaCB (146)	0.237	0.176	0.086	0.438
3'-HO-2,2',3,4,4',5'-hexaCB (138)	0.058	0.051	0.033	0.106
4-HO-2,2',3,4',5,5',6'-heptaCB (187)	0.250	0.203	0.086	0.477
4'-HO-2,2',3,3',4,5,5'-heptaCB (172)	0.035	0.000	0.000	0.101
Σ HO-PCB	0.819	0.680	0.390	1.362
2,3',4,4',5-pentaCB (PCB118)	0.054	0.050	0.024	0.094
2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB153)	0.369	0.380	0.181	0.573
2,3,3',4,4',5-hexaCB (PCB156)	0.142	0.146	0.072	0.197
Σ PCB	1.894	1.850	1.320	2.620
HO-PCB/PCB %	43	37	22	74

また、HO-PCB は transthyretine (TTR) と結合して血液中の存在し、胎児にも臍帯を通じて送られている²⁸⁾可能性があるため、次世代の子供にもホルモン異常の影響は大きいと思われる。油症患者体内の PCB118 がほかの蓄積性 PCB よりも速くその濃度を減少させていたのは、PCB118 が共存する PentaCDF 等の強い酵素誘導作用により代謝されて、その水酸化体である 4-HO-PCB107 及び 4'-HO-PCB120 に変化していたためと推定される。

3. PCB, PCDF の人体毒性影響

福岡の油症患者 141 名の調査によると、ライスオイルの平均摂取量は 1 人当たり 688 ml であった²⁹⁾³⁰⁾。ライスオイル中の PCB, PCDF, 及び PCQ の濃度から計算すると、これら化合物の一人当たり平均摂取量はそれぞれ 633, 3.4 及び 596 mg となった³¹⁾。毒性が非常に強い TCDD に換算した TEQ の濃度及びライスオイル中の最も毒性が強いとされている PentaCDF の一人当たり平均摂取量はそれぞれ 620 µg 及び 855 µg となった。体重を 60 kg とすると、体重 1 kg 当りの摂取量はそれぞれ 10 µg/kg 及び 14 µg/kg である。動物を用いた毒性試験によると TCDD のモルモット半数致死量は 1 µg/kg であり、PentaCDF はラットにおいて 1 µg/kg の少量でも芳香族炭化水素水酸化酵素を誘導する作用を起こすことが知られている³²⁾。油症患者はその濃度の 10 倍以上の毒性物質を摂取したことになる。

最も少ないライスオイル摂取で油症の症状を発現した患者の TEQ 摂取量は 135 日間に 28 ng/kg/day であった。乳児は母親から数ヶ月の間に PCB 等で汚染された母乳を飲んでいて、その量を TEQ で示すと一般人では 0.23 ng/kg/day となった例があり、油症の母親からはそれ以上となったことがある³¹⁾。これらの摂取量は油症患者の最低摂取量の百分の一程度になるので、PCB 等に対する感受性の違いなどを考慮すると、これらの乳児は酵素誘導作用に基づくホルモンかく乱による影響はありえると考えられる。

1982 年より欧米諸国、WHO 及び日本でダイオキシン類の耐容一日摂取量 (TDI) は 1~10 pg-TEQ/kg/day と設定されていた。これはいろいろな動物実験から得られた無作用量 1

ng-TEQ/kg/day の 1/100~1/1000 の値で決められていた。しかし、1996 年頃からダイオキシンのホルモン様作用を重視するように変更された。サルやマウス等の動物で最も感受性が高い有害な作用 (ホルモン異常による影響、免疫有害作用) は TCDD の 30~70 ng/kg 投与で発生した。この負荷量になるヒトの摂取量を推定すると 10~40 pg-TEQ/kg/day に相当する。これに不確実係数を 10 としてその十分の一を求めると 1~4 pg-TEQ/kg/day となる。1998 年より WHO はホルモン様作用より求めた 1~4 pg-TEQ/kg/day を TDI とするように変更した。1999 年、日本も WHO と同様にホルモン様作用を重視する方法を取り入れて TDI を 4 pg-TEQ/kg/day に変更して現在にいたっている¹⁾。

油症の典型的な症状である塩素座そう、皮膚色素沈着、眼脂過多などは十年経過した時点から非常にゆっくりと改善してきて、外見的には油症であることを判別するのはむずかしくなっている。しかし、酵素誘導及びホルモン異常に基づく症状、例えば、血液中性脂肪の高濃度、血清サイロキシンの高濃度、免疫グロブリンの異常などは、30 年以上経過した現在においても残留しており、心身の変調をもたらしている³³⁾。このような状態の重症の患者さんの血液中 PCB, PCDF 濃度の 40 年間の推移を Fig. 2 に示している。他の患者さんの血液中 PCB, PCDF 濃度は重症の患者さんと一般人の中間の濃度で推移したものと考えられる。これらの濃度でホルモン作用に影響があるかどうかを知るためにホルモンの血液中濃度と比較した。ヒト血液中のエストラジオール、テストステロン、サイロキシン濃度の基準値³⁴⁾及び重症油症患者、その他の油症患者、一般人の血液中 PCB, PCDF, HO-PCB 及び DDE 濃度を Fig. 3 に並べて示す。

重症の 5 名の患者さんの PCDF, PCB の中の一つの異性体の濃度でもこれらのホルモンの血液中濃度よりはるかに高く、40 年経過した現在においてもホルモン濃度よりも高い濃度が維持されている。その他の油症患者さんの PCB 濃度はいまだにこれらのホルモンの血液中濃度よりも高いままである。一般人においても全 PCB 濃度はホルモンの血液中濃度よりも高い状態が現在まで続いている。40 年以上の長期間、PCB, PCDF に基づくホルモン異常による影響が継続されていると考

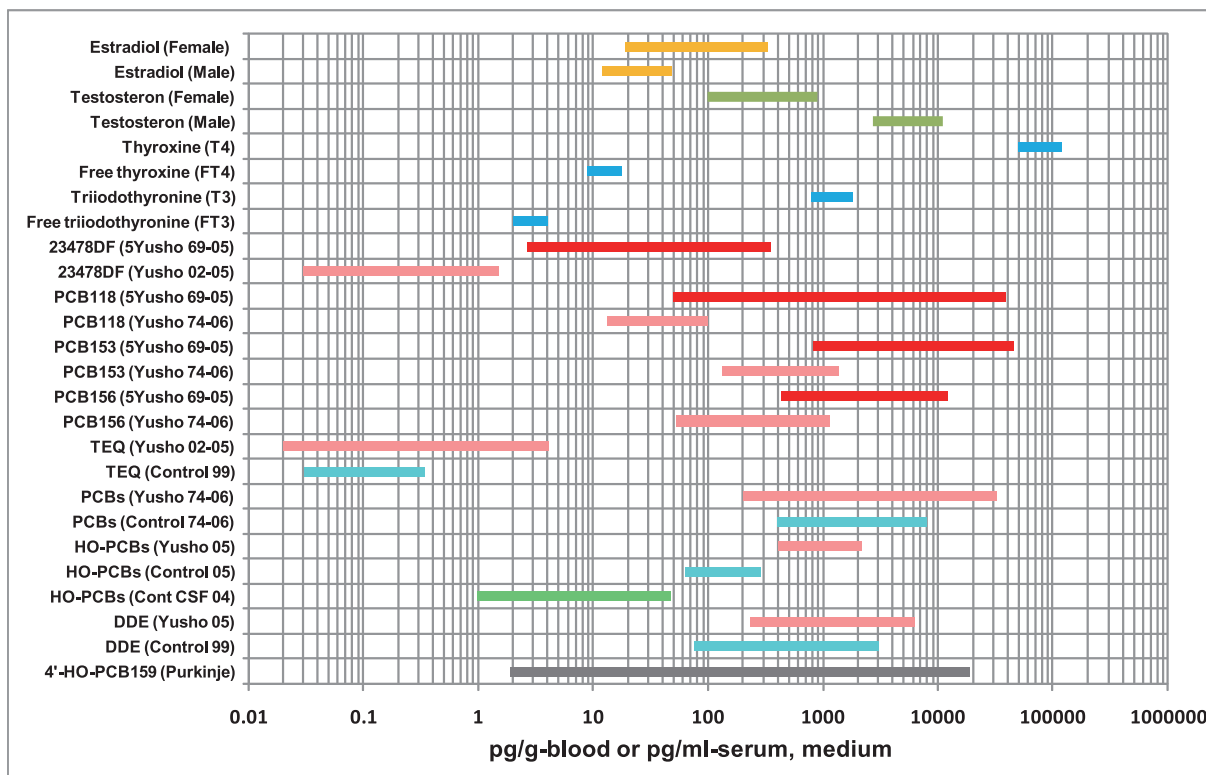


Fig. 3 Normal levels of Hormones and Concentrations of PCBs, PCDFs, DDE in blood of Yusho Patients (Red and Pale red) and Controls (Pale blue)

Estradiol, Testosterone and Thyroxine: Normal levels, pg/ml-serum³⁴⁾

23478DF (PentaCDF), PCB118, PCB153, PCB156 (5Yusho 69-05) : 5 Serious Yusho Patients, 1969-2005, pg/g-blood³⁾

PCB118, PCB153, PCB156, PCBs (Yusho 74-06) : Fukuoka Yusho Patients, 1974-2006, pg/g-blood³⁾

PCBs (Control 74-06) : Fukuoka Controls, 1974-2006, pg/g-blood³⁾

23478DF (PentaCDF), TEQ (Yusho 02-05) : Fukuoka Yusho Patients, 2002-2005, pg/g-blood³⁵⁾

HO-PCBs (Yusho 05) : Fukuoka Yusho Patients, 2005, pg/g-serum⁴⁾

HO-PCBs (Control 05) : Tokyo Normal persons, 2005, pg/g-serum²⁶⁾

HO-PCBs (Cont CSF 04) : Ehime Controls, CerebroSpinal Fluid, 2004, pg/g-CSF³⁶⁾

DDE (Yusho 05) : Fukuoka Yusho Patients, 2005, pg/g-blood³⁷⁾

TEQ, DDE (Control 99) : Fukuoka Controls, 1999, pg/g-blood²³⁾

4'-HO-PCB159 (Purkinje) : Purkinje cell, pg/g-medium³⁸⁾

えられる。

PCDFの強い酵素誘導作用によりPCBが代謝されてHO-PCBが生成される。生成されたHO-PCBはTTRと結合して血液中に残留する。油症患者ではHO-PCB濃度はPCB濃度の20-50%である1000 pg/g-blood程度で血液中に存在する。これらの血液中濃度は遊離サイロキシン濃度よりも高いのでサイロキシンのホルモン作用に攪乱を起こしているものと考えられる。胎児の臍帯血には母親の血液中HO-PCB濃度の半分程度の濃度で移行しているので³⁹⁾、胎児の神経の発達には大きな影響があると思われる。黒田らは神経細胞の培養において、微量のHO-PCBを添加することでプルキンエ神経の成長が攪乱されることを証明している³⁸⁾。プルキンエ神経の成長を攪乱させるHO-PCBの濃度範囲をFig. 3に示

している。血液中OH-PCBは神経の成長を攪乱するには十分の濃度である。

油症患者及び一般人の血液からPCB, PCDFの他にDDTの代謝物質DDEをはじめHexachlorocyclohexane, Pentachlorophenol (PCP), Dieldrin等が検出されている。そのうちDDEは全PCBと同じくらいの高濃度である。これらの化合物もホルモン様作用があることが知られているので、人体のホルモンシステムは更に攪乱されていると考えられる。

4. 油症の症状変遷

1968年から1977年の間に妊娠した婦人は誘発流産及び早期出産のオッズは5.97及び5.70であり有意に異常出産の割合が多かった⁴⁰⁾。油症発生から16年経過した1984年、福岡県油症一斉検

診で 124 名の油症患者の甲状腺機能を調査した。Triiodothyronine (T3) 及び Thyroxine (T4) レベルは対照者に比べて有意に高い値であったが Thyroid Stimulating Hormone (TSH) 濃度は正常であった。長期間 PCBs 等のサイロキシンへの影響が持続されていた⁴¹⁾。1984 年に同様の調査をした。T3, T4 及び遊離 T4 (FT4) レベルは対照者と有意な差は認められなかったが、血液中 PCB 濃度が高い患者には抗サイログロブリン抗体が高頻度に出現した⁴²⁾。歯肉の色素沈着は油症発生当時では患者の 60% にみられる特有な徴候であった。その後徐々に減少し 1993 年には 30% にまで減少したが、35 年経過した 2003 年には歯肉異常が患者の 50% にまで増加していた。非常に長期間ホルモン異常による影響が残留していた⁴³⁾。1986 年～2000 年の福岡県及び長崎県油症一斉検診において血液中 PCB 濃度が血清中総コレステロール、中性脂肪濃度と有意に関連しているのが観察された。30 年以上も高濃度 PCB の影響が残留していた⁴⁴⁾。2002 年の一斉検診で 20 項目の血液生化学検査のうち γ -Glutamyl Transferase, High-Density Lipoprotein Cholesterol, Creatinine の血清中濃度が PCDF レベルと有意に関連していた。30 年以上も高濃度 PCDF の影響が残留していた⁴⁵⁾。1986 年～2002 年の長崎県油症検診における油症患者 1041 名の臨床検査成績より次のような関係が観察された。血液中 PCB 濃度は赤血球数、血中ヘモグロビン数等と逆相関がみられ、血清中総蛋白およびアルブミン濃度とも逆相関の傾向があり、また、尿素窒素、Creatinine 濃度とは正の相関を示した。体内に長期間残留している PCB 等が代謝機能に影響を与えている⁴⁶⁾。2000 年～2003 年の福岡県油症検診で血液中 PCB 及び PCDF 濃度が次のような症状と関連していることがわかった。すなわち、咳、痰等の呼吸器症状⁴⁷⁾、頭痛、しびれなどの神経感覚症状⁴⁸⁾、眼脂等分泌物の増加などの眼症状⁴⁹⁾、黒色面皰、アクネ状吹き出物、傷跡、色素沈着などの皮膚症状⁵⁰⁾。36 年以上の長期間これらの症状が継続して残留していた。

5. 台湾油症の症状変遷

1979 年台湾において日本の油症と同じ様な中毒事件が発生した。摂取されたライスオイルの量

及びその中に混入されていた化学物質の濃度から計算すると、台湾油症患者 1 人が摂取した PCB, PCDF 及び PCQ の量はそれぞれ 973, 3.84 及び 490 mg となった。福岡の油症患者が摂取した量はそれぞれ 633, 3.4 及び 596 mg であったので、ほとんど同じ量による中毒である⁵¹⁾。PCB, PCDF の成分では台湾油症の方が少し高塩素の PCB, PCDF が比較的が多かった。当時の患者さんの大部分 (82%) の血中 PCB 濃度は 11～150 ng/g-blood の範囲であり、症状は塩素座そう、皮膚等の色素沈着、眼脂過多などで福岡油症と同様の症状であった⁵²⁾。中毒事件から 14 年経過した 1993 年、中毒患者 795 名及び対照者 693 名について大量に摂取した PCB, PCDF の毒性影響を調査した。その結果、中毒患者には特有な皮膚症状、甲状腺腫、貧血、関節及び背骨の異常などの症状が継続して残留しているのが見られた⁵³⁾。PCB 等を高濃度に摂取した台湾油症患者の母親から生まれた子供が 6 歳又は 7 歳に成長した時に調査した Stanford-Binet 及び Welesler 知能テストにより、患者の子供 118 名は対照の子供よりも有意に認知発達の遅れが観察された⁵⁴⁾。PCB, PCDF に汚染されたライスオイルを摂取した患者で 2002 年 7 月 1 日までに 60 歳以上の者 162 名について認識能力テストをしたところ、女性では注意力、画像記憶力、学習能力において少し欠陥が見られたが男性では認められなかった⁵⁵⁾。PCB, PCDF を摂取した台湾油症患者の母親から生まれて 16 歳以上になった男性 12 名の精子の状態を調査したところ、精子の形態異常、運動能力及びハムスター卵母細胞通過状態において対照者よりも有意に劣ることが観察された⁵⁶⁾。1992 年、PCB, PCDF を摂取した母親から生まれて 7～11 歳に成長した子供 73 名の歯の発育状態を調査した。歯根をなくした歯及び発達障害がある歯の割合は母親の血液中 PCB 濃度や子供の PCB, PCDF レベルと有意に関連しており、台湾油症の子供 11 歳の永久歯の数は対照の子供よりも少ない傾向が見られた⁵⁷⁾。2003 年、PCB, PCDF に汚染されたライスオイルを摂取した婦人及び摂取していなかった婦人 408 名の妊娠状態を調査し、そのデータを多変量解析等の統計処理を行った。その結果、妊娠するまでの期間の中央値は PCB, PCDF を摂取した婦人では 4 ヶ月であったのに対し対照の

婦人では3ヶ月であり、有意に差があった。また、12ヶ月間に妊娠しなかった割合はPCB, PCDFを摂取した婦人では19.7%であったが対照者では9.7%であった。妊娠した割合はPCB, PCDF摂取者では有意に低かった⁵⁸⁾。台湾油症患者378名と対照者370名の糖尿病のリスクを調査した結果、女性ではリスクが有意に高かった(オッズ2.1, 95% CI 1.1-4.5)が、男性では高くなかった⁵⁹⁾。

6. PCB 製造工場廃棄により汚染されたスロバキア東部住民の健康影響

スロバキア東部の Michalovce で1959年から1984年までPCBの製造をしていた。製造中止後PCB廃棄物1600トン Michalovce 地域に廃棄した⁶⁰⁾。1998年、Michalovce 地域の住民及びPCBが廃棄処理されていない地域 Svidnik の住民の血液中PCB濃度を測定した。PCB幾何平均濃度は Michalovce では男3327, 女2752 ng/g-lipid であり、Svidnik では男1331, 女992 ng/g-lipid であった⁶¹⁾。Svidnik 住民の血液中PCB濃度は日本人の1970年代の平均濃度及び2005年頃の油症患者の平均濃度に相当し (Fig 2), Michalovce 住民の平均濃度はそれよりも3倍高い濃度であった。また、Michalovce 住民の血液中 OH-PCB 濃度は2 ng/g-serum であり⁶²⁾、油症患者の2005年の濃度 (Table 2) よりも高かった。

汚染地域 (Michalovce) 及び対照地域の住民2046名についてTSH, FT4, T3, PCB等を測定した。PCBレベルが< 530 ng/g-lipid の場合PCBはFT4及びT3とは負の相関であったが、531~2000 ng/g-lipid の範囲ではそれらのレベルは正の相関となるなどPCB濃度によりFT4, T3レベルとの関係は異なっていた。PCBレベルが特に高い例ではTSHレベルが低かった⁶³⁾。汚染地域住民などの甲状腺容量 (ThV) と血液中PCB等の濃度との関係を調査した。汚染地域住民のうちPCBレベルが高いグループではThVは有意に大きかった。しかし、その傾向は年齢、性別等により異なっていた⁶⁴⁾。汚染地域の新生児982人の胸腺の発達状態を超音波検査で調べた結果、母親の血清中PCB濃度が新生児の胸腺容量の縮小に関与しており、免疫の発達に障害を与えている可能性があると考えられた⁶⁵⁾。汚染地区など

の8~9歳の児童432名の歯の状態を調べて、血清PCB濃度が高い児童ではエナメル質に欠陥がある乳歯の割合が高く、発育不全の永久歯の割合も高く多くなっていた⁶⁶⁾。汚染地域などの8~9歳の学童431名の聴覚の状態を調べた結果、血清中PCB濃度が高い児童では周波数の低い音域において聴覚閾値が高くなる聴覚障害が見られた⁶⁷⁾。汚染地域などの住民2050名の糖尿病に関する血液検査などを行った結果、血液PCB濃度が高いグループでは低いグループに比べて空腹時血糖が正常値の割合が減少し、糖尿病型及び耐糖能異常型の割合が有意に増加していた⁶⁸⁾。2002~2004年、スロバキア東部で出産した母親の血液及び臍帯血92組のPCB, HO-PCB, PCP濃度を測定した。全PCB, 全HO-PCB及びPCPの臍帯血中濃度の中央値はそれぞれ0.92, 0.33及び0.69 ng/g-serum であり、母親のそれぞれの血液中濃度と正の相関を示した。母親のHO-PCBはTTRと結合して胎盤を通過し胎児に移行していることを示している⁶⁹⁾⁷⁰⁾。

7. 一般環境でPCB汚染の高い地域住民の健康影響

1980~1981年ミシガン湖の魚を食べていた母親の子供11歳について知能指数 (IQ) テストを行った結果、母親の血液PCB濃度が高い (1.25 µg/g-fat) グループでは有意にIQが低かった⁷¹⁾。1991~1994年に同様の詳細な調査を行った結果、五大湖周辺でPCBに暴露した母親の子供9歳では母親の血液中PCB濃度が高いグループでは、言葉のIQ, 注意力IQが劣るものがあつた⁷²⁾。2000年の人口調査を利用して、ニューヨーク州の汚染地域の住民の女性では甲状腺の異常及び子宮内膜症が有意に多く見られた⁷³⁾。また、1995~2000年、ニューヨーク州 Mohawk のアメリカ原住民のPCB等の血液中濃度を調べた。平均全PCB濃度は749 ng/g-lipid であり、日本人の1985年頃のPCB濃度に相当する (Fig 2)。このアメリカ原住民のうちPCB濃度が高い三分位の人には糖尿病である確率が低い三分位の人よりも有意に高かった⁷⁴⁾。Mohawk の10-17歳の若者232名では、PCB濃度はTSHとは正の相関を、FT4とは逆相関を示した⁷⁵⁾。1999~2000年及び2001~2002年にアメリカ人約2000名の血液中

PCB 及び TEQ 濃度を測定した。それらの幾何平均濃度はそれぞれ PCB が 140 及び 200 ng/g-lipid 及び TEQ が 12.3 及び 18.2 pg/g-lipid であった。これは 2000 年ごろの日本人の平均濃度に対応する (Fig. 2)。血液中全 T4 レベルは TEQ 濃度とは逆相関の関係にあり、この影響は女性に強くみられた⁷⁶⁾。カリフォルニア州で母親 285 名の血液中 PCB 異性体濃度及び新生児の血液中 TSH 濃度を測定した。P450 2B 酵素を誘導する PCB 8 種の濃度は TSH レベルと正の相関がみられた。PCB はバックグランドレベルにおいてもサイロキシンホルモン恒常性に影響を与えていた⁷⁷⁾。アメリカの 20 歳以上の大人 1721 名の PCB 等の濃度と関節炎との関係を調べた。ダイオキシン様 PCB 又は非ダイオキシン様 PCB は女性の関節炎と正の相関を示した。バックグランドレベルの PCB が関節炎病理に関与している可能性がある⁷⁸⁾。2002~2004 年、ベルギーにおいて臍帯血 198 例の PCB, DDE 等の濃度及びサイロキシンホルモンの濃度が測定された。特定の PCB 異性体濃度は FT3 及び FT4 レベルとは負の相関が認められたが、TSH とは相関が認められなかった。環境汚染の PCB が新生児のサイロキシンシステム、脳の発達に影響を与えていると考えられる⁷⁹⁾。2000~2001 年、台湾で妊婦 118 名の出産時の胎盤及び臍帯血の Dioxin, PCB 濃度及びサイロキシン、成長ホルモンなどを測定した。T4 x TSH は non-ortho PCB 濃度とは逆相関であることがわかった。環境汚染の PCB 等はサイロキシンフィードバックに影響を与えていると考えられる⁸⁰⁾。

結 論

油症が発生した 1968 年は PCB 環境汚染もかなり深刻な時期であったので、食品を通して人体もかなりの濃度で PCB に汚染されていたと考えられる。油症を起こす原因となった 1968 年 2 月 7~15 日に出荷されたカネミライスオイルには多量の PCB が混入していたが、その前後に出荷されたカネミライスオイルからも PCB が検出された。油症患者及び一般人の 1969 年から 2007 年までの血液中 PCB, PCDF 濃度の変遷を推定すると Fig. 2 のようになる。すなわち、1969 年頃の重症油症患者及び一般人の血液中濃度は PCB が

80 及び 1.5 µg/g-fat, TEQ が 60 及び 0.1 ng/g-fat であったものが 2007 年には PCB が 1 及び 0.2 µg/g-fat, TEQ が 0.5 及び 0.02 ng/g-fat となった。当時の予想とは異なり非常に長期間体内に残留していた。

日本及び台湾の油症のように血液中 PCB, PCDF 濃度が非常に高かった状態の症状は塩素座そう、色素沈着、眼脂過多などが特有であったが、それらは時間の経過とともに判別し難いものになった。酵素誘導及びホルモン異常が原因とみられる症状：血液中中性脂肪の高濃度、血清サイロキシンの高濃度、免疫グロブリンの異常、甲状腺腫、精子の運動能力の減少、歯及び関節等の異常、頭痛・しびれ等神経系の異常、子供の知能指数の低下など、は 30 年以上経過した現在でも継続してみられることがある。スロバキア東部の PCB 汚染地域で血液中 PCB 濃度が一般環境汚染の 3 倍程度である住民の症状は FT4, T3 レベルの異常、甲状腺肥大、胸腺の異常、歯エナメル質の異常発達、低周波数領域の聴覚異常、糖尿病傾向などである。血液中 PCB 濃度が一般環境汚染よりも少し高い程度である米国、五大湖東部の住民では甲状腺、T4, TSH の異常、子宮内膜症、関節炎、知能 IQ の低下、糖尿病傾向などが観察された。以上のように血液中 PCB 濃度が一般環境汚染程度の状態においてもホルモン異常が原因とみられる症状がみられた。

これらの症状を示す人の血液中 PCB, PCDF 濃度をエストラジオール、テストステロン、サイロキシン等の血液中濃度の基準値と比較した (Fig. 3)。油症患者では PCB, PCDF の一つの異性体 PCB118, PCB153, PCB156, PentaCDF の血液中濃度はこれらのホルモンの濃度よりも 10~1000 倍程度高かった。ホルモン異常を発生させるには十分な濃度であったと考えられる。一般環境 PCB 汚染の人の血液中 PCB 濃度も FT3, FT4 の基準値よりも高い場合もあるので、ホルモン作用に影響していると推定される。PCB は代謝されて HO-PCB に変化し TTR と結合し、血液中に残留する。HO-PCB の血液中濃度は FT3, FT4 濃度よりも高いので、油症患者及び一般人のサイロキシンの作用は攪乱されて、神経の発達に影響があるものと考えられる。HO-PCB は胎盤を通して胎児に移行することが知られているので、

胎児の発達にも影響があると考えられる。いずれの事例においても PCB と TEQ (ダイオキシン類) を同時に体内に摂取している。TEQ の強い酵素誘導作用により PCB が代謝されて HO-PCB 等が生成されて血液中に残留する。PCDF, PCB 及び HO-PCB 等の複合作用によりホルモン異常に関連する体調の変化及び症状が現われていると考えられる。

参 考 文 献

- 1) 増田義人：ダイオキシン類汚染の人体影響，新・公害防止の技術と法規 2009 ダイオキシン類編，pp116-124，産業環境管理協会，丸善，2009.
- 2) 増田義人，香川梨絵，島村京子，高田真由美，倉恒匡徳：油症患者および一般人のポリ塩化ビフェニール，福岡医誌 65：25-27，1974.
- 3) 増田義人，吉村健清，梶原淳陸：油症発生より 38 年間の患者血液中 PCBs, PCDFs の濃度変遷 福岡医誌 98：182-195，2007.
- 4) Linderholm L, Masuda Y, Athanasiadou M and Bergman A：PCB and PCB metabolites in serum from Yusho patients 37 years after the accident. *Organohalogen Compounds* 69：2141-2144, 2007.
- 5) 中西潤子，小倉勇：詳細リスク評価書シリーズ 16 コプラナー PCB，pp.1-283，丸善，東京，2008.
- 6) Masuda Y, Kagawa R and Kuratsune M：Polychlorinated biphenyls in carbonless copying paper, *Nature*, 32：41-42, 1972.
- 7) 増田義人：生活環境に及ぼす PCB の問題，月刊薬事 13：1847-1844，1971.
- 8) 吉村英敏，倉恒匡徳：ライスオイルの化学分析，小栗一太，赤峰昭文，古江増隆：油症研究 30 年の歩み，pp20-24，九州大学出版会，2000.
- 9) 倉恒匡徳：結論とその他関連事項，小栗一太，赤峰昭文，古江増隆：油症研究 30 年の歩み，pp36-44，九州大学出版会，2000.
- 10) 増田義人：母乳の PCB 汚染，食の科学 No 8：88-92，1972.
- 11) 増田義人，香川梨絵，倉恒匡徳：油症患者および一般人体内のポリ塩化ビフェニール，福岡医誌 65：17-24，1974.
- 12) Masuda Y, Kagawa R and Kuratsune M：Comparison of PCBs in Yusho patients and ordinary persons, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 11：213-216, 1973.
- 13) 占部治邦：序言，福岡医誌 65：1-4，1974.
- 14) Kuroki H and Masuda Y：Structure and concentration of polychlorinated biphenyls retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 6：496-474, 1977.
- 15) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M：Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and Rice Oils used by patients with Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi* 66：593-599, 1975.
- 16) 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.
- 17) 長山淳哉，倉恒匡徳，増田義人：ポリ塩化ビフェニールの加熱によるポリ塩化ジベンゾフランの生成，福岡医誌 72：136-141，1981.
- 18) 山領智子，長山淳哉，宮崎徳光，増田義人：ポリ塩化ビフェニールの加熱によるポリ塩化クォーターフェニールの生成，福岡医誌 70：88-92，1979.
- 19) Kuroki H and Masuda Y：Determination of polychlorinated dibenzofurans isomers retained in patients with Yusho. *Chemosphere* 7：771-777, 1978.
- 20) Kuroki H, Haraguchi K and Masuda Y：Polychlorinated dibenzofuran (PCDF) congeners in the tissues of patients with Yusho and normal Japanese. *Chemosphere* 16：2039-2046, 1987.
- 21) Kuroki H, Haraguchi K and Masuda Y：Synthesis of polychlorinated dibenzofurans isomers and their gas chromatographic profile. *Chemosphere* 13：561-573, 1984.
- 22) Ryan JJ, Conacher HBS, Panpio LG, Lau BPY, Hardy JA and Masuda Y：Gas chromatographic separation of all 136 tetra- to octa-polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans on nine different stationary phases. *J. Chromatography* 541：131-183, 1991.
- 23) Masuda Y, Haraguchi K, Kono S, Tsuji H and Paepke O：Concentrations of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents. *Chemosphere* 58：329-344, 2005.
- 24) Haraguchi K, Kuroki H and Masuda Y：Capillary gas chromatographic analysis of methylsulphone metabolites of polychlorinated biphenyls retained in human tissues. *J Chromatography* 361：239-252, 1986.
- 25) Haraguchi K, Kuroki H and Masuda Y：Determination of PCB methylsulphone congeners in Yusho and control patient. *Chemosphere* 15：2027-2030, 1986.
- 26) 上瀧智巳，草野達郎，鈴木由紀子，増田義人：血液試料における水酸化 PCB 分析 環境ホルモン学会 第 10 回研究発表会 埼玉 2007 年 12 月.
- 27) Masuda Y and Haraguchi K：Hydroxy and methylsulfone metabolites of polychlorinated

- biphenyls in the human blood and tissues. *Organohalogen Compounds* 66: 3625-3633, 2004.
- 28) Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AC, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman A and Visser TJ : Interaction of persistent environmental organohalogens with the thyroid hormone system : Mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol. Indust. Health* 14 : 59-84, 1998.
- 29) Hayabuchi H, Yoshimura T and Kuratsune M : Consumption of toxic rice oil by 'Yusho' patients and its relation to the clinical response and latent period. *Food Chem. Toxicol.* 17 : 455-461, 1979.
- 30) Hayabuchi H, Ikeda M, Yoshimura T and Masuda Y : Relationship between the consumption of toxic rice oil and long-term concentration of polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients. *Food Chem. Toxicol.* 19: 53-55, 1981.
- 31) 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.
- 32) Yoshihara S, Nagata K, Yoshimura H, Kuroki H and Masuda Y : Inductive effect on hepatic enzymes and acute toxicity of individual polychlorinated dibenzofurans congeners in rats. *Toxicol. App Pharmacol.* 59 : 580-588, 1981.
- 33) 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.
- 34) 高久史麿 監修 : 臨床検査データブック 2009-2010, 内分泌学的検査, pp231-324, 医学書院, 東京, 2009.
- 35) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Dioxin concentration in the blood of patients collected during medical check-up for Yusho in 2004-2005, *Fukuoka Igaku Zasshi* 98 : 222-231, 2007.
- 36) Watanabe K, Takasuga T, Kurunthachalam S, Takemori H, Shoda T and Kuroda Y: Hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) and their precursors (Total PCBs) in human serum and Cerebrospinal Fluid (CSF) samples. *Organohalogen Compounds* 67 : 1674-1678, 2005.
- 37) 増田義人 : 平成 17 年度福岡県油症患者血液 PCB 分析班報告 2005.
- 38) Kuroda-Kimura J, Nagata I and Kuroda Y : Disrupting effects of hydroxy-polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on neuronal development of cerebellar Purkinje cells : a possible causal factor for developmental brain disorders. *Chemosphere* 67: S412-420. 2007.
- 39) Soechitram SD, Athanasiadou M, Hovander L and Bergman A, Sauer PJJ: Fetal exposure to PCBs and their hydroxylated metabolites in Dutch cohort. *Environ. Health Perspect.* 112: 1208-1212, 2004
- 40) Tsukimori K, Tokunaga S, Shibata S, Uchi H, Nakayama D, Ishimura T, Nakano H, Wake N, Yoshimura T and Furue M : Long-term effects of polychlorinated biphenyls and dioxins on pregnancy outcomes in women affected by Yusho incident. *Environ. Health Perspect.* 116: 626-630, 2008.
- 41) Murai K, Okamura K, Tsuji H, Kajiwara E, Watanabe H, Akagi K and Fujishima M: Thyroid function in "Yusho" patients exposed to polychlorinated biphenyls (PCB). *Environ. Research* 44 : 179-187, 1987.
- 42) 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.
- 43) Hashiguchi I and Akamine A : Oral mucosa and dental findings in Yusho. *J Dermatol Sci. Supplement* 1, S65-S72, 2005.
- 44) Tokunaga S and Kataoka K: A longitudinal analysis on the association of serum lipids and lipoproteins concentrations with blood polychlorinated biphenyls level in chronic "Yusho" patients. *Fukuoka Igaku Zasshi* 94 : 110-117, 2003.
- 45) Tsuji H and Ito Y: Blood chemistry, alpha-fetoprotein and hepatitis B surface antigen in Yusho. *J. Dermatological Science supplement* 1 : S29-S31, 2005.
- 46) Yoshimura T, Nakano J, Okita M, Kikuchi Y, Kitamura T and Ishikawa T : Complete blood cell counts and blood chemistry in Yusho. *J. Dermatological Science Supplement* 1 : S45-S55, 2005.
- 47) Nakanishi Y, Tokunaga S, Takayama K and Kuwano K : Cardiac, pulmonary and renal function in Yusho patients. *J. Dermatological Science Supplement* 1 : S33-S38, 2005.
- 48) Furuya H, Yamada T, Ohyagi Y, Ikezoe K, Miyoshi T, Fujii N and Kira J : Neurological signs and symptoms in patients with chronic PCB poisoning (Yusho accident) for more than 36 years. *J. Dermatological Science Supplement* 1 : S39-S44, 2005.
- 49) Nakamura T, Miyazaki M, Ohnishi Y and Ishibashi T : Ophthalmic findings in Yusho. *J. Dermatological Science Supplement* 1 : S57-S63,

- 2005.
- 50) 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 dibenzofurans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs). *J. Dermatological Science Supplement 1* : S73-S80, 2005.
- 51) Masuda Y, Kuroki H, Haraguchi K and Nagayama J : PCDFs and related compounds in human from Yusho and Yu-cheng incidents. *Chemosphere 15* : 1621-1628, 1986.
- 52) Hsu ST, Ma CI, Hsu SKH, Wu SS, Hsu NHM, Yeh CC and Wu SB : Discovery and epidemiology of PCB poisoning in Taiwan : A four-year follow up. *Environ. Health Perspect. 59* : 5-10, 1985.
- 53) 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.
- 54) Chen YCJ, Guo YL, Hsu CC and Rogan WJ : Cognitive development of Yu-Cheng ('Oil Disease') children prenatally exposed to heat-degraded PCBs. *JAMA 268* : 3213-3218, 1992.
- 55) Lin KC, Guo NW, Tsai PC, Yang CY and Guo YL : Neurocognitive changes among elderly exposed to PCBs/PCDFs in Taiwan. *Environ. Health Perspect. 116* : 184-189, 2008.
- 56) Guo YL, Hsu PC, Hsu CC and Lambert GH : Semen quality after prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *The Lancet 356* : 1240-1241, 2000.
- 57) Wang SL, Chen TT, Hsu JF, Hsu CC, Chang LW, Ryan JJ, Guo YL and Lambert GH : Neonatal and childhood teeth in relation to perinatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans: observations of Yucheng children in Taiwan. *Environ. Research 93* : 131-137, 2003.
- 58) Yang CY, Wang YJ, Chen PC, Tsai SJ and Guo YL : Exposure of a mixture of polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans resulted in a prolonged time to pregnancy in women. *Environ. Health Perspect. 116* : 599-604, 2008.
- 59) Wang SL, Tsai PC, Yang CY and Guo YL : Increased risk of diabetes and polychlorinated biphenyls and dioxins: A 24-year follow-up study of the Yucheng cohort. *Diabetes Care 31* : 1574-1579, 2008.
- 60) Kocan A, Petrik J, Jursa S, Chovanocova J and Drobna B : Environmental contamination with polychlorinated biphenyls in the area of their former manufacture in Slovakia. *Chemosphere 43*: 595-600, 2001.
- 61) Pavuk M, Cerhan JR, Lynch CF, Schecter A, Petrik J, Chovanocova J and Kocan A : Environmental exposure to PCBs and cancer incidence in eastern Slovakia. *Chemosphere 54* : 1509-1520, 2004.
- 62) Hovander L, Linderholm L, Athanasiadou M, Athanasiadis I, Bignert A, Fangstrom B, Kocan A, Petrik J, Trnovec T and Bergman A : Levels of PCBs and their metabolites in the serum of residents of a highly contaminated area in eastern Slovakia. *Environ. Sci. Technol. 40* : 3696-3703, 2006.
- 63) Langer P, Kocan A, Tajtakova M, Radikova Z, Petrik J, Koska J, Ksinantova L, Imrich R, Huckova M, Chovanocova J, Drobna B, Jursa S, Bergman A, Athanasiadou M, Hovander L, Gasperikova D, Trnovec T, Sebokova E and Klimes I : Possible effect of persistent organochlorinated pollutants cocktail on thyroid hormone levels and pituitary-thyroid interactions. *Chemosphere 70* : 110-118, 2007.
- 64) Langer P, Tajtakova M, Kocan A, Petrik J, Koska J, Ksinantova Z, Radikova Z, Ukropec J, Imrich R, Huckova M, Chovanocova J, Drobna B, Jursa S, Vlcek M, Bergman A, Athanasiadou M, Hovander L, Shishiba Y, Trnovec T, Sebokova E and Klimes I : Thyroid ultrasound volume, structure and function after long-term high exposure of large population to polychlorinated biphenyls, pesticides and dioxin. *Chemosphere 69* : 118-127, 2007.
- 65) Park HY, Hertz-Picciotto I, Petrik J, Palkovicova L, Kocan A and Trnovec T : Prenatal PCB exposure and thymus size at birth in neonates in Eastern Slovakia. *Environ. Health Perspect. 116* : 104-109, 2008.
- 66) Jan J, Sovcikova, Kocan A, Wsolova L and Trnovec T : Developmental dental defects in children exposed PCBs in eastern Slovakia. *Chemosphere 67* : S350-S354, 2007.
- 67) Sovcikova W, Trnovec T, Hustak M, Petrik J, Kocan A, Drobna B, Wimmerova S and Wsolova L : Neurobehavioral observation and hearing impairment in children at school age in eastern Slovakia. *Organohalogen Compounds 66* : 3515-3522, 2004.
- 68) Radikova Z, Koska J, Ksinantova L, Imrich R, Kocan A, Petrik J, Huckova M, Wsolova L,

- Langer P, Trnovec T, Sebkova E and Klimes I : Increased frequency of diabetes and other forms of dysglycemia in the population of specific areas of eastern Slovakia chronically exposed to contamination with polychlorinated biphenyls (PCB). *Organohalogen Compounds* 66 : 3498-3502, 2004.
- 69) Park JS, Bergman A, Linderholm L, Athanasiadou M, Kocan A, Petrik J, Drobna B, Trnovec T, Charles MJ and Herts-Picciotto I : Placental transfer of polychlorinated biphenyls their hydroxylated metabolites and pentachlorophenol in pregnant women from eastern Slovakia. *Chemosphere* 70, 1676-1684, 2008.
- 70) Park JS, Linderholm L, Charles J, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobna B, Trnovec T, Bergman A and Herts-Picciotto I : Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ. Health Perspect.* 115: 20-27, 2007.
- 71) Jacobson JL and Jacobson SW : Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyl in utero. *New England J Med* 335: 783-789, 1996.
- 72) Stewart PW, Lonky E, Reihman J, Pagano J, Gump BB and Darvill T : The relationship between prenatal PCB exposure and intelligence (IQ) in 9-Year-old children. *Environ. Health Perspect.* 116: 1416-1422, 2007.
- 73) Carpenter DO, Shen Y, Nguyen T, Le L and Lininger L : Incidence of endocrine disease among residents of New York areas of concern. *Environ. Health Perspect.* 109(suppl 6): 845-851, 2001.
- 74) Cordu N, Schymura MJ, Negoita S, The Akwesasne Task Force on the Environment, Rej R and Carpenter DO : Diabetes in relation to serum levels of polychlorinated biphenyls and chlorinated pesticides in adult native American. *Environ. Health Perspect.* 115: 1442-1447, 2007.
- 75) Schell LM, Gallo MV, Denham M, Ravenscroft J and DeCaprio AP : Relationship of thyroid hormone levels to levels of polychlorinated biphenyls, lead, p,p'-DDE, and other toxicants in Akwesasne Mohawk youth. *Environ. Health Perspect.* 116 : 806-813, 2008.
- 76) Turyk ME, Anderson HA and Persky VW : Relationships of thyroid hormones with polychlorinated biphenyls, Dioxins, Furans and DDE in adults. *Environ. Health Perspect.* 115 : 1197-1203, 2007.
- 77) Chevrier J, Eskenazi B, Bradman A, Fenster L and Barr DB : Association between prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and neonatal Thyroid-Stimulating Hormone levels in a Mexican-American population, Salinas Valley, California. *Environ. Health Perspect.* 115 : 1490-1496, 2007.
- 78) Lee DH, Steffes M and Jacobs DR : Positive association of serum concentration of polychlorinated biphenyls or organochlorine pesticides with self-reported arthritis, especially rheumatoid type, in women. *Environ. Health Perspect.* 115 : 883-888, 2007.
- 79) Maervoet J, Vermier G, Covaci A, Van Larebeke N, Koppen G, Schoeters G, Nelen V, Baeyens W, Schepens P and Viaene MK : Association of thyroid hormone concentrations with levels of organochlorine compounds in cord blood of neonates. *Environ. Health Perspect.* 115 : 1780-1786, 2007.
- 80) Wang SL, Su PH, Jong SB, Guo YL, Chou WL and Paepke O : In utero exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls and its relations to thyroid function and growth hormone in newborn. *Environ. Health Perspect.* 113 : 1645-1650, 2005.

(Received for publication March 25, 2009)

Concentrations of Polychlorinated Biphenyls in Blood Collected from Yusho Patients during Medical Check-ups Performed from 2004 to 2007

Takashi TODAKA¹⁾, Tsuguhide HORI²⁾, Daisuke YASUTAKE²⁾, Hideaki YOSHITOMI²⁾, Hironori HIRAKAWA²⁾, Daisuke ONOZUKA²⁾, Jumboku KAJIWARA²⁾, Takao IIDA³⁾, Takesumi YOSHIMURA²⁾ and Masutaka FURUE¹⁾⁴⁾

¹⁾*Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyusyu University, Fukuoka, Japan*

²⁾*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, Fukuoka, Japan*

³⁾*Kitakyushu Life Science Center, Fukuoka, Japan*

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

Abstract To elucidate the exposure levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) for Yusho patients, we conducted a congener-specific analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs) in blood collected from 242, 237, 300, and 96 Yusho patients during medical check-ups performed from 2004 to 2007, respectively, and in samples from 74, 113, 125, and 148 Yusho-suspected persons during those same years, respectively, and compared the individual congener concentrations of PCBs among the groups of Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls with the concentrations previously reported. Among the 209 PCB congeners, 8 congeners of mono-*ortho* PCBs and 56 congeners of non-dioxin-like PCBs were identified in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons. Among the PCB congeners measured in the present study, hexaCB-153, hexaCB-138, heptaCB-180, and heptaCB-182/heptaCB-187 showed high ratios to total concentrations of 64 PCB congeners detected in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons from 2004 to 2007, and the profiles of the major congeners were the same as those obtained in normal controls. With respect to the minor congeners of PCBs, several differences were observed among the three groups. The sums of the concentrations of 64 PCB congeners in the blood of Yusho patients from 2004 to 2007 were 645, 760, 667, and 510 ng g⁻¹ lipid for each year, respectively, and the concentrations were 1.5, 1.8, 1.5, and 1.2 times higher than those of normal controls for each year, respectively. Those of the Yusho-suspected persons were approximately 0.8, 1.1, 0.9, and 1.0 times higher than those of normal controls for each year, respectively. The ratios of heptachlorinated biphenyls (heptaCBs) to the total concentrations of 64 PCB congeners in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons from 2004 to 2007 tended to be slightly higher than those in the normal controls. From the results comparing the concentrations of 64 PCB congeners in the blood between Yusho patients and normal controls, the concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189 for Yusho patients were 3.4, 3.8, 3.9, and 3.8 times, respectively, 3.9, 4.1, 3.9, and 4.4 times, respectively, 3.6, 3.9, 5.0, and 4.1 times, respectively, and 2.3, 2.5, 2.7, and 2.9 times higher than those of the normal controls for each year from 2004 to 2007, respectively. These results indicated that Yusho patients still have higher concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189 in their blood than do unaffected people, even though over 35 years have passed since the outbreak of Yusho. These four congeners can therefore be considered to be the most important congeners for evaluating the PCBs exposure of Yusho patients.

Corresponding author : Takashi TODAKA
Tel : +81-92-921-9946 ; Fax : +81-92-928-1203
E-mail address : todaka@fihes.pref.fukuoka.jp

Introduction

The Yusho poisoning accident, which affected over 1800 people, occurred in 1968 in western Japan, and was caused by the ingestion of rice bran oil that contained the following contaminants : PCBs, polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated quarterphenyls, and polychlorinated terphenyls¹⁾. Since the Yusho outbreak, medical care services and health examinations of the subjects have been carried out by the Yusho study group investigating this disease. From the results of extensive research by the Yusho study group, PCDFs were concluded to be the primary cause of the Yusho disease symptoms^{2)–4)}. In order to support the health care of Yusho patients, we measured the concentrations of PCDDs, PCDFs, and non-*ortho* PCBs in blood collected from 279, 269, 242, 237, 300, and 96 Yusho patients during medical check-ups performed from 2002 to 2007, respectively, and in samples from 92, 74, 74, 114, 125, and 148 Yusho-suspected persons during those same years, respectively^{5)–11)}. We also measured the concentrations of these dioxin-like compounds in the blood of 127 normal controls unaffected by Yusho whose ages were similar to those of the Yusho patients^{8)–10)}. The results showed that PCDFs in the blood of Yusho patients, in particular 2,3,4,7,8-pentachlorinated dibenzofuran (2,3,4,7,8-pentaCDF), are still present at much higher concentrations than in the blood of unaffected people.

Over 35 years have passed since the Yusho outbreak, which occurred because Yusho patients had ingested rice oil contaminated with large amounts of PCBs that were used as a heat-transfer medium in the process of rice oil production¹²⁾. Survey studies of the concentrations of PCB congeners in the blood of Yusho patients are very important when considering the health status of these patients. With respect to the analysis of PCB congeners in the blood of Yusho patients,

exposure studies of total PCB levels and the major congeners in the blood were primarily developed beginning 5 years after the outbreak of Yusho¹³⁾. However, a survey study regarding the full congener-specific concentrations of PCBs in the blood of Yusho patients have not been conducted. Recently, advances in the analytic methods used for quantification of PCB congeners have made it much easier to evaluate the exposure levels of PCBs in human¹⁴⁾. We previously conducted a congener-specific analysis of PCBs in the blood collected from 15 Yusho patients and 43 Yusho-suspected persons in 2006 for a preliminary study¹⁵⁾. We also measured the 64 PCB congener concentrations in the blood of 127 normal controls unaffected by Yusho¹⁶⁾. Although our studies have led to reports of the congener concentrates of PCBs in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons, the studies have suffered from small sample size. To obtain the most useful data for evaluating the exposure levels of PCB congeners in the blood of Yusho patients, it is necessary to measure the concentrations of full PCB congeners in the blood collected from many more Yusho patients. Consequently, the data from congener profiles regarding PCBs in the blood of Yusho patients may provide us with newly important information related to exposure evaluation of patients and with valuable information for future epidemiologic studies.

In this study, we carried out a congener-specific analysis of PCBs in the blood collected from 242, 237, 300, and 96 Yusho patients during medical check-ups performed from 2004 to 2007, respectively, and in samples from 74, 113, 125, and 148 Yusho-suspected persons during those same years, respectively, and compared with the concentrations of PCB congeners among the groups of Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls that had been previously reported.

Materials and Methods

1. Sampling

Medical check-ups for Yusho patients have been conducted annually to determine the health status of patients since the outbreak of the Yusho incident. The medical check-ups are available not only to those persons officially registered as Yusho patients but also to Yusho-suspected persons who regard themselves as potential victims. Both officially registered Yusho patients and Yusho-suspected persons are examined based on the "Diagnostic Criteria for Yusho"¹⁾. The blood samples examined in this study were collected from 316, 351, 425, and 244 participants who received a medical check-up for each year from 2004 to 2007, respectively, from whom informed consent was obtained. The 316 participants included 242 Yusho patients (mean : 65.5 years) and 74 Yusho-suspected persons (mean : 54.7 years) in 2004, the 351 participants included 237 Yusho patients (mean : 67.3 years) and 114 Yusho-suspected persons (mean : 54.7 years) in 2005, the 425 participants included 300 Yusho patients (mean : 66.3 years) and 125 Yusho-suspected persons (mean : 50.7 years) in 2006, and the 244 participants included 96 Yusho patients (mean : 57.8 years) and 148 Yusho-suspected persons (mean : 56.5 years) in 2007. Among 114 Yusho-suspected persons in 2005, the concentrations of PCB congeners in the blood of 113 persons (mean : 56.8 years) were measured in the present study. Blood samples of 10 ml were collected using a vacuum blood-collecting tube containing heparin and were stored at 4°C until analyses for congener concentrations of PCBs.

2. Materials

Native congeners of mono-*ortho* PCBs and non-dioxin-like PCBs were purchased from Wellington Laboratories (Guelph, Canada). [¹³C₁₂]-congeners of mono-*ortho* PCBs and non-dioxin-like 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. An active carbon-dispersed silicagel was purchased from Kanto Chemical Industries, Ltd., Tokyo, Japan. All reagents and solvents used in this experiment were of the analytic grade of dioxin that is commercially available. All glassware instruments used in this experiment were treated in a high-temperature oven (ALP Co. Ltd., Tokyo, Japan) at 450°C for 6 hours.

3. Analysis of non-dioxin-like PCBs

The extraction and purification of PCB congeners from the blood samples was performed using a previously reported method^{15)–17)}. Congener-specific analysis of PCBs was measured using a high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry (HRGC / HRMS)^{15)–17)}.

4. Quality control

The limit of detection (LOD) for each congener of PCBs was determined at a signal-to-noise ratio of three on the chromatogram of a standard sample. The limit of quantification for each congener of PCBs was assessed at 0.03 pg g⁻¹. To evaluate the accuracy and reliability in the congener-specific analysis of PCBs, our laboratory in 2007 prepared human blood samples for quality control and attempted to carry out a quality control study for the analysis of these PCB congeners in human blood. Measurements of 64 PCB congeners that were measured in the present study among 209 PCB congeners requested from three different analysis organizations and their results were compared with our results. It was confirmed that the results

obtained by our laboratories were almost identical to those obtained by the three different analysis organizations. The average variation among the total levels of these PCB congeners in human blood samples obtained by four laboratories was within 15% and was considered an acceptable difference. In addition, our laboratory's analytical method for PCB congeners demonstrated high reproducibility based on experiments conducted using the same control blood sample for ten weeks. These findings indicate that our laboratory's analytical method for PCB congeners in human blood provides correct results.

Results and discussion

PCBs form a family of 209 congeners differing in number (mono, di, tri, tetra, penta, hexa, hepta, octa, nona, and deca) and position (2, 2', 3, 3', 4, 4', 5, 5', 6, and 6') of the chlorine atoms on the two basic benzene rings. The 209 PCB congeners consist of 12 dioxin-like PCBs (non-*ortho* PCBs and mono-*ortho* PCBs) and 197 non-dioxin-like PCBs. Among the 209 PCB congeners, 8 congeners of mono-*ortho* PCBs and 56 congeners of non-dioxin-like PCBs were identified in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons. The concentrations of PCB congeners in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons from 2004 to 2007, including the dates of the normal controls that had been previously reported, are presented in Table 1–2. We compared the congener patterns of PCBs in normal controls of our studies with those from 24 healthy Japanese volunteers (12 men and 12 women; age range 25–46 years) that had previously been reported in Japan¹⁸. Among 93 PCB congeners that were measured in the blood, as previously reported, 63 were commonly detected in the blood of normal controls in the present study. The total concentrations of the 63 congeners contributed approximately 96% of the total concentrations of 93 PCB congeners. These 63 PCB congeners measured in the present study may be considered to be the predominant PCB congeners

in humans.

Among the 64 PCB congeners that were measured in the present study, hexaCB-138, hexaCB-153, heptaCB-180, and heptaCB-182/heptaCB-187 showed high ratios to the total concentrations of 64 PCB congeners detected in the blood of Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls (Table 1–2). Other PCB congeners contributed less than 6% of the total concentrations of these PCB congeners. Although the patterns of the major PCB congeners in the blood of Yusho patients and Yusho-suspected persons from 2004 to 2007 were almost the same as those obtained in normal controls, several differences with respect to the minor PCB congeners were observed among the three groups.

The sums of the concentrations of 64 PCB congeners in the blood of Yusho patients from 2004 to 2007 were 40–3032 (mean : 645, median : 536) ng g⁻¹ lipid in 2004, 40–4723 (mean : 760, median : 575) ng g⁻¹ lipid in 2005, 74–2432 (mean : 667, median : 553) ng g⁻¹ lipid in 2006, and 51–2252 (mean : 510, median : 357) ng g⁻¹ lipid in 2007, respectively, and the concentrations were 1.5, 1.8, 1.5, and 1.2 times higher than those of normal controls for each year, respectively (Table 1). In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 20–1418 (mean : 355, median : 317) ng g⁻¹ lipid in 2004, 64–4055 (mean : 490, median : 351) ng g⁻¹ lipid in 2005, 18–1850 (mean : 397, median : 257) ng g⁻¹ lipid in 2006, and 19–2183 (mean: 440, median : 293) ng g⁻¹ lipid in 2007, respectively, which were almost the same or slightly lower than those of normal controls (Table 2).

The arithmetic mean concentrations of triCBs, tetraCBs, pentaCBs, hexaCBs, heptaCBs, octaCBs, nonaCBs, and decaCB-209 in the blood of Yusho patients were 1.9, 16, 45, 292, 228, 57, 4.5, and 1.4 ng g⁻¹ lipid in 2004, respectively, 2.5, 21, 53, 331, 268, 78, 5.0, and 1.6 ng g⁻¹ lipid in 2005, respectively, 1.7, 19, 49, 305, 240, 46, 5.3, and 1.5 ng g⁻¹ lipid in 2006, respectively, and 1.6, 13, 36, 227, 188, 38, 4.4, and 1.4

Table 1 Concentrations of PCB congeners in blood collected from Yusho patients during medical check-ups performed from 2004 to 2007

IUPAC#	Concentration (pg g ⁻¹ lipid)									
	Yusho patients								Normal controls	
	2004 (n=242)		2005 (n=237)		2006 (n=300)		2007 (n=96)		2005 (n=127)	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
TriCB-28	1818	1191	2420	3808	1715	2184	1582	1358	2571	1658
TriCB-29	34	19	35	61	29	31	18	20	25	18
TetraCB-44	402	202	1139	3063	435	442	296	317	459	175
TetraCBs-47/48	605	348	925	2097	547	482	413	300	607	214
TetraCB-49	282	149	613	1599	248	215	212	177	303	127
TetraCBs-52/69	1192	837	2323	5769	1054	1174	843	748	1292	830
TetraCBs-56/60	712	524	732	956	363	303	255	179	888	704
TetraCB-63	118	69	125	145	130	95	92	62	146	89
TetraCB-66	1718	1431	2049	2208	1935	1613	1483	1051	2349	1823
TetraCB-70	229	116	721	2027	164	124	122	91	260	98
TetraCB-71	189	105	211	550	47	165	58	105	192	73
TetraCB-74	10666	8120	11990	8489	13851	11024	8763	7509	19526	10790
PentaCB-85	236	318	207	307	141	200	120	149	219	142
PentaCB-87	827	580	922	1162	591	510	431	464	693	379
PentaCB-92	707	521	821	923	685	629	588	450	863	662
PentaCBs-93/95/98	774	400	1497	3629	721	986	514	347	836	407
PentaCB-99	15374	12284	17606	14779	18548	14980	13264	17385	12545	6783
PentaCB-101	1787	1305	2349	3119	1914	1828	1394	1119	1902	1235
PentaCB-105 ^a	3571	2760	4018	3217	3750	2947	2810	2003	5082	3383
PentaCBs-107/108	718	492	810	647	773	569	561	369	992	757
PentaCB-110	419	364	690	1355	282	225	182	221	412	176
PentaCB-114 ^a	2038	1744	2281	1920	2141	1827	1289	1238	1697	826
PentaCB-117	1359	1465	1533	1947	1074	1122	737	1212	926	680
PentaCB-118 ^a	17042	12788	19822	15706	18418	14670	14316	10392	24440	14679
PentaCB-123 ^a	295	234	311	279	279	258	247	182	468	328
HexaCB-128	826	873	911	693	694	615	527	439	880	505
HexaCB-130	4110	3593	4615	4428	4304	3750	3265	4149	2614	1562
HexaCB-132	294	217	239	371	339	411	257	223	283	170
HexaCB-134	34	35	36	58	31	61	28	39	27	31
HexaCB-135	480	341	517	424	406	418	319	242	477	291
HexaCB-137	5508	5005	6138	6122	6390	6021	4348	5994	2965	1412
HexaCB-138	58147	42072	68094	52006	65917	48236	47976	47789	40924	19598
HexaCB-139	904	971	1000	1091	805	1178	632	797	825	477
HexaCB-141	291	257	334	314	307	325	235	197	325	202
HexaCB-146	20343	12985	24225	17000	20998	13746	16227	14297	13875	6700
HexaCB-147	569	425	614	495	595	459	470	372	484	317
HexaCB-151	1237	955	1356	1170	1044	908	867	677	1260	937
HexaCB-153	126391	86969	148002	109234	132592	89077	102239	91440	89802	40669
HexaCB-156 ^a	27074	27229	30671	33787	28793	32309	18496	27136	7945	3720
HexaCB-157 ^a	7622	7803	8217	9746	7786	9060	4957	7695	2011	903
HexaCBs-163/164	34429	24083	31623	22719	30325	20793	23396	21654	19286	9784
HexaCB-167 ^a	3630	2703	4350	3163	3339	2474	2513	2104	3648	1860
HeptaCB-170	36016	26128	43555	36732	38345	28706	29254	31599	17228	8740
HeptaCB-172	5702	4145	6767	5980	5493	4075	4215	4538	2965	1522
HeptaCB-177	8382	6484	9327	7419	10327	7734	7690	6578	5745	3082
HeptaCB-178	9001	6971	11169	10918	9927	7823	8012	8654	6234	3128
HeptaCB-179	217	185	231	211	306	314	234	179	209	134
HeptaCB-180	109577	87497	127853	121701	110731	87486	89364	102641	59346	30303
HeptaCB-181	276	365	275	452	354	697	191	438	71	45
HeptaCBs-182/187	43472	36974	50928	46733	47492	39917	36728	38985	28073	13989
HeptaCB-183	9470	8265	11224	9513	11455	9285	8033	7807	6155	3047
HeptaCB-189 ^a	3931	3418	4607	4451	4243	4223	3035	4030	1046	518
HeptaCB-191	1785	1456	1827	1702	1822	1512	1276	1565	765	371
OctaCB-194	17008	14156	22221	22944	18013	14759	15295	18735	8580	5140
OctaCB-195	3789	2950	4724	3766	4812	3636	3541	3719	1820	946
OctaCBs-196/203	14706	11499	19496	18543	9561	7131	8226	9187	7822	4148
OctaCBs-198/201	17780	15157	25186	29596	8508	7041	7274	8778	10074	5670
OctaCB-200	447	410	669	578	511	504	389	334	652	1394
OctaCB-202	2265	2343	5061	5072	3687	3057	3240	3801	2813	4490
OctaCB-205	622	441	909	709	557	428	428	437	309	139
NonaCB-206	2958	1733	3419	2307	3198	1947	2617	2161	1957	893
NonaCB-207	479	292	459	324	675	437	528	390	340	176
NonaCB-208	1029	585	1100	923	1411	854	1236	1060	775	376
DecaCB-209	1359	648	1646	1046	1522	779	1398	847	1359	543
Total TriCBs	1852	1193	2455	3852	1743	2186	1599	1361	2596	1658
Total TetraCBs	16113	9639	20829	22083	18774	12855	12537	8749	26023	13501
Total PentaCBs	45147	27613	52868	36881	49315	32028	36455	28513	51075	28205
Total HexaCBs	291889	194020	330942	234476	304666	205100	226753	211649	187632	85471
Total HeptaCBs	227829	174468	267761	236075	240496	182066	188032	201281	127837	63542
Total OctaCBs	56618	45696	78265	78912	45649	35380	38393	44263	32068	18677
Total NonaCBs	4467	2551	4978	3450	5285	3125	4380	3545	3072	1409
Total DecaCB	1359	648	1646	1046	1522	779	1398	847	1359	543
Total Mono-ortho PCBs	65203	43994	74276	54320	68749	51156	47663	45728	46338	24419
Total PCBs	645274	430699	759745	568301	667449	442851	509548	472748	431662	200299
Age (years)	65.5	11.8	67.3	11.3	66.3	12.0	67.8	14.5	68.1	5.4

The participants of the medical check-up for Yusho during 2004 to 2007 were 316, 351, 425, and 244 for each year, respectively.

^a Mono-ortho PCBs; CB: chlorinated biphenyls; S.D.: standard deviation.

Table 2 Concentrations of PCB congeners in blood collected from Yusho-suspected persons during medical check-ups performed from 2004 to 2007

IUPAC#	Concentration (pg/g lipid)									
	Yusho suspected persons								Normal controls	
	2004 (n=74)		2005 (n=113)		2006 (n=125)		2007 (n=148)		2005 (n=127)	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
TriCB-28	1819	1025	3320	3653	1636	2114	2010	2488	2571	1658
TriCB-29	34	22	43	64	25	46	28	25	25	18
TetraCB-44	394	155	1656	3167	348	242	345	279	459	175
TetraCBs-47/48	539	257	1237	2208	429	296	421	261	607	214
TetraCB-49	269	142	907	1707	212	172	211	164	303	127
TetraCBs-52/69	1242	1023	3391	6159	947	1198	941	855	1292	830
TetraCBs-56/60	578	441	1161	1090	382	550	410	521	888	704
TetraCB-63	105	77	162	161	120	114	115	90	146	89
TetraCB-66	1575	1205	2354	2191	1909	1973	1961	1900	2349	1823
TetraCB-70	230	105	1124	2143	111	82	155	114	260	98
TetraCB-71	180	106	361	682	38	59	91	145	192	73
TetraCB-74	11737	9797	13839	11460	14243	16616	14448	15962	19526	10790
PentaCB-85	193	203	231	307	119	118	111	85	219	142
PentaCB-87	542	288	881	1194	373	324	400	310	693	379
PentaCB-92	639	674	883	1041	646	717	583	536	863	662
PentaCBs-93/95/98	722	380	2061	3733	605	473	601	382	836	407
PentaCB-99	8985	6289	10419	7321	10970	10233	11433	9464	12545	6783
PentaCB-101	1464	1102	2520	3147	1537	1342	1531	1182	1902	1235
PentaCB-105 ^a	3364	2733	4224	3566	3626	3655	3945	3867	5082	3383
PentaCBs-107/108	648	507	840	740	723	667	703	624	992	757
PentaCB-110	373	297	904	1472	251	209	205	234	412	176
PentaCB-114 ^a	1091	837	1397	1105	1153	1080	1253	1107	1697	826
PentaCB-117	633	513	976	922	562	555	560	468	926	680
PentaCB-118 ^a	16544	13835	20545	16861	17950	18522	19488	19310	24440	14679
PentaCB-123 ^a	308	269	395	357	309	365	353	366	468	328
HexaCB-128	654	535	810	603	571	490	571	429	880	505
HexaCB-130	1858	1561	2594	2565	2145	2233	2421	2110	2614	1562
HexaCB-132	238	169	254	329	281	248	271	236	283	170
HexaCB-134	34	28	34	58	24	40	31	45	27	31
HexaCB-135	391	282	442	389	344	294	369	248	477	291
HexaCB-137	2122	1574	2695	2427	2625	2445	2740	2351	2965	1412
HexaCB-138	31378	23233	38959	31084	36864	36524	39862	36242	40924	19598
HexaCB-139	685	736	890	1001	543	538	593	492	825	477
HexaCB-141	239	171	297	297	260	234	259	240	325	202
HexaCB-146	11517	8429	15591	16878	12719	13093	14023	13151	13875	6700
HexaCB-147	405	334	460	449	466	453	493	391	484	317
HexaCB-151	969	782	1253	1150	922	865	954	853	1260	937
HexaCB-153	75410	58818	96651	91057	83566	86696	91192	88541	89802	40669
HexaCB-156 ^a	5887	4326	8869	9380	6900	6094	7802	6869	7945	3720
HexaCB-157 ^a	2166	2222	2174	2097	1785	1679	1942	1704	2011	903
HexaCBs-163/164	16999	13390	19007	21801	16910	17510	18590	17661	19286	9784
HexaCB-167 ^a	2712	2405	3769	3289	2687	2825	3024	3104	3648	1860
HeptaCB-170	14794	13515	22610	29747	17887	19341	20739	22864	17228	8740
HeptaCB-172	2608	2426	3928	6411	2828	3096	3276	3624	2965	1522
HeptaCB-177	4777	4048	6358	6967	6601	7273	7445	7408	5745	3082
HeptaCB-178	5177	4610	7857	11852	6493	7073	7157	7781	6234	3128
HeptaCB-179	170	114	198	163	254	233	259	196	209	134
HeptaCB-180	55302	53045	78372	114192	63109	72895	72408	85344	59346	30303
HeptaCB-181	57	52	58	70	150	882	81	87	71	45
HeptaCBs-182/187	25597	21831	35459	47747	31520	36851	35742	40465	28073	13989
HeptaCB-183	5476	4956	7059	7060	7084	8231	7859	8806	6155	3047
HeptaCB-189 ^a	857	785	1433	2034	1120	1152	1274	1394	1046	518
HeptaCB-191	653	574	781	843	748	820	845	877	765	371
OctaCB-194	7892	8116	13424	24994	9785	11465	11573	14976	8580	5140
OctaCB-195	1674	1400	2576	3354	2479	2710	2892	3360	1820	946
OctaCBs-196/203	7202	6295	12104	18641	5299	6007	6697	7843	7822	4148
OctaCBs-198/201	9456	9330	17503	31026	5226	5988	6128	7475	10074	5670
OctaCB-200	285	232	445	412	372	424	414	440	652	1394
OctaCB-202	1530	1239	3517	5375	2504	2691	2776	3092	2813	4490
OctaCB-205	264	215	509	813	270	315	314	350	309	139
NonaCB-206	1519	1026	2243	3576	1787	1598	1962	1908	1957	893
NonaCB-207	270	179	302	282	398	378	453	407	340	176
NonaCB-208	612	462	788	1279	855	754	972	860	775	376
DecaCB-209	966	567	1399	2130	1053	781	1152	823	1359	543
Total TrCBs	1853	1026	3362	3698	1661	2116	2038	2488	2596	1658
Total TeCBs	16848	11984	26191	22475	18739	19489	19097	18351	26023	13501
Total PeCBs	35506	26017	46276	33755	38823	36269	41167	35744	51075	28205
Total HxCBs	153666	114958	194751	177719	169610	169682	185138	172086	187632	85471
Total HpCBs	115468	104054	164114	224475	137794	155300	157085	176803	127837	63542
Total OcCBs	28303	26319	50077	83787	25936	29185	30796	37186	32068	18677
Total NoCBs	2401	1639	3333	5074	3040	2663	3388	3139	3072	1409
Total DecaCB	966	567	1399	2130	1053	781	1152	823	1359	543
Total Mono-ortho PCBs	32930	25581	42805	34002	35529	34102	39082	35572	46338	24419
Total PCBs	355011	274465	489503	516382	396656	402035	439860	426872	431662	200299
Age (years)	54.7	17.0	56.8	16.7	50.7	20.4	56.5	17.7	68.1	5.4

The participants of the medical check-up for Yusho during 2004 to 2007 were 316, 351, 425, and 244 for each year, respectively.
^a Mono-ortho PCBs; CB: chlorinated biphenyls; S.D.: standard deviation.

ng g⁻¹ lipid in 2007, respectively (Table 1). In the case of Yusho-suspected persons, these concentrations were 1.9, 17, 36, 154, 115, 28, 2.4, and 1.0 ng g⁻¹ lipid in 2004, respectively, 3.4, 26, 46, 195, 164, 50, 3.3, and 1.4 ng g⁻¹ lipid in 2005, respectively, 1.7, 19, 39, 170, 138, 26, 3.0, and 1.1 ng g⁻¹ lipid in 2006, respectively, and 2.0, 19, 41, 185, 157, 31, 3.4, and 1.2 ng g⁻¹ lipid in 2007, respectively (Table 2). On the other hand, these concentrations in the blood of normal controls were 2.6, 26, 51, 188, 128, 32, 3.1, and 1.4 ng g⁻¹ lipid, respectively. The concentrations of hexaCBs, heptaCBs, octaCBs, and nonaCBs in the blood of Yusho patients were slightly higher than those of the normal controls.

The relative contribution ratios of the concentrations of triCBs, tetraCBs, pentaCBs, hexaCBs, heptaCBs, octaCBs, nonaCBs, and decaCB-209 to the total concentrations of the 64 PCB congeners compared the ratios among the groups of Yusho patients, Yusho-suspected persons, and normal controls. The ratios of the mono-*ortho* PCBs concentrations to the total concentrations of 64 PCB congeners for Yusho patients and Yusho-suspected persons were almost the same as those of normal controls. The ratios of the triCBs, tetraCBs, pentaCBs, hexaCBs, heptaCBs, octaCBs, nonaCBs, and decaCB-209 concentrations to the total concentrations of 64 PCB congeners for normal controls were 0.6, 6.0, 11.8, 43.5, 29.6, 7.4, 0.7, and 0.3%, respectively. In the case of Yusho-suspected persons, the contribution ratios of these eight concentrations were 0.5, 4.7, 10.0, 43.3, 32.5, 8.0, 0.7, and 0.3% in 2004, respectively, 0.7, 5.4, 9.5, 39.8, 33.5, 10.2, 0.7, and 0.3% in 2005, respectively, 0.4, 4.7, 9.8, 42.8, 34.7, 6.5, 0.8, and 0.3% in 2006, respectively, and 0.5, 4.3, 9.4, 42.1, 35.7, 7.0, 0.8, and 0.3% in 2007, respectively (Table 2). Finally, the ratios of these concentrations in Yusho patients were 0.3, 2.5, 7.0, 45.2, 35.3, 8.8, 0.7, and 0.2% in 2004, respectively, 0.3, 2.7, 7.0, 43.6, 35.2, 10.3, 0.7, and 0.2% in 2005, respectively, 0.3, 2.8, 7.4, 45.6, 36.0, 6.8, 0.8, and 0.2% in 2006, respectively, and 0.3, 2.5, 7.2, 44.5, 36.9, 7.5, 0.9, and 0.3% in 2007, respectively (Table 1); it was

confirmed that the ratios of triCBs, tetraCBs, and pentaCBs to the total concentrations of the 64 PCB congeners for Yusho patients and Yusho-suspected persons were slightly lower than those of the normal controls, and the ratios of hexaCBs, octaCBs, nonaCBs, and decaCB-209 concentrations to the total PCB concentrations for Yusho patients and Yusho-suspected persons were nearly the same as those of the normal controls. However, the ratios of the concentrations of heptaCBs to the total concentrations of 64 PCB congeners in the blood for Yusho patients and Yusho-suspected persons tended to be slightly higher compared to those of the normal controls.

Among the PCB congeners measured in the present study, the concentrations of 64 PCB congeners in the blood for Yusho patients and Yusho-suspected persons were compared with those of the normal controls. The concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189 in the blood samples for Yusho patients were 27, 7.6, 0.3, and 3.9 ng g⁻¹ lipid in 2004, respectively, 31, 8.2, 0.3, and 4.6 ng g⁻¹ lipid in 2005, respectively, 29, 7.8, 0.4, and 4.2 ng g⁻¹ lipid in 2006, respectively, and 18, 5.0, 0.2, and 3.0 ng g⁻¹ lipid in 2007, respectively. These levels were 3.4, 3.8, 3.9, and 3.8 times, respectively, 3.9, 4.1, 3.9, and 4.4 times, respectively, 3.6, 3.9, 5.0, and 4.1 times, respectively, and 2.3, 2.5, 2.7, and 2.9 times higher than those of the normal controls for each year from 2004 to 2007, respectively (Table 1). In the case of Yusho-suspected persons, the concentrations were 0.7, 1.1, 0.8, and 0.8 times, respectively, 1.1, 1.1, 0.8, and 1.4 times, respectively, 0.9, 0.9, 2.1, and 1.1 times, respectively, and 1.0, 1.0, 1.1, and 1.2 times higher than those of the normal controls for each year from 2004 to 2007, respectively (Table 2). These findings indicated that Yusho patients still have higher concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189 in their blood than do unaffected persons more than 35 years after the Yusho incident. These four congeners can be considered the characteristic

congeners of PCBs in the blood of Yusho patients.

We have previously reported that the concentrations of 2,3,4,7,8-pentaCDF, which were the highest among the PCDF congeners for Yusho patients, were approximately 10 times higher than those of the normal controls^{5)–11)}. From the results obtained by the present study, the concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189, which were the highest among the PCB congeners in the blood samples for Yusho patients, were 3.4, 3.8, 3.9, and 3.8 times, respectively, 3.9, 4.1, 3.9, and 4.4 times, respectively, 3.6, 3.9, 5.0, and 4.1 times, respectively, and 2.3, 2.5, 2.7, and 2.9 times higher than those of the normal controls for each year from 2004 to 2007, respectively. These findings indicate that the ratios of 2,3,4,7,8-pentaCDF in the blood of Yusho patients for the more than 35 years since the outbreak of Yusho remain higher than those of PCB congeners.

In conclusion, the exposure levels of PCB congeners for Yusho patients and Yusho-suspected persons were able to be determined in the present study. The results indicated that Yusho patients still have higher concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189 in their blood than do unaffected people more than 35 years after the Yusho incident. These four congeners can be considered the most important congeners for evaluating the PCBs exposure of Yusho patients. We provide newly important information regarding the exposure evaluation of PCB congeners for Yusho patients and hope that these data can be used in future epidemiological investigations of Yusho patients.

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) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oils used by patients with Yusho. Fukuoka Igaku Zasshi 66 : 593–599, 1975.
- 3) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and “Yusho oil”. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 15 : 9–13, 1976.
- 4) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with “Yusho”. Food Cosmet. Toxicol. 15 : 195–198, 1977.
- 5) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T and Nakagawa R : Concentrations of PCDDs, PCDFs and Coplanar PCBs in blood of 83 patients with Yusho [in Japanese with an abstract in English]. Fukuoka Igaku Zasshi 88 : 169–176, 1997.
- 6) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu ML and Guo YL : Recent trend of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and Yu Cheng patients. Chemosphere 38 : 981–993, 1999.
- 7) 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) [in Japanese with an abstract in English]. Fukuoka Igaku Zasshi 94 : 126–135, 2003.
- 8) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T : Follow-up survey of dioxins concentrations in the blood of Yusho patients in 2002–2003. Fukuoka Igaku Zasshi 96 : 249–258, 2005.
- 9) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimira T and Furue M : Dioxin concentration in the blood of patients collected during medical check-up for Yusho in 2004–2005. Fukuoka Igaku Zasshi 98 : 222–231, 2007.
- 10) 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.
- 11) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimira T and Furue M : Dioxin concentration in the blood of patients collected during medical check-up for Yusho in

2006. *Organohalogen Compounds* 69 : 2129–2132, 2007.
- 12) Tsukamoto H, Makisumi S, Hirose H, Kojima T, Fukumoto H, Fukumoto K, Kuratsune M, Nishizumi M, Shibata M, Nagai J, Yae Y, Sawada K, Furukawa M, Yoshimura H, Tatsumi K, Oguri K, Shimeno H, Ueno K, Kobayashi H, Yano T, Ito A, Okada T, Inagami K, Koga T, Tomita Y, Koga T, Yamada Y, Miyaguchi M, Sugano M, Hori K, Takeshita K, Manako K, Nakamura Y and Shigemori, N : The chemical studies on detection of toxic compounds in the rice bran oils used by the patients of Yusho [in Japanese]. *Fukuoka Igaku zasshi* 60 : 496–512, 1969.
- 13) Masuda Y, Kagawa R, Shimamura K, Takada M and Kuratsune M : Polychlorinated biphenyls in the blood of Yusho patients and ordinary persons [in Japanese]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 65 : 25–27, 1974.
- 14) Matsumura T, Tsurukawa M, Nakano T, Ezaki T and Ohashi M : Elution orders of all 209 PCBs congeners on capillary column “HT-8” [in Japanese with an abstract in English]. *J. Environ. Chem.* 12 : 855–866, 2002.
- 15) Hori T, Tobiishi K, Ashizuka Y, Nakagawa R, Todaka T, Hirakawa H and Iida T : Congener specific determination of PCBs in human blood using gel permeation chromatography (GPC) and high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS) [in Japanese with an abstract in English]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 96 : 220–226, 2005.
- 16) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T and Furue M : Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 127 elderly residents in Nakagawa Town, Fukuoka Prefecture, Japan. *Chemosphere* 73 : 865–872, 2008.
- 17) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R, Iida T and Furue M : Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere* 73 : 923–931, 2008.
- 18) Hirai T, Fujimine Y, Watanabe S and Nakano T : Congener-specific analysis of polychlorinated biphenyl in human blood from Japanese environment. *Geochem. Health* 27 : 65–73, 2005.

(Received for publication March 25, 2009)

(和文抄録)

平成 16 年から 19 年度におけるカネミ油症検診者の 血液中ポリ塩化ビフェニール濃度

¹⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

²⁾福岡県保健環境研究所

³⁾北九州生活科学センター

⁴⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

戸高 尊¹⁾, 堀 就英²⁾, 安武大輔²⁾, 吉富秀亮²⁾, 平川博仙²⁾, 小野塚大介²⁾,
梶原淳睦²⁾, 飯田隆雄³⁾, 吉村健清²⁾, 古江増隆¹⁾⁴⁾

平成 16 年から平成 19 年度に、それぞれ 242, 237, 300 および 96 名の油症患者およびそれぞれ 74, 113, 125 および 148 名の未認定者から採取した血液中 PCB の異性体濃度を測定し、一般健常人の結果と比較した。油症患者と未認定者の血液中において、PCB 64 異性体を分離・定量した。油症患者の血液中、hexaCB-153, hexaCB-138, heptaCB-180 および heptaCB-182/187 は他と比較して高い濃度を示したが、この結果は一般健常人と同じであった。平成 16 年から 19 年度に受診した油症患者血液中 PCB の 64 異性体総濃度は、それぞれ 645, 760, 667 および 510 ng g⁻¹ lipid で、その濃度は一般健常人のそれぞれ 1.5, 1.8, 1.5 および 1.2 倍であった。未認定者の場合、総 PCB 濃度はほぼ健常人と同レベルであった。PCB 総濃度に対する各異性体の割合を比較した結果、油症患者と未認定者の heptaCBs 濃度は一般健常人より高かった。油症患者の血液中 64 PCB 異性体濃度を健常人と比較した場合、hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181 および heptaCB-189 の濃度は、一般健常人のそれぞれ 2.3-3.9, 2.5-4.1, 2.7-5.0 および 2.9-4.4 倍高い値を示した。以上の結果から、油症発症から 35 年以上が経過した現在も患者の血液中 PCB 濃度、特に hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181 および heptaCB-189 濃度は以前高いレベルにあり、油症患者の PCB 暴露を評価する上で最も重要な異性体であると言える。

2001年度～2004年度に血中PeCDF値を測定したカネミ油症認定患者の血液検査等の集計結果とその関係に関する研究

¹⁾ 東京大学医学部附属病院 企画情報運営部

²⁾ 奈良県立医科大学 健康政策医学講座

³⁾ 福岡県保健環境研究所

⁴⁾ 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

⁵⁾ 九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

神奈川芳行¹⁾, 松本伸哉¹⁾, 赤羽 学²⁾, 小池 創一¹⁾, 吉村 健清³⁾,
内 博史⁴⁾, 古江 増隆⁴⁾⁵⁾, 今村 知明²⁾,

Differential Correlation of Medical/Laboratory Examinations with Blood Levels of Polychlorinated Biphenyls, Polychlorinated Quarterphenyls and 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran in Yusho Patients from 2001 to 2004

Yoshiyuki KANAGAWA¹⁾, Shinya MATSUMOTO¹⁾, Manabu AKAHANE²⁾, Soichi KOIKE¹⁾,
Takesumi YOSHIMURA³⁾, Hiroshi UCHI⁴⁾, Masutaka FURUE⁴⁾⁵⁾ and Tomoaki IMAMURA²⁾

¹⁾ *Department of Planning Information and Management, The University of Tokyo Hospital*

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

³⁾ *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*

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

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

Abstract [Background] Since 1968, when the Yusho poisoning incident occurred, annual physical, dermatological, dental, and ophthalmological and laboratory examinations, collectively called Yusho health checks, have been conducted for Yusho patients. The Yusho incident was a health hazard caused by intake of rice-bran oil contaminated with PCB and PeCDF; therefore, since 2001 the levels of dioxins such as PeCDF in the blood have been measured in applicants. Here, we investigated correlations among findings from various medical examinations and those between those findings and PeCDF, PCB, and PCQ.

[Patients and Methods] Subjects were Yusho patients who underwent Yusho annual health checks and had their levels of PeCDF measured between 2001 and 2004. The results of 4 years of health checks of those who underwent the health checks for 2 years or longer were aggregated to extract representative inspection items by principal component analysis. We also investigated the presence or absence of correlations among these items and PeCDF, PCB, and PCQ levels in blood.

[Results] Using 49 variables extracted by principal component analysis as objective variables, we determined that there were correlations between the following combinations: arthralgia, A/G ratio and PeCDF level, ophthalmological symptoms such as excessive eye discharge and PCB level, and total cholesterol, inferior gingival pigmentation and PCQ level.

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

はじめに

カネミ油症事件は、食用米ぬか油の製造工程で使用されていた PCB や 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 等が混入した食用米ぬか油を摂取したことにより発生した食中毒事件である。その事件により、1968 年に北部九州を中心とした西日本で多くの患者が発生し、2009 年 3 月現在では、1800 名を超える患者が認定されている。これらの患者に対しては、事件発生直後から油症検診が実施され、希望者はその検診を受検している。

事件発症後 40 年近くが経過したが、この間の PCDF 等の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程度の血液量で血中 PCDF 等の測定が可能となった。このことから、2001 年度の油症検診より、希望者に対してその測定が開始されている。

今回、2001 年度～2004 年度にかけての 4 年間に血中 PeCDF 値を測定したカネミ油症患者の調査結果をとりまとめ、主成分分析により、代表的な検査項目を抽出し、それらの項目と、PeCDF 等の化学物質の血中濃度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

油症検診は、毎年実施されているが、検診の受検は患者の任意による。

油症検診での検査項目は 241 項目に及ぶ。

2001 年度以降は、希望者に対して PeCDF 値を測定している。PeCDF 値を測定した油症患者は、2001 年度 81 名、2002 年度 371 名、2003 年度 343 名、2004 年度 292 名と、この 4 年間で認定及び未認定の両方を含むと、延べ 501 名となる。

このことから、これらの検診受検者を対象に、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、さらに、PeCDF 濃度、PCB 濃度、PCQ 濃度、性別、年齢について各々関連性を分析した。

2. 分析手法

分析には、SPSS11.5J for Windows を用いて、次の手順により行った。

- (1) 患者毎のデータの代表値の計算。
- (2) 2001 年～2004 年の症状の有無や検診データから、患者毎の代表値を適宜求めた。
- (3) 主成分分析による代表的な検査項目の抽出。
ロジスティック回帰分析を行うにあたっては、その説明変数を決めるための補助解析として、主成分分析を行った。具体的には、油症検診で実施されている検診票 (52 項目)、内科検診 (55 項目)、皮膚科検診 (21 項目)、歯科検診 (108 項目)、眼科検診 (5 項目) の計 241 の検診項目の内、頻度等に関する項目を除く 172 の検診項目について、主成分分析を行った。それにより、主成分分析で固有値が 1 以上で、因子スコアの高い検査項目を代表変数とした。代表変数の決定には、機械的に最も因子スコアの高い項目を選択するのではなく、次の基準を加味した。

- ① 診断基準に含まれている項目
- ② 医学的に重要と考えられる項目
- ③ 複数の因子で同一の項目が選択される場合には、弱い因子を代表とする。

さらに、診断基準を参考に、以前から油症との関連が指摘されている項目が抜け落ちないように確認し検診票関係項目 10 項目、内科検診項目 14 項目、皮膚科検診項目 10 項目、歯科検診項目 12 項目、眼科検診項目 3 項目の 49 項目を代表変数として抽出し、それらを説明変数とした。

- (4) ロジスティック回帰分析を用いた代表的な検査項目との関係の分析。

上記の主成分分析で抽出された代表変数をそれぞれ目的変数として、残りの 48 項目に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度、PCB 濃度、PCQ 濃度を加え分析
ロジスティック回帰分析は、幾つかの説明変数と結果変数 (2 値) を数式で結びつける手法である。

結 果

1. 主成分分析の結果について (表 1)

241 の検診項目の内、頻度等に関する項目を除く 172 の検診項目について主成分分析を行った。さらに、診断基準を参考に、固有値が 1 以上の因子を変数として抽出した結果、49 項目が抽出された。

2. ロジスティック回帰分析の結果

主成分分析で抽出された 49 項目をそれぞれ目

的変数とし、それ以外の48項目に2,3,4,7,8-PeCDF濃度, PCB濃度, PCQ濃度の3項目を加えて説明変数とした。その結果, 23変数において, 有意確率が0.05未満を示した説明変数が見られた。目的変数別に, その変数を示す(表2)。

検診票関連項目では, 尿蛋白, AG比, 総コレステロール, γ -GTP, 中性脂肪, 血糖値の6項目において有意確率0.05未満を示した項目が見られた。

内科検診関連項目では, 内科主訴有無, 全身倦怠感, 頭重頭痛, 腹痛, 四肢しびれ感, 関節痛, 収縮期血圧の11項目において, 有意確率0.05未満を示した項目があった。

皮膚科検診項目では, かつてのざ瘡様皮疹, 黒色面皰顔面, 爪変形の3項目に対して有意確率0.05未満を示した項目がある。

歯科検診項目では, 歯科主訴有無と下歯肉色素沈着の2項目で, 眼科検診項目では, 眼脂過多において, 有意確率0.05未満を示した項目がある。

これらの49の目的変数の内, 有意確率0.05未満を示した説明変数の中に2,3,4,7,8-PeCDF濃度を含むものは, AG比, 血糖値, 1968年以降の既往歴有無, 関節痛の4項目であった。さらにPCB濃度は眼脂過多のみ, PCQ濃度は総コレステロールと下歯肉色素沈着有無の2項目であった。

考 察

カネミ油症は, 事件発症当初はPCBによる食中毒事件とされていた。しかし, その後の研究により, 現在ではPeCDFなどを含む塩素系化合物による複合中毒による事件と考えられている^{2)~5)}。油症患者は, 皮膚, 眼や歯における様々な症状や内科的な検査での異常所見を示すことが知られている。その一方で, 事件発生後の時間的経過や原因物質の体外への排泄などの影響により⁶⁾, それらの症状の中には改善傾向が認められるものもあるとされている²⁾³⁾。

今回, 油症発生後33年から37年を経過した時点で油症検診を受検した方々の, 症状や各種の検診項目についてそれぞれ代表値を求めた。目的変数としてPeCDF濃度やPCB濃度, PCQ濃度を, 説明変数として, 主成分分析で抽出された49因子を当てはめた場合の関連性については, 神奈川が既に報告している¹⁷⁾。そのため, 主成分分析

で抽出された49項目をそれぞれ目的変数として, 油症の主な原因と考えられている2,3,4,7,8-PeCDF, PCB, PCQや, その他の成分との関連性を分析した。

PeCDFを目的変数とした場合は, PCB濃度, PCQ濃度, 血糖値, 関節痛, 性別, 総ビリルビン, 黒色面皰(顔面), かつての色素沈着, AG比, ざ瘡様皮疹(躯幹), 呼吸音, ざ瘡様皮疹(その他), K, かつてのざ瘡様皮疹, 総コレステロールが有意確率0.05未満を示している¹⁷⁾。

今回の49成分を目的変数とした場合と比較すると, AG比, 血糖値, 1968年以降の既往歴の有無, 関節痛において, PeCDF濃度との関連が見られている。しかし, 血糖値は, PCB濃度とPCQ濃度が説明変数に含まれる場合には有意確率0.05未満を示したが, この二つを説明変数から除くと有意確率0.05未満を示していない。このため, 血糖値は, 相互に関連が強いPCB濃度とPCQ濃度の二つの変数の調整を行なうために現われたものと考えられ, PeCDF濃度との関連があるものは, 関節痛とAG比と推察された。

また, PCBを目的変数とした場合は, 2,3,4,7,8-PeCDF濃度, 喀痰, 年齢, かつての色素沈着, 性別, かつてのざ瘡様皮疹, 色素沈着(趾爪), 肝腫大, 頭重頭痛, 瞼板腺チーズ様分泌物圧出, 総ビリルビン, 全身倦怠感が有意確率0.05未満を示している¹⁷⁾。今回, PCB濃度は, 眼脂過多が目的変数の際にのみ, 有意確率0.05未満を示しており, PCB濃度は現時点では眼科的な症状との関連が強いものと推察された。

さらに, PCQを目的変数とした場合は2,3,4,7,8-PeCDF濃度, 歯牙着色, 関節痛, γ -GTP, 総ビリルビン, 瞼板腺チーズ様分泌物圧出, 全身倦怠感, 総コレステロール, 色素沈着(趾爪), 性別, 右頬粘膜色素沈着(帯状)が有意確率0.05未満を示している¹⁷⁾。総コレステロールと下歯肉色素沈着有無が目的変数の場合には, PCQ濃度との関連性が見られている。PCQの生化学的影響は, 動物実験では中性脂肪の上昇のみとされているが¹⁶⁾, 今回の結果からは, 中性脂肪と同じく脂質代謝の指標のひとつである総コレステロールも, PCQ濃度との関連があるのでないかと推察された。

今回の分析では, 診断基準に含まれている皮膚

表1 主成分分析により抽出された変数と、その変数に次いで因子スコアが高い値を示した変数の一覧

成分	抽出された変数	因子スコア	抽出された変数に次いで因子スコアの高かった変数	因子スコア
1	下歯肉色素沈着	0.735	下歯肉部位 2_3_3	0.724
2	血糖	-0.654	Ca	-0.643
3	腹痛	0.408	ヘマトクリット	-0.592
4	かつての色素沈着	0.498	黒色面皰軀幹	0.472
5	関節痛	0.437	四肢しびれ感	0.377
6	上口唇性状びまん性	0.401	チモール	-0.389
7	中性脂肪	0.361	上歯肉性状 5_雲状	0.389
8	喀痰	0.307	歯肉炎部位 3_上 4_7	0.432
9	MCV	0.419	クレアチニン	0.364
10	ガンマ GTP	0.367	着色部位 5_下 3_3	0.394
11	上口唇性状 3_帯状	0.581	下口唇性状びまん性	0.534
12	A / G 比	-0.471	クンケル	0.325
13	全身倦怠感	-0.327	コレステロール	0.364
14	色素沈着趾爪	0.447	LDH	0.432
15	歯牙着色	0.336	歯牙着色	0.336
16	口蓋粘膜色素沈着	0.204	心音	0.319
17	右頬性状 3_帯状	0.339	主訴 7_その他	-0.305
18	S43 以後既往歴有無	0.241	喫煙年数	-0.304
19	主訴有無	0.389	上歯肉性状 2_斑点状	0.289
20	爪変形	-0.272	色素沈着指爪	-0.279
21	四肢しびれ感	0.208	直接ビリルビン	-0.295
22	色素沈着顔面	0.280	Na	-0.350
23	眼脂過多	-0.297	心音	0.297
24	呼吸音	0.295	血小板数	0.294
25	左頬性状 4_線状	0.266	右頬性状 4_線状	0.255
26	コレステロール	0.246	色素沈着指爪	-0.296
27	咳嗽	0.192	収縮期血圧	-0.331
28	S43 年以前既往歴有無	0.246	歯周炎部位 1_上 7_4	-0.258
29	ざ瘡様皮疹その他	0.297	CPK	-0.292
30	上歯肉性状 4_線状	0.363	飲酒有無	0.239
31	腺板腺チーズ様分泌物圧出	-0.260	上口唇性状 2_斑点状	0.315
32	肝腫	-0.317	ざ瘡様皮疹その他	0.260
33	直接ビリルビン	0.225	上歯肉性状 3_帯状	-0.271
34	心音	0.239	心音	0.239
35	K	0.286	色素沈着その他	0.212
36	ざ瘡様皮疹軀幹	0.216	上歯肉部位 1_7_4	-0.233
37	色素沈着指爪	0.231	色素沈着指爪	0.231
38	咬合異常	0.274	アルブミン	0.267
39	黒色面皰その他	-0.323	尿ウロビリノーゲン	-0.265
40	尿蛋白	0.363	肝腫	0.249
41	収縮期血圧	-0.294	ピーク 1	-0.294
42	歯痛	0.311	尿素窒素	0.298
43	眼瞼浮腫	0.305	S43 年以前既往歴有無	0.265
44	頭重頭痛	0.188	主訴の有無	-0.190
45	主訴の有無	-0.224	HDL コレステロール	-0.221
46	上口唇性状 2_斑点状	0.292	呼吸音	-0.240
47	黒色面皰顔面	0.240	尿潜血	0.212
48	総ビリルビン	0.225	23478_PeCDF	0.224
49	かつてのざ瘡様皮疹	0.248	上歯肉性状 4_線状	0.233

表2 主成分分析で抽出された49項目をそれぞれ目的変数とした場合に、有意確率が0.05未満を示した説明変数一覧

	目的変数	有意確率が0.05未満を示した説明変数
<検診票関連項目>		
1	尿蛋白	腺板腺チーズ様分泌物圧出, かつてのざ瘡様皮疹, 色素沈着指爪
2	AG比	MCV, 中性脂肪, かつての色素沈着, 尿蛋白, かつてのざ瘡様皮疹, 2,3,4,7,8-PeCDF, 総ビリルビン
3	総コレステロール	拡張期血圧, 性別, K, PCQ濃度
4	γ -GTP	拡張期血圧, かつての色素沈着, 左頬粘膜色素沈着(線状)
5	中性脂肪	昭和43年以前の既往歴有無, かつてのざ瘡様皮疹, かつての色素沈着, AG比
6	血糖値	年齢, γ -GTP, 2,3,4,7,8-PeCDF, 腹痛
<内科検診項目>		
7	内科主訴有無	色素沈着指爪, ざ瘡様皮疹その他, 性別, 関節痛, γ -GTP, 咬合異常
8	昭和43年以前の既往歴有無	中性脂肪, 眼脂過多, 眼瞼浮腫, 色素沈着(趾爪), 内科主訴有無, 喀痰, かつてのざ瘡様皮疹, 年齢
9	昭和43年以降の既往歴有無	2,3,4,7,8-PeCDF, 中性脂肪, 咬合異常, 歯科主訴有無, 年齢, 総ビリルビン
10	全身倦怠感	頭重頭痛, 歯科主訴有無, 四肢しびれ感, MCV
11	頭重頭痛	全身倦怠感, 爪変形, 腹痛, 四肢しびれ感, 喀痰, MCV, 内科主訴有無, 総ビリルビン
12	咳嗽	喀痰
13	喀痰	咳嗽, かつての色素沈着, 性別, かつてのざ瘡様皮疹
14	腹痛	性別, 眼脂過多, 右頬粘膜色素沈着性状3(带状), 全身倦怠感, 歯痛, 眼瞼浮腫
15	四肢しびれ感	咬合異常, 色素沈着指爪, 咳嗽, 血糖値, 黒色面皰その他, 年齢, 歯科主訴有無
16	関節痛	心音異常, 2,3,4,7,8-PeCDF, 総ビリルビン, 尿蛋白, 眼脂過多, 咬合異常, 上口唇粘膜色素沈着(带状), 内科主訴有無, 咳嗽, 色素沈着(指爪), 右頬粘膜色素沈着(带状), 下歯肉色素沈着有無
17	収縮期血圧	MCV, γ -GTP, 心音異常, 肝腫大, 血糖値, 眼瞼浮腫,
<皮膚科検診項目>		
18	かつてのざ瘡様皮疹	かつての色素沈着, ざ瘡様皮疹(その他), 中性脂肪, 総ビリルビン, 頭重頭痛, 咳嗽, 喀痰
19	黒色面皰(顔面)	MCV, 全身倦怠感, 黒色面皰(その他)
20	爪変形	色素沈着(趾爪), 昭和43年以降の既往歴有無, 年齢
<歯科検診項目>		
21	歯科主訴有無	歯痛, 四肢しびれ感, 歯牙着色, 全身倦怠感
22	下歯肉色素沈着有無	総コレステロール, 年齢, 色素沈着(指爪), PCQ濃度
<眼科検診項目>		
23	眼脂過多	腹痛, PCB濃度, 血糖値, 眼瞼浮腫, 関節痛, 昭和43年以降の既往歴有無, 咳嗽

症状や歯科及び眼科の診察所見，血液検査所見等と，PeCDF 濃度，PCB 濃度，PCQ 濃度との関連性を確認した。事件発症から 35 年以上が経過し，事件当時に体内に摂取された PCB 等の関連化学物質は，経年変化を経て徐々に排泄されている。さらに，患者の加齢に伴う身体的な変化も現れていることが考えられる。このことから，現時点では，関節痛や AG 比が PeCDF 濃度と，眼科的な症状は PCB 濃度と，総コレステロールは PCQ 濃度との関連があるものと推察された。

参考文献

- 1) Masuda Y : Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. *J Dermatol Sci Suppl 1* : S11-S20, 2005.
- 2) Kuratsune M, Yoshimura H, Hori Y, Okumura M and Matsuda Y : Yusho - A human disaster caused by PCB and related compounds. Kyushu University Press, Fukuoka, 1996.
- 3) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M : Overview of Yusho. *J Dermatol Sci Suppl 1* : S3-S10, 2005.
- 4) Yamaguchi N and Kaneko S : A study on evaluation of carcinogenesis in patients with Yusho' and "A study on health evaluation in Yusho. Health and Labour Sciences Research, 2001 and 2002 (integrated study report), 2002 (summarized and allotted study report).
- 5) Imamura T and Kanagawa Y : A study on correlations between blood serum levels of PCDFs and clinical symptoms in patients with Yusho (78 patients for 2001, 279 patients for 2002). Health and Labour Sciences Research, 2003 (summarized and allotted study report. In Japanese).
- 6) Kanagawa Y and Imamura T : Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood serum levels of PCDFs in patients with Yusho. *J Dermatol Sci Suppl 1* : S85-S93, 2005.
- 7) 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 (in 2001). *Fukuoka Igaku Zasshi 94* : 126-135, 2003.
- 8) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol of dioxins analysis in human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi 94* : 148-157, 2003.
- 9) 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). *J Dermatol Sci Suppl 1* : S73-S80, 2005.
- 10) Uenotsuchi T, Lio Y, Tadakuma S, Haraduka R, Kanagawa Y, Imamura T and Furue M : Sex ratio in the children of Yusho patients. *J Dermatol Sci Suppl 1* : S81-S83, 2005.
- 11) Uenotsuchi T, Nakayama K, Asahi S, Takamichi O, Akimoto T, Muto M, Kiyomizu K, Katayama I, Kanzaki Y, Kanagawa Y, Imamura T and Furue M : Skin symptoms in Yusho patients related to blood dioxin level. *Fukuoka Igaku Zasshi. 96(5)* : 164-168, 2005. (in Japanese.)
- 12) Kanagawa Y and Imamura T. Relationship between blood PCDFs level and symptoms in Yusho patients. *Fukuoka Igaku Zasshi. 96 (5)* : 169-179, 2005. (in Japanese.)
- 13) Uenotsuchi T, Inoo Y, Tadakuma S, Haratsuka R, Kanagawa Y, Imamura T and Furue M : Sex ratio of newborn infants from parents with Yusho *Fukuoka Igaku Zasshi 96* : 183-184, 2005. (in Japanese.)
- 14) Uenotsuchi T, Furue M, Nakayama J, Asahi M, Kanagawa Y and Imamura T : Evaluation of dermatological symptoms of Yusho patients in the annual examinations of 2003-2004. *Fukuoka Igaku Zasshi 96* : 216-219, 2005. (in Japanese.)
- 15) 油症診断基準 (2004 年 9 月 29 日補遺)
- 16) 国田信治, 榎本隆 : PCB 関連物質の生体影響. *最新医学 57 (12)* : 378-383, 1982. (in Japanese.)
- 17) Kanagawa Y, Matsumoto S, Koike S, Tajima B, Fukiwake N, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Association of clinical findings in Yusho patients with serum concentrations of polychlorinated biphenyls, polychlorinated quarterphenyls and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran more than 30 years after the poisoning event. *Environmental Health. 7* : 47, 2008.

(Received for publication April 10, 2009)

油症患者における PeCDF 半減期の推定および二つの再吸収機構を考慮した排泄シミュレーション

¹⁾ 奈良県立医科大学 健康政策医学講座

²⁾ 東京大学医学部附属病院 企画情報運営部

³⁾ 福岡県保健環境研究所 保健科学部

⁴⁾ 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

⁵⁾ 九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

赤羽 学¹⁾, 松本伸哉²⁾, 神奈川芳行²⁾, 梶原淳睦³⁾, 戸高 尊⁴⁾,
平川博仙³⁾, 小池創一²⁾, 古江増隆⁴⁾⁵⁾, 今村知明¹⁾

Estimated Half-Life of Penta-Chlorodibenzofuran (PeCDF) and Simulation of PeCDF Excretion

Manabu AKAHANE¹⁾, Shinya MATSUMOTO²⁾, Yoshiyuki KANAGAWA²⁾, Jumboku KAJIWARA³⁾,
Takashi TODAKA⁴⁾, Hironori HIRAKAWA³⁾, Soichi KOIKE²⁾,
Masutaka FURUE⁴⁾⁵⁾ and Tomoaki IMAMURA¹⁾

¹⁾ *Department of Public Health, Health Management and Policy,
Nara Medical University School of Medicine*

²⁾ *Department of Planning Information and Management, The University of Tokyo Hospital*

³⁾ *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*

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

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

Abstract The half-life of 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in the *Yusho* patients has been reported to be approximately seven years. In the present study, we estimated the half-life of PeCDF using data from the medical check-ups of more than 300 *Yusho* patients. We performed linear regression analysis with a binary logarithm of PeCDF blood level in *Yusho* patients as the dependent variable, and the measurement year as the independent variable. Our results showed that there were many patients who had shown no reduction of their blood PeCDF level for several years. This result contradicts the previously reported half-life period. Therefore, we believe that a more complicated excretion model needs to be established to explain the discrepancy we found. We hypothesized that there might be two mechanisms of PeCDF assimilation in human digestive tract. In the present study, we also used our hypothesis to simulate PeCDF excretion in *Yusho* patients.

はじめに

カネミ油症（油症）事件は、1968年に北部九州

を中心に西日本で広く発生した米糠油による食品中毒である¹⁾²⁾。その主な原因物質は、米糠油の製造工程において熱媒体として利用されていたポリ塩化ビフェニル (PCBs) 及び PCBs が熱変性した結果できたダイオキシン類である polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) と考えられている^{1)~6)}。特に PCDF の異性体である 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (以下 PeCDF) は、油

Address for Correspondence :

Manabu AKAHANE

Department of Public Health, Health Management and Policy, Nara Medical University School of Medicine, Shijo-cho 840, Kashihara, Nara 634-8521, Japan.

Tel : +81-744-22-3051 Fax : +81-744-22-0037

Email : makahane@naramed-u.ac.jp

症におけるダイオキシン類の約 70% を占める主要な原因物質であると報告されている⁷⁾。

一般的に、ダイオキシン類は代謝されにくい物質であるとされており、しかも脂肪との親和性が高いため、一度体内に取り込まれると、ヒトにおいてはその排泄が容易ではないとされている^{8)~11)}。しかし、ダイオキシン類の排泄には、種によって大きな差があり、ラットにおける半減期は、ヒトの約 150 倍も早いと報告されている⁸⁾。このため、ヒトにおける PeCDF の半減期を推定する目的で、動物を用いた研究を行ったとしても、その研究結果からヒトにおける半減期を推定することは困難と考えられる。ヒトにおける PeCDF の半減期としては、油症患者の測定結果を用いて推定されたものがあり、約 7 年と報告されている¹²⁾。しかし、その推定に用いられた患者数は、必ずしも十分な人数であったとは言い難い。

近年のダイオキシン類の測定技術の進歩により、血中ダイオキシン類の定量は比較的容易になり、2001 年度の油症検診からは、希望者に対してその測定が行われている³⁾⁵⁾⁶⁾。その後現在までに、多数の受診者の血中 PeCDF 値の測定結果が蓄積されてきたので、本研究では 2001 年からの 6 年間に 3 回以上油症検診を受診した 326 名の血中 PeCDF 値を用いて、その半減期を推定した。その結果、これまでの報告とは異なる半減期を示す受診者群が存在し、血中 PeCDF 値の変化に関して 2 つのタイプが異なる受診者群があることが示唆された。本論文では、これらの結果とともに、排泄および再吸収機序に関する数理モデルを用いた検討も行ったので報告する。

方 法

1. 対象

2001 年から 2006 年までの油症定期検診の受診者で、血中 PeCDF 値の測定を 3 回以上受けた 326 名を対象とした。本研究は、半減期を計算することを目的としているため、PeCDF 値を測定した全受診者を対象とした。6 回測定した受診者は 38 名、5 回は 124 名、4 回は 74 名、3 回は 90 名であった。

2. 分析方法

血中 PeCDF 値を、2 を底とする対数に変換し

た値を従属変数とし、測定年を独立変数として、以下に示す関数を用いて、線形回帰分析を行った。

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

半減期は得られた「傾き」の逆数となる。その「傾き」が「マイナスの数」であれば、血中 PeCDF 値は減少することを示す。例えば、「傾き」がマイナス 0.1 であれば、10 年で従属変数の値が 1 減少し、PeCDF 値が半分になるため、半減期は 10 年となる。しかし、その「傾き」が「プラスの数」であれば、その患者においては、血中 PeCDF 値が増加することを示す。

油症検診では血中 PeCDF 値の測定は、単一の測定装置を用いて行われているために、測定機器の違いによる測定値の偏差は存在しないと考えられる。

3. 排泄および再吸収に関するシミュレーション

前述の分析で、PeCDF 値の変化に 2 つのタイプ (PeCDF が約 7 年の半減期で減少する群と減少しない群) が存在することが判明した (詳細は結果に記述, 図 6)。しかし、この結果を説明し得る機序はこれまで提唱されていないため、2 つの「吸収機序」を想定した数理モデルでシミュレーションを試みた。なお、ここでのシミュレーションは、血中 PeCDF が高値 (200pg/g 以上) の受診者の中で、典型的と考えられる 3 名の結果 (表 1) を用いて、腸管内に排泄された PeCDF が、再吸収される機序が存在すると仮定し、そこに次の 2 つのルートを想定した。1) 再吸収能は低いが、吸収量に「限界のない」もの、2) 再吸収能は高いが吸収量の「限界がある」もの、である。

図 1 はその模式図であり、V0 は摂取量、V1 は、体内から腸管などへの排泄量であり、体内からの排泄量 V1 は体内の総脂肪量 QL に比例すると仮定する。これらの和が腸管を通過する量 V2 となり、「限界のない」吸収機序での吸収量 V3 は、通

表 1 PeCDF 濃度の典型的変化例

	患者 1	患者 2	患者 3
2001 年	166.3	1139.1	283.1
2002 年	94.8	1399.1	337.1
2003 年	100.7	1170.4	262.0
2004 年	98.4	1155.5	226.7
2005 年	95.4	1284.3	229.2
2006 年	85.1	1237.5	236.7

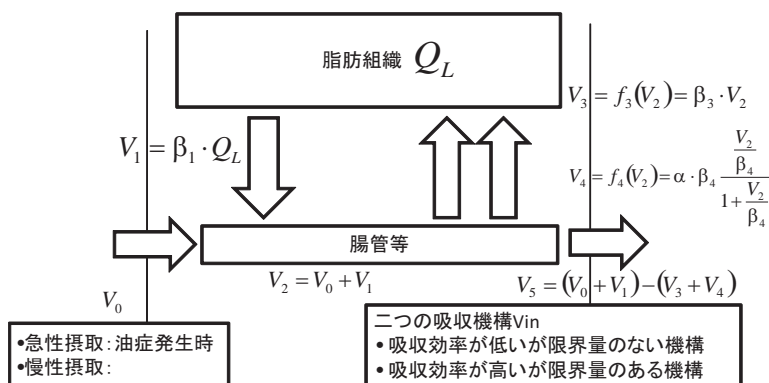


図1 排泄および再吸収に関する想定モデル

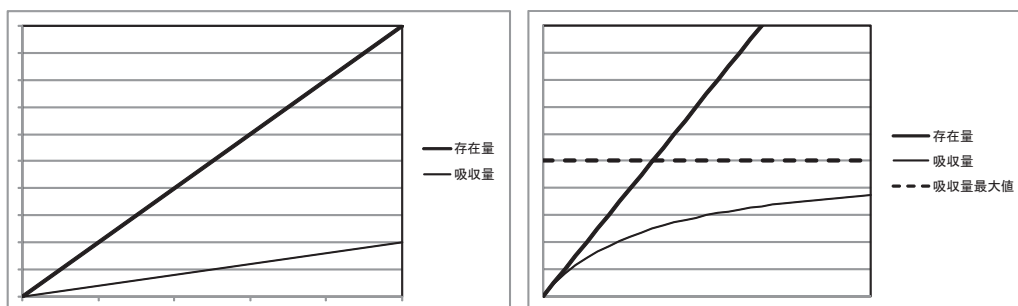


図2 2つの吸収モデル

過量 V_2 に比例すると仮定する。「限界がある」吸収機序での吸収量 V_4 は、通過量 V_2 とこの機序の限界量および吸収能力で規定されるシグモイド関数と仮定する。図2は、2つの吸収機序のイメージであり、これらを年単位に離散化し、シミュレーションを実施し、 $a, \beta_1, \beta_3, \beta_4$ を4つの引数として、各患者の計測値との差異の二乗を誤差関数とし、この誤差関数を最小化するように係数を求めた。なお、シミュレーション途中で、対数計算と足し算を実施し、計算上の誤差が蓄積しやすく、コンピュータで通常に用意されている数値型では、計算誤差のために適切な結果が得られないため、平山の可変長演算パッケージ MPPACK¹³⁾ を用いて計算を行った。まず、4つの引数に対して推定を行ったが、現実と矛盾する結果となった(結果は提示せず)。そこで、事件発生当初からの10年程度は、「制限のある」吸収機序のはたす割合が非常に小さいことを加味し、 β_1, β_3 を半減期が4年になるように固定して、 a と β_4 を推定することとした。

結 果

1. 受診回数および濃度区分別の推定半減期とその傾向

受診回数別、濃度区分別の各患者の「傾き」の平均値を表2に示す。ここでの濃度区分は、2004年の推定値によるものである。血中 PeCDF 値が20 から 50pg/g の受診者では、「傾き」の平均値は各受診回数群のいずれにおいても0に近く、これは血中 PeCDF 値の増減が小さいことを示している。これに対し、血中 PeCDF 値が50 から 200pg/g の受診者では、各受診回数群の推定される半減期はほぼ15年から25年の範囲である。このことから体内の PeCDF がゆっくりではあるが、減少していることがわかる。しかし、血中 PeCDF 値がさらに高い群では、半減期がより長くなる傾向がある。

2. 5回以上受診患者における血中 PeCDF 値区分別の傾き

図3～図5は、横軸は線形回帰分析の「傾き」0.025刻みに対応する推定半減期で区分した度数分布グラフであり、縦軸はそこに含まれる患者数を示している。

(1) 血中 PeCDF 値：200pg/g 以上

図3は、血中 PeCDF 値が200pg/g 以上の受診者群における度数分布グラフである。半減期が

表2 受診回数別濃度区分ごとの傾きの平均値

2004年推定濃度	200-	50-200	20-50	-20	
6回受診	患者数	16	11	8	3
	傾き平均	-0.0308	-0.0682	-0.0080	-0.1289
	標準偏差	0.0456	0.0576	0.1090	0.0672
	半減期(年)	32.46	14.67	125.56	7.76
	半減期 95%信頼区間	-17.06年以下 又は 8.32年以上	-22.37年以下 又は 5.52年以上	-4.86年以下 又は 4.51年以上	-354.35年以下 又は 3.84年以上
5回以上受診	患者数	45	44	36	37
	傾き平均	-0.0358	-0.0576	0.0048	-0.0061
	標準偏差	0.0544	0.0928	0.0806	0.1041
	半減期(年)	27.93	17.36	-209.13	163.46
	半減期 95%信頼区間	-14.13年以下 又は 7.02年以上	-8.04年以下 又は 4.17年以上	-6.15年以下 又は 6.53年以上	-5.05年以下 又は 4.76年以上
4回以上受診	患者数	61	60	50	65
	傾き平均	-0.0364	-0.0457	0.0125	-0.0054
	標準偏差	0.0670	0.0868	0.0763	0.1212
	半減期(年)	27.48	21.90	-79.86	186.90
	半減期 95%信頼区間	-10.54年以下 又は 5.96年以上	-8.03年以下 又は 4.63年以上	-6.17年以下 又は 7.30年以上	-4.31年以下 又は 4.12年以上
3回以上受診	患者数	85	76	65	100
	傾き平均	-0.0288	-0.0432	0.0083	-0.0057
	標準偏差	0.0841	0.0945	0.1408	0.1325
	半減期(年)	34.76	23.14	-120.31	176.01
	半減期 95%信頼区間	-7.35年以下 又は 5.17年以上	-7.04年以下 又は 4.38年以上	-3.52年以下 又は 3.74年以上	-3.94年以下 又は 3.77年以上

20年から40年と推定された受診者が10名と最も多く、ついで40年以上と推定された受診者が7名であった。驚くことに、この群では45名中13名が血中PeCDF値の増加傾向を示していた(図3の灰色部分)。そのうちの7名は40年以上で、5名は20年から40年で、1名は13年から20年で血中PeCDF値が増加すると推定された。

これまで報告されている推定半減期(約7年)よりも、かなり半減期が長い症例が存在する可能性が示唆された。

(2) 血中PeCDF値：50以上200pg/g未満

図4は、血中PeCDF値が50以上200pg/g未満の受診者群における度数分布グラフである。この群では、推定半減期に2つのピークが認められた。半減期が40年以上と推定される受診者が12名と最多であり、ついで6名で8年から10年と推定された。

この群においても、合計8名の受診者では血中PeCDF値が増加する可能性が示された(図4の

灰色部分)。

(3) 血中PeCDF値：20以上50pg/g未満

半減期5年から6.67年の範囲に3名の受診者が認められるものの、大部分の分布は、血中PeCDF値が減少傾向を示す者(図5の黒色部分)と増加傾向を示す者(図5の灰色部分)の両方に広がっていた。

3. PeCDF減少に関するバリエーション

図6は、前述の結果から得られた傾向をイメージしたものであり、次の2つのタイプが存在する可能性を示唆している。

1. いわゆる「半減期」として認識されている割合で、PeCDFが減少している群(図6の患者A)
2. 初期の排出速度は速かったが、その後PeCDF排出速度が鈍化した群(図6の患者B)

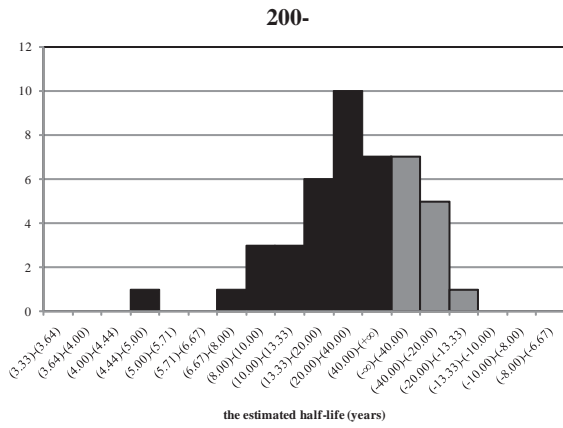


図3 度数分布グラフ (血中 PeCDF 値 : 200pg/g 以上)

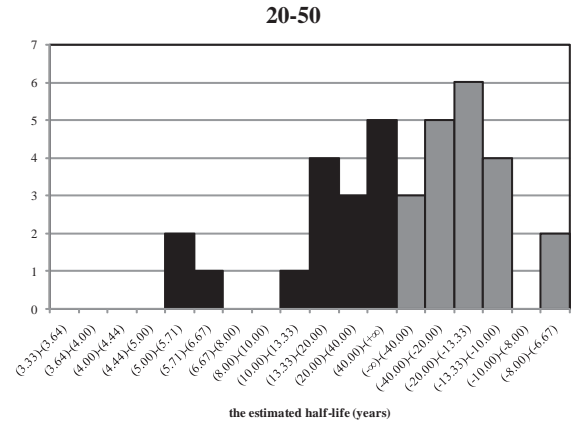


図5 度数分布グラフ (血中 PeCDF 値 : 20 以上 50pg/g 未満)

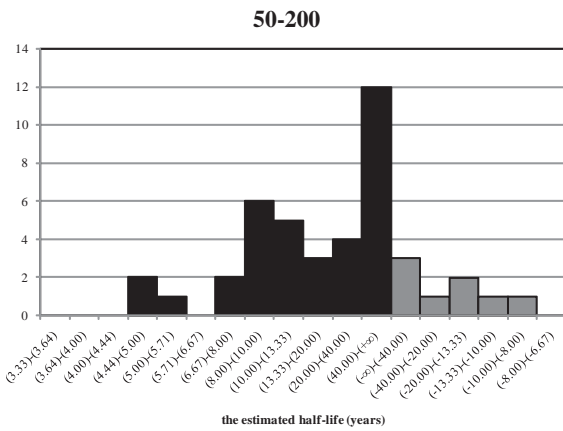


図4 度数分布グラフ (血中 PeCDF 値 : 50 以上 200pg/g 未満)

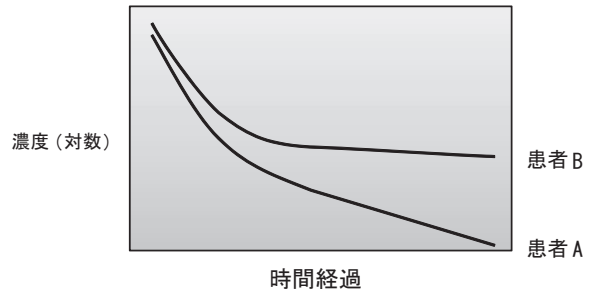


図6 想定される PeCDF 値減少のイメージ図

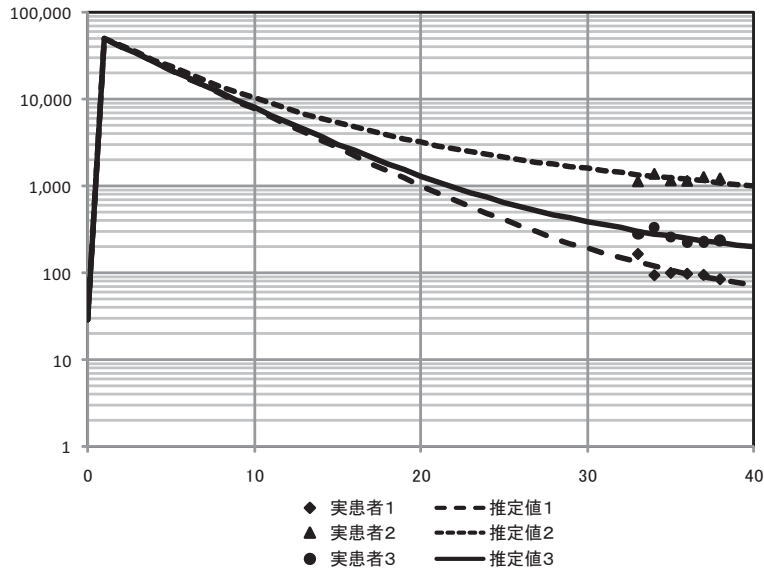


図7 シミュレーション結果

表3 係数 (2 係数推定)

	$\beta 1$	$\beta 3$	$\beta 4$	α
患者 1	0.19505	0.03000	2.22E-07	0.970000
患者 2	0.19505	0.03000	9.43E-06	0.970000
患者 3	0.19505	0.03000	1.06E-06	0.970000

4. シミュレーション結果

表3および図7にシミュレーション結果を示す。「実患者1」は、現在もPeCDFが減少している受診者で、このケースはほぼ一定の半減期でPeCDFが減少してきたが、30年目頃に減少傾向の鈍化が起きている。「実患者2」は、早い段階で鈍化が起これ、PeCDF値が高値で維持されているケースである。「実患者3」は、これら2つの中間的なケースであり、20年目頃に減少傾向の鈍化がみられる。

考 察

ダイオキシン類による健康被害としては、日本の油症、台湾のYuchengおよびSevesoでの被害が代表的である。Leungらは、5名の油症患者と3名のYucheng患者の調査結果からPeCDFの半減期を推定し報告している。それによると血中PeCDFが高値であれば半減期は1.1年、低値では7.2年とされており、半減期はその濃度と患者の年齢に依存するとされている¹⁰⁾。ダイオキシン類の半減期が濃度と年齢に依存しているとする研究結果は、Sevesoで被害を受けた小児の調査を行ったKergerらも報告している⁹⁾。

我々の本研究は、300名以上の油症検診受診者の結果を用いており、これまでの報告よりも大きな対象群からPeCDFの半減期を推定したものである。我々の結果は、血中PeCDF値が〈20以上50pg/g未満〉という比較的低濃度の受診者においては、その半減期は比較的長く、増加している患者さえ存在することを示した。これは、生体からのPeCDFの「排泄による減少」と自然界からの「摂取による増加」が拮抗している状態であろうと考えられる。血中PeCDF値が〈50以上200pg/g未満〉あるいは〈200pg/g以上〉であった受診者群では、その値が高くなるにつれて、推定半減期が長くなる傾向が認められた。特に、高値の群では、約30%の受診者で血中PeCDF値の減少はほとんど見られないと推定された。

これまでの報告では、PeCDFが高値であるほど半減期が短く、低値になるとともに半減期が長くなると報告されている。しかし、今回の我々の結果からは、血中PeCDF値に依存した半減期に従って排泄されるだけではないことが示唆された。図6に示す「患者B」群のように、少なくとも

PeCDF値の半減期が20年以上あるいは増加している群があるため、これまでのモデルではこの現象を説明することが困難である。これを説明するためには、次の2点、1) PeCDF摂取後の時期により排泄率が異なる、2) 排出率の鈍化が起こる濃度が異なる、に留意したモデルを用いたシミュレーションが必要であると考え試みた。この2点は、個人差あるいは性別によるものであると考えられ、ヒトにおけるPeCDF値の生体内変化を考える上で重要なポイントであると思われる。

我々がシミュレーションで想定したように「限界のない」吸収機序および「限界がある」吸収機序の2つを仮定することにより、現在の血中PeCDF値の状況を適切に再現することが可能である。「限界のない」吸収機序としては、浸透圧に依存する機序が、「限界がある」吸収機序としては、特定の化合物を選択的に回収する機序が考えられる。しかし、この推定では、初期暴露量と半減期が各患者において同じであったと仮定し、初期における減少傾向はほとんど同じである。これがどの程度現実を反映しているのに関しては更なる検証が必要である。

さらに今回は、2つの「吸収機序」を想定し数理モデルでのシミュレーションを行ったが、今後は複数の「排泄機序」が存在することも加味したモデルの想定も行う必要があると考えられる。一般的に、ダイオキシン類の排泄は、経腸管的とされているが、皮脂等からの排泄も報告されているため¹⁴⁾、これを加味すべきかもしれない。また、検診におけるPeCDF濃度は血液中脂肪重量当たりで計算しているため、採血時の受診者の状態によって、血液中脂肪量に変化する可能性がある。体内でのPeCDFの存在状態がどのようなものか、またそれらと血液中の濃度の関係が未解明であることが、半減期の推測を難しくしている要因であると考えられる。今後、PeCDFを含めたダイオキシン類の半減期の解明には、これらに関する研究も必要であると考えられる。

すでに事件発生後40年が経過しており、現在のPeCDF値から発生直後のPeCDF値を推定することは困難である。各患者間の個人差を加味した吸収・排泄モデルが確立できれば、発生直後の暴露量を推定することも可能であり、各症状に関する詳細な分析ができるかもしれない。そのため

には、今後さらに継続して血中 PeCDF 値の変化を観察し、半減期の推定精度を上げることが必要である。

ま と め

我々は、2001年から2006年の油症検診時に行われた PeCDF 値測定の結果を用いて、ヒトにおける PeCDF の半減期を推定した。本研究は、血中 PeCDF 値にかかわらず、血中 PeCDF の増減が少ない受診者群が存在することを示した。

謝 辞

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

参 考 文 献

- 1) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M: Overview of Yusho. *J Dermatol. Sci. (Suppl 1)* : 3-10, 2005.
- 2) Yoshimura T: Yusho in Japan. *Ind. Health* 41 : 139-148, 2003.
- 3) 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 : 126-135, 2003.
- 4) 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 : 78-79, 1977.
- 5) 豊田正武, 内部博泰, 柳 俊彦, 河野洋一, 堀就英, 飯田隆雄: 日本における市販食品中の PCDDs, PCDFs 及び CoplanarPCBs 含有量食事系経路の PCDDs, PCDFs 及び Coplanar PCB の摂取量, *日本食品衛生学会誌* 40, 98-110, 1999.
- 6) Kanagawa Y and Imamura T : Relationship of clinical symptoms and laboratory findings with the blood levels of PCDFs in patients with Yusho, *J Dermatol. Sci. Suppl 1* : 85-93, 2005.
- 7) Masuda Y : Approach to risk assessment of chlorinated dioxins from Yusho PCB poisoning, *Chemosphere* 32 : 583-594, 1996.
- 8) Geyer HJ, Schramm KW, Feicht EA, Behechti A, Steinberg C, Brüggemann R, Poiger H, Henkelmann B and Kettrup A : Half-lives of tetra-, penta-, hexa-, hepta-, and octachlorodibenzo-p-dioxin in rats, monkeys, and humans--a critical review, *Chemosphere* 48 : 631-644, 2002.
- 9) Kerger BD, Leung HW, Scott P, Paustenbach DJ, Needham LL, Patterson DG Jr, Gerthoux PM and Mocarelli P : Age- and concentration-dependent elimination half-life of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Seveso children, *Environ. Health Perspect.* 114 : 1596-1602, 2006.
- 10) Leung HW, Kerger BD, Paustenbach DJ, Ryan JJ and Masuda Y : Concentration and age-dependent elimination kinetics of polychlorinated dibenzofurans in Yucheng and Yusho patients, *Toxicol. Ind. Health* 23 : 493-501, 2007.
- 11) 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.
- 12) Masuda Y : Fate of PCDF/PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. *Chemosphere*, Volume 43, Issues 4-7, May 2001, 925-930.
- 13) 平山弘: 「多倍長演算パッケージ MPPACK の高速化」情報処理学会研究報告. 計算機アーキテクチャ研究会報告 Vol.98, No.18 (19980305) pp. 1-6.
- 14) Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Yu ML and Guo YL : Recent trend of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and their related compounds in the blood and sebum of Yusho and Yu Cheng patients. *Chemosphere.* 1999 38 : 981-993.

(Received for publication April 1, 2009)

油症患者の保存さい帯（へその緒）中のダイオキシン類濃度

¹⁾福岡県保健環境研究所

²⁾九州大学大学院医学研究院

³⁾北九州生活科学センター

⁴⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

梶原 淳睦¹⁾, 戸高 尊²⁾, 平川 博仙¹⁾, 堀 就英¹⁾, 安武 大輔¹⁾, 中川 礼子¹⁾,
飯田 隆雄³⁾, 長山 淳哉²⁾, 吉村 健清¹⁾, 古江 増隆²⁾⁴⁾

Dioxin Concentration in the Preserved Umbilical Cord from Yusho Patients

Jumboku KAJIWARA¹⁾, Takashi TODAKA²⁾, Hironori HIRAKAWA¹⁾, Tsuguhide HORI¹⁾,
Daisuke YASUTAKE¹⁾, Reiko NAKAGAWA¹⁾, Takao IIDA³⁾, Junya NAGAYAMA²⁾,
Takesumi YOSHIMURA¹⁾ and Masutaka FURUE²⁾⁴⁾

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

²⁾*Graduate school of medical science, Kyushu University,
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

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

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

Abstract Dioxins are known as endocrine disrupters and widespread environmental contaminants. They are bioaccumulated in the human body. In this study, we determined concentrations of dioxins (PCDD, PCDF, Non-ortho PCB and Mono-ortho PCB) in eighteen umbilical cords provided by twelve mothers of Yusho patients and twelve umbilical cords provided by ten mothers of normal controls. The average concentrations of PCDD, PCDF, Non-ortho PCB, Mono-ortho PCB and total dioxins (PCDD/F + Dioxin-like PCB) in the umbilical cords of Yusho patients and normal controls were 0.55, 4.55, 0.08, 0.08 and 5.26 pg-TEQ/g, respectively, and 0.50, 0.11, 0.03, 0.02 and 0.66 pg-TEQ/g, respectively. Total dioxins and PCDF concentrations in the umbilical cords of Yusho patient were about 8 and 40 times higher than those in the umbilical cords of normal controls, respectively. The average concentration of 2,3,4,7,8-PeCDF in the umbilical cords of Yusho patients was 10 pg/g. We couldn't detect 2,3,4,7,8-PeCDF in the umbilical cords of normal controls. We suspected the 2,3,4,7,8-PeCDF concentrations in the mothers' blood were related to the 2,3,4,7,8-PeCDF concentrations in umbilical cords.

はじめに

1968年に発生した油症事件はポリ塩化ビフェニル (PCB) 及びダイオキシン類による人体汚染事例であり、事件後40年を経過した現在も油症認定患者の体内には高濃度のPCB及びダイオキシン類が残留している。2006年に保存さい帯、すなわち“へその緒”中からPCBの検出が報告さ

れ¹⁾、油症認定患者の母親が出産したときに残されたへその緒中から高濃度のPCBが検出されたことも報告された²⁾。へその緒は母体と胎児を結ぶさい帯の一部を出産した後に切り取り家庭で保存したもので、へその緒中の化学物質の濃度は出産時点での母親と子供の体内の化学物質濃度を反映しているものと推察される。しかし、保存されたへその緒の重量は通常1g未満であり、生体内

でのダイオキシン類濃度はPCB類濃度の約1000分の1程度であることから、へその緒中のダイオキシン類濃度の分析には超高感度な分析技術が必要である。我々は油症認定患者及び一般人の母親が出産したときに残されたへその緒中のダイオキシン類濃度を解析し、出産当時の母親および胎児の汚染レベルの解明のための基礎資料を得ることを目的とした。

実験方法

1. 分析試料

油症認定患者の母親12名から生まれた18名の子供（1948年から1995年の出産）のへその緒及び対照として一般の母親10名から生まれた12名の子供（1973年から1996年の出産）のへその緒を用いた。

2. ダイオキシン類分析方法

ダイオキシン類濃度はポリ塩化ジベンゾダイオキシン(PCDD)7種、ポリ塩化ジベンゾフラン(PCDF)10種、ノンオルソPCB4種及びモノオルソPCB8種類の29異性体について測定した。分析方法は血液中ダイオキシン類分析法^{3)~5)}に準じて行った。すなわち、へその緒に付着したガーゼや糸等を取り除き、細切し乳鉢で磨り潰した後、内標準を添加し高速溶媒抽出器(ASE)でダイオキシン類を抽出した。さらに、硫酸処理した後、硝酸銀シリカゲルカラム及び活性炭カラムを直結して精製した。ダイオキシン画分を濃縮し、溶媒除去大量試料注入装置(SCLV)を装着した高分解能GC/MSで測定した。

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

算した。

実験結果と考察

表1に油症認定患者と一般人のへその緒中ダイオキシン類濃度を示した。今回測定したへその緒中のPCDD, PCDF, ノンオルソPCB, モノオルソPCB及びTotal TEQの平均値はそれぞれ油症認定患者のへその緒が0.55, 4.55, 0.08, 0.08及び5.26pg-TEQ/gであり、一般人のへその緒は0.50, 0.11, 0.03, 0.02及び0.66pg-TEQ/gであった。油症認定患者のへその緒中ダイオキシン類濃度は一般人に比べTotal TEQで約8倍高く、PCDF濃度は約40倍高いことが分かった。また、図1に出産年とへその緒中のダイオキシン類のTotal TEQの関係を示した。油症事件発生から13年以内(1970-1981年)に生まれた子供のへその緒にダイオキシン濃度が高い場合があることが明らかになった。

Aozasaら⁶⁾は油症認定患者のへその緒中から高濃度のダイオキシン様PCBが検出されたことを報告しているが、同時に1968年から1970年に生まれた一般の子供のへその緒からも高濃度のダイオキシン様PCBが検出されたことを報告している。PCBは日本国内で1954年から1972年にかけて製造・使用されており、当時は高濃度のPCB汚染が広がっていたことが推察され、一般人の体内のPCB濃度も油症認定患者と同レベルであったと推察される。このため油症患者の認定においても血液中PCB濃度では判断できないので、診断基準にはPCB異性体の存在比(PCBパターン)が採用されている⁷⁾。一方、ダイオキシン類(特にPCDF)は一般人のへその緒中からは低濃度でしか検出されず、油症事件発生から13年以内に出産した油症認定患者のへその緒から高濃度に検出された。この間、1970年から1981年に生

Table 1 Dioxin concentration in the preserved umbilical cords of Yusho patients and normal controls

	Yusho Patients (n=18)					Normal Controls (n=12)				
	Mean	Med.	SD.	Min.	Max.	Mean	Med.	SD.	Min.	Max.
PCDD	0.55	0.12	0.91	ND	3.41	0.50	0.09	1.33	ND	4.71
PCDF	4.55	0.02	6.26	ND	20.4	0.11	ND	0.37	ND	1.27
Non-ortho PCB	0.08	0.02	0.13	ND	0.45	0.03	ND	0.06	ND	0.19
Mono-ortho PCB	0.08	0.05	0.10	0.01	0.36	0.02	0.01	0.02	0.01	0.09
Total	5.26	0.64	6.87	0.02	22.3	0.66	0.14	1.35	0.02	4.72

(pg-TEQ/g dry weight)

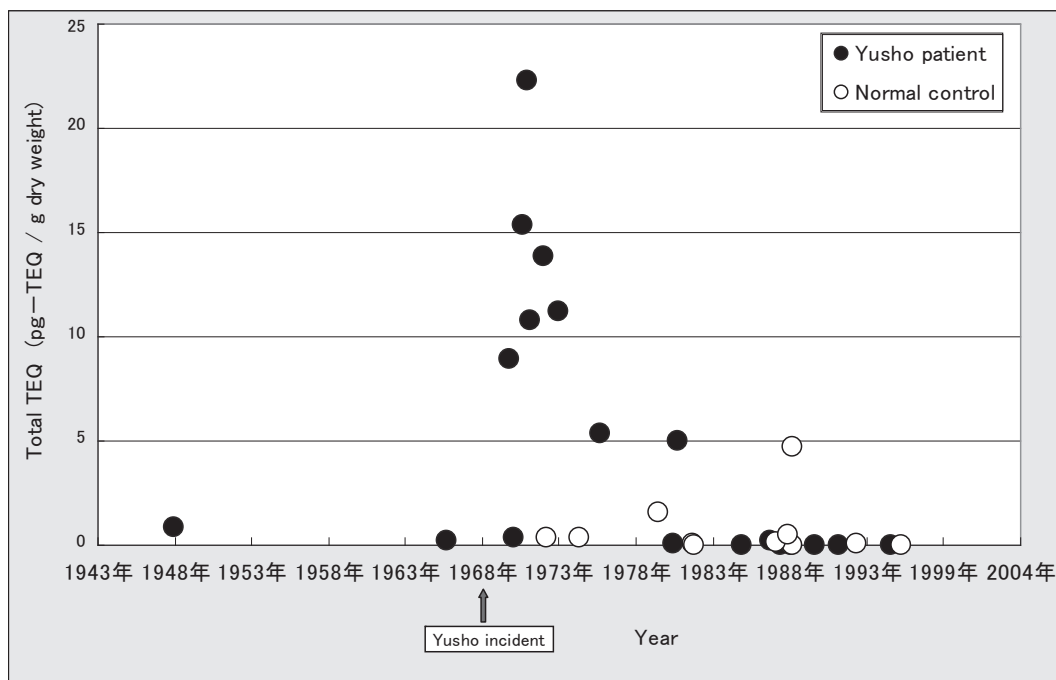


Fig. 1 Dioxin concentrations in the preserved umbilical cords of Yusho patients and normal controls

また油症認定患者の子供（11名）と一般の子供（3名）のへその緒のダイオキシン濃度の平均値はそれぞれ8.46と0.76pg-TEQ/gであり、同時期以外に生まれた油症認定患者の子供（7名）と一般の子供（9名）のへその緒のダイオキシン濃度の平均値はそれぞれ0.20と0.62pg-TEQ/gであった。以上のことから油症事件発生後13年以

内に生まれた子供には特異的にダイオキシン類の高濃度暴露があったことが推察される。

さらに、油症認定患者に特有に見られる2,3,4,7,8-PeCDF及び1,2,3,4,7,8-HxCDFの高濃度汚染⁸⁾がへその緒においても認められた(図2)。油症診断基準に用いられる2,3,4,7,8-PeCDF濃度は油症認定患者のへその緒中の平均濃度は

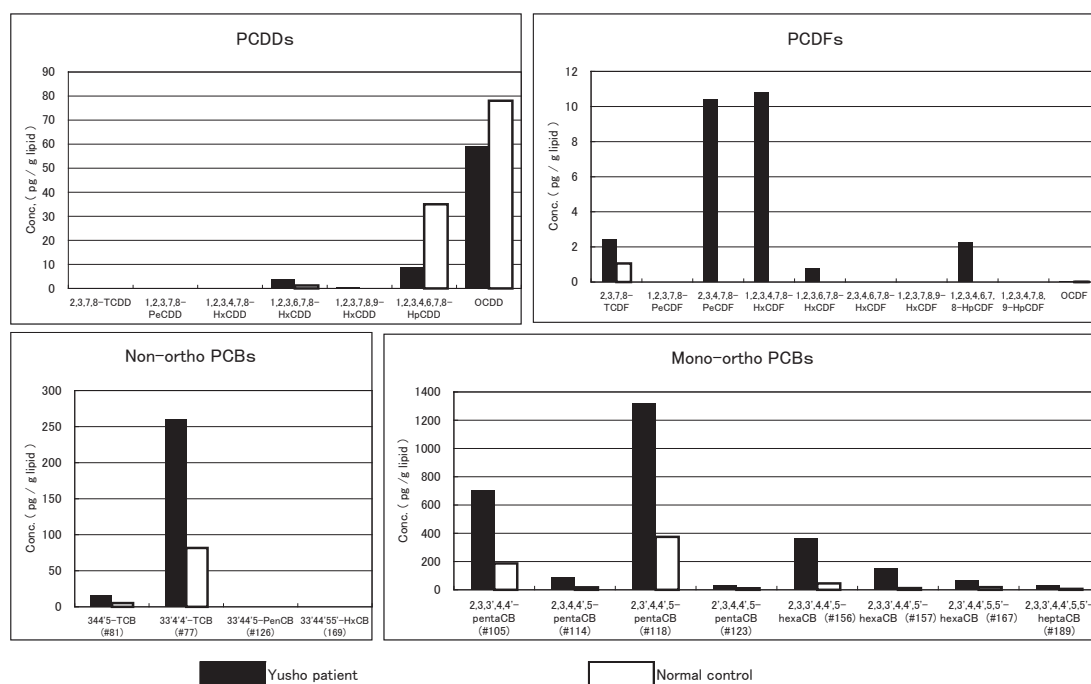


Fig. 2 Congener distributions of PCDD, PCDF, Non-ortho PCB and Mono-ortho PCB in the preserved umbilical cords of Yusho patients and normal controls

10pg/g (ND~48pg/g) であるが、一般人のへその緒からは検出できなかった。油症認定患者の母親12名のうち、2002-2007年の血液中ダイオキシン類濃度の判明している6名の母親の血液とへその緒中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を比較すると、2002-2007年の母親の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が高濃度の場合にへその緒中2,3,4,7,8-PeCDF濃度も高いことが推察された。

総 括

過去の油症認定患者の生体内のダイオキシン濃度の推定、次世代への影響の解析の資料とするため油症認定患者から生まれた子供のへその緒中のダイオキシン濃度を測定した。その結果、油症認定患者のへその緒中のダイオキシン濃度は一般人に比べTotal TEQの平均値で約8倍高く、PCDF濃度は約40倍高かった。特に、油症事件発生後13年以内に生まれた子供のへその緒にダイオキシン濃度が高い場合があることが明らかになった。また、油症認定患者に特有に見られる2,3,4,7,8-PeCDF及び1,2,3,4,7,8-HxCDFの高濃度汚染が認められた。さらに母親の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が高濃度の場合にへその緒中2,3,4,7,8-PeCDF濃度も高いことが推察された。

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。また、家庭で保存された貴重なへその緒を提供いただいた方々に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Otake T, Yoshinaga J, Seki Y, Mstsumura T, Watanabe K, Ishijima M and Kato N: Retrospective in utero exposure assessment of PCBs using preserved umbilical cords and its application to case-control comparison. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 11: 65-68, 2006.
- 2) 青笹 治, 大田壮一, 中尾晃幸, 宮田秀明, 石澤春美, 坂下 栄, 佐藤禮子, 水野玲子: カネミ油症患者における保存さい帯(へその緒)中のPCB濃度, 日本内分泌攪乱化学物質学会第9回研究発表会要旨集, p70, 東京都, 2006.
- 3) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T: New Protocol of Dioxin Analysis in Human Blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 94: 148-157, 2003.
- 4) 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.
- 5) 堀 就英, 飛石和大, 芦塚由紀, 中川礼子, 戸高尊, 平川博仙, 飯田隆雄: ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)及び高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析計(HRGC/HRMS)による血中PCB異性体別分析, *福岡医誌* 96: 220-226, 2005.
- 6) Aozasa O, Ohota S, Nakano T, Miyata H, Ishizawa H, Sakashita S, Satou R and Mizuno R: PCB contamination assessment of Yusho patients by using preserved human umbilical cord. *Bull Environ Contam Toxicol*. 81: 578-582, 2008.
- 7) 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.
- 8) 徳永章二, 飯田隆雄, 古江増隆: 統計学的アプローチによる新油症診断基準の概念. *福岡医誌* 96: 135-145, 2005.

(Received for publication March 26, 2009)

保存さい帯（へその緒）を利用した油症被害者の PCB 汚染評価に関する検討

摂南大学薬学部

宮田 秀明, 青 笹 治, 中 尾 晃 幸, 太 田 壮 一

Investigation of PCB Pollution Evaluation for Yusho Victims Using Their Preserved Umbilical Cord

Hideaki MIYATA, Osamu AOZASA, Teruyuki NAKAO and Souichi OHTA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, Osaka 573-0101

Abstract PCB and dioxin-like PCB (DL-PCB) in 28 umbilical cords preserved from the time when 3 Yusho victims and 11 healthy subjects gave birth were examined in order to investigate the pollution evaluation with both the compounds in Yusho victims on the basis of the analytical value. As a result, in a period of 1968 to the 70s immediately after Yusho incident, the total concentration of the 12 DL-PCB isomers in both the Yusho victims and healthy subjects was very high. After that, the total DL-PCB concentration decreased temporally. However, there was not observed a significant difference in the concentration and composition of both contaminants between the two groups.

はじめに

1968年に我が国で起こったカネミ油症は、ポリ塩化ビフェニル (PCB) とその熱変成物質 (ポリ塩化ジベンゾフラン, ポリ塩化クワッターフェニル) による人体汚染の代表的な事例であり, 40年以上が経過した現在においても油症被害者における健康障害は解決されていない。これまでに油症被害者を対象に血液¹⁾²⁾⁶⁾⁸⁾, 皮脂³⁾, 脂肪組織⁴⁾⁵⁾⁷⁾⁸⁾ および毛髪⁸⁾ など, 多数の生体試料を用いて PCB や PCB 熱変成物質の人体汚染レベルが評価されている。しかし, 油症被害者の保存さい帯 (へその緒) を用いた調査, 研究は皆無の状態である。保存さい帯は, 女性が子供を出産した際に, さい帯の一部を切り取り, 小さな木箱等の容器に入れて各家庭で保存されているものである。その保存さい帯に含まれる化学物質は, 出産当時の母親の体内濃度を反映するものと推測され, 出産当時の化学物質による人体汚染を評価する上で重要な生体試料であり, 新規知見が得られる可能性が高い。

しかし, 保存さい帯は, 少量かつ脂肪含量が極めて少ないことから, 汚染量が多い化合物を対象

とした分析の必要性が推測された。

そのため, 本研究では, 油症被害者である母親が出産した当時の保存さい帯について, 油症原因物質中, 濃度が高く, 毒性の比較的強いダイオキシン様 PCB (DL-PCB) に焦点を絞り, その分析値を基準として, 油症被害者における出産当時の DL-PCB による人体汚染評価指標としての有効性について検討を行った。

実験方法

1. 保存さい帯試料

油症被害者 (3名, 試料提供者 A~C) および一般健常者 (11名, 試料提供者 D~N) が出産した時に保存した出生児の保存さい帯 (へその緒) を試料とした (Table 1, Table 2)。保存さい帯は, 油症被害者支援センターから提供された。油症被害者の3名のうち, 2名が油症認定者であり, 残りの1名は油症未認定者であった。油症被害者の保存さい帯試料は, 2名の油症認定者から提供された3試料と1名の油症未認定者からの3試料, 合計6試料 (Table 1の試料 A-1~C-3) である。保存さい帯を提供した母親が子供を出産した年代は, 油症発生10年前の1958年から油症発生30

Table 1 Sample list (Yusho victim)

Sample donor	Preserved umbilical cord sample	Newborn infant sex	Delivery year
A : Designated Yusho victim	A-1	Female	1989
	A-2	Male	1998
B : Designated Yusho victim	B-1	Male	1968
C : Suspected Yusho victim	C-1	Female	1958
	C-2	Female	1959
	C-3	Female	1962

Table 2 Sample list (Healthy subject)

Sample donor	Preserved umbilical cord sample	Delivery year
D	D-1	1962
E	E-1	1971
F	F-1	1977
	F-2	1974
G	G-1	1985
	G-2	1981
H	H-1	1987
I	I-1	1989
	I-2	1995
J	J-1	1967
	J-2	1969
	J-3	1972
K	K-1	1986
	L-1	1993
L	L-2	1981
	L-3	1983
	L-4	1974
	L-5	1995
	L-6	1977
	M	M-1
N	N-1	1968
	N-2	1995

年後の1998年の期間であった。

一方、一般健常者については、11名の母親から提供された22試料の保存さい帯 (Table 2の試料D-1~N-2) を用いた。これらの保存さい帯の年代は、1962年から1997年であり、油症発生前後 (1966年~1970年) の保存さい帯も5試料が含まれている。

本研究で用いた試料に関しては、いずれも試料保存者からPCB関連物質の調査・研究に利用する旨、およびその研究発表をする旨の承諾を得ている。また、本研究の範囲は、PCB関連物質の汚

染調査に限定したものであるため、特に倫理的に問題になるものはないものと判断される。

2. 分析方法

保存さい帯中のDL-PCB分析法のフローシートをFig. 1に示す。

保存さい帯試料は、アセトンで軽く表面を洗浄した後、約0.3~0.6gをステンレスバサミで細く切り取り、無水硫酸ナトリウム (1.0g) とともに乳鉢で粉末化した。この粉末さい帯試料にクリーンアップスパイク用内標準物質 (12種の¹³C₁₂-ラベル化DL-PCB, 各200pg) を添加後、トルエン100mLを加えて5時間還流抽出を行った。還流抽出後、熱時ろ過し、冷後、トルエン抽出液は、濃縮し、硝酸銀・シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。硝酸銀・シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、1.0gの10% (w/w) 硝酸銀・シリカゲルを充填したカラムを用い、20mLのn-ヘキサンでDL-PCBを溶出させた。

次に、硝酸銀・シリカゲルからの溶出液を濃縮した後、溶媒を完全に留去し、ノナン10μLに溶解させた。この溶液にシリンジスパイク用内標準物質 (¹³C₁₂-2, 3', 4', 5-TeCB (PCB #70), ¹³C₁₂-2, 3, 3', 5, 5'-PeCB (PCB #111), ¹³C₁₂-2, 2', 3, 4, 4', 5-HxCB (PCB #138), ¹³C₁₂-2, 2', 3, 3', 5, 5', 6-HpCB (PCB #178), 各200pg) を加え、液量20μLとしたものを試験溶液とした。この試験溶液の1μLを高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) に注入し、電子衝撃型・選択イオンモニタリング法 (EI-SIM) により、12種のDL-PCBを定量した。なお、HRGC/HRMS分析条件は次の通りである。

機種：Hewlett・Packard 6890 ガスクロマトグラフ・JEOL JMS-700 質量分析計

キャピラリーカラム：SEG製HT-8 (長さ：50m, 内径：0.22mm, 液相膜厚：0.22μm)

カラム温度：130℃ (1分) → 20℃/分 → 220℃ → 5℃/分 → 310℃ (14分)

注入口温度：200℃

セパレータ温度：280℃

イオン化エネルギー：42eV

イオン化電流：600μA

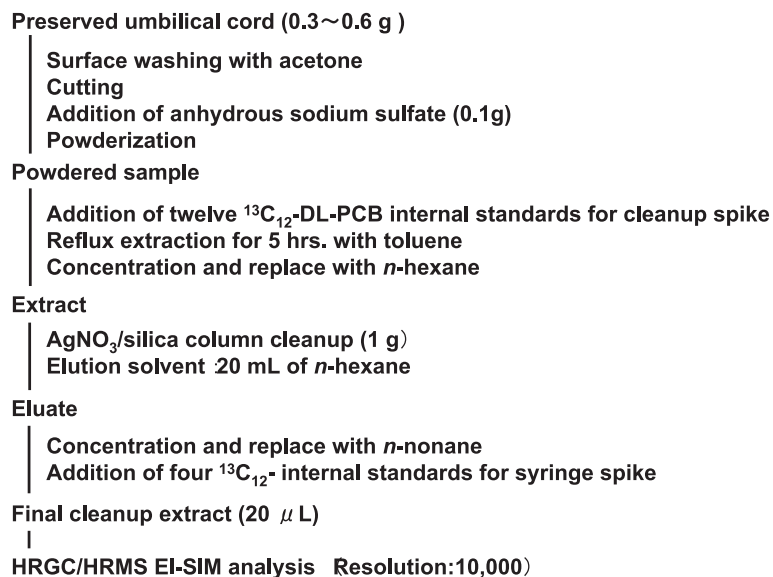


Fig. 1 Flowsheet of analytical method for PCB and DL-PCB in umbilical cord

キャリアーガス：He (1 mL/分)

イオン源温度：280℃

分解能：10,000

検出法：EI-SIM

実験結果および考察

Table 3 は、油症認定者および油症未認定者の母親から提供された保存さい帯中の DL-PCB 異性体濃度を示している。油症認定者の 3 試料の保存さい帯試料から検出された 12 種の DL-PCB 異性体の合計濃度は、試料 1 g 当たり 150~12,000 pg の範囲であった。母親 B から提供された保存さい帯の B-1 試料で、最も高い 12,000 pg の DL-PCB が検出された。しかし、もう一人の油症認定者である母親 A の保存さい帯試料 A-1 と A-2 では、それぞれ 350 pg および 150 pg と低い濃度であった。また、油症未認定の母親から提供された 3 試料 (試料 C-1~C-3) の濃度は、570~4,800 pg である。

Table 4 および Table 5 は、11 人の一般健常者から提供された保存さい帯中の DL-PCB 濃度を示す。その 22 試料から検出された DL-PCB の濃度範囲は、100~23,000 pg であった。ただし、最も高濃度の DL-PCB が検出された E-1 試料の 23,000 pg を除けば、濃度範囲は 100~12,000 pg となり、油症被害者の濃度範囲と類似した結果となった。なお、23,000 pg を示した試料については、再分析を行い、再度検討する予定である。

Fig. 2 では、保存さい帯における DL-PCB の濃度範囲を油症被害者と一般健常者で比較した。油症被害者は油症認定者と油症未認定者に分けた。

その結果、油症認定者の濃度範囲は、150~12,000 pg で、油症未認定者の範囲 (570~4,800 pg) と比べると、最高濃度は高くなる傾向にあった。しかし、一般健常者の濃度範囲は 23,000 pg を示した 1 試料を除けば、100~12,000 pg であり、油症認定者の濃度範囲は、一般健常者にも認められるレベルであった。

以上のように、油症認定者の DL-PCB の濃度範囲は、油症未認定者よりも高濃度であるが、一般健常者の濃度と類似した範囲となる傾向は、2006 年の調査結果⁹⁾でも観察されている。即ち、今回の調査結果は、2006 年の調査結果を支持するものであった。

しかし、現在までの分析試料数は少なく、結論づけるためには、さらに多くの試料の分析結果に基づいて判断する必要がある。

Fig. 3 は、油症被害者 (油症認定者と油症未認定者) および一般健常者の保存さい帯に含まれる DL-PCB の合計濃度について、出産年代ごとにプロットしたものである。

油症被害者の保存さい帯中に含まれる DL-PCB の総濃度は、1960 年頃から上昇傾向を示し、油症発生直後の 1968 年~1970 年には 10,000 pg/g 以上の濃度で最も高くなり、その後は減少傾向に転じ、1990 年頃には 300 pg/g 以下

Table 3 Concentrations of DL-PCB isomers in preserved umbilical cords from Yusho victims

DL-PCB		Designated Yusho victim			Suspected Yusho victim		
		A-1	A-2	B-1	C-1	C-2	C-3
TeCB	3,4,4',5'- (#81)	15	—	17	—	35	4.1
	3,3',4,4'- (#77)	14	3.1	140	69	570	80
PeCB	2,3,4,4',5'- (#123)	2.9	1.9	270	3.8	61	8.3
	2,3',4,4',5'- (#118)	190	59	5400	290	2300	510
	2,3,4,4',5'- (#114)	15	3.7	460	18	110	23
	2,3,3',4,4'- (#105)	63	29	3500	150	1300	270
	3,3',4,4',5'- (#126)	—	—	58	—	11	—
	2,3',4,4',5,5'- (#167)	15	8.5	400	11	100	29
HxCB	2,3,3',4,4',5'- (#156)	27	31	1000	21	250	70
	2,3,3',4,4',5'- (#157)	15	16	320	8.9	78	23
	3,3',4,4',5,5'- (#169)	—	—	24	—	—	—
HpCB	2,3,3',4,4',5,5'- (#189)	4.6	—	110	—	13	—
Total concentration		350	150	12000	570	4800	1000

— : No detection

Table 4 Concentrations of DL-PCB isomers in preserved umbilical cords from healthy subjects

DL-PCB		(pg/g)										
		D-1	E-1	F-1	F-2	G-1	G-2	H-1	I-1	I-2	J-1	J-2
TeCB	#81	4.8	480	3.6	—	—	—	—	—	—	47	13
	#77	120	4600	51	22	32	—	27	20	13	820	260
	#123	20	400	7.0	5.4	5.0	7.4	2.3	—	1.6	130	37
PeCB	#118	1050	9300	420	320	300	330	140	170	85	6600	2100
	#114	65	650	22	21	7.7	230	8.8	11	6.5	340	100
	#105	390	6000	170	120	110	180	56	55	30	2600	800
	#126	—	43	—	—	4.4	—	—	—	—	26	7.3
HxCB	#167	50	310	20	25	17	18	14	13	4.1	360	82
	#156	79	830	51	50	37	34	39	21	13	830	180
	#157	33	220	19	12	15	9.5	16	8.2	4.6	260	50
	#169	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.3	17
HpCB	#189	—	43	—	—	4.6	—	—	—	—	24	—
Total concentration		870	23000	760	580	530	800	310	300	160	12000	3700

— : No detection

Table 5 Concentrations of DL-PCB isomers in preserved umbilical cords from healthy subjects

DL-PCB		(pg/g)										
		J-3	K-1	L-1	L-2	L-3	L-4	L-5	L-6	M-1	N-1	N-2
TeCB	#81	24	—	2.5	—	1.7	1.6	—	—	42	1.9	2.0
	#77	230	14	27	18	18	6.4	15	150	110	21	18
	#123	33	—	4.3	2.2	3.3	1.1	—	5.4	47	7.6	2.1
PeCB	#118	1700	170	230	150	170	47	73	310	1600	310	64
	#114	72	8.5	17	9.4	11	2.9	6.7	16	180	21	7.0
	#105	760	61	74	66	60	20	39	190	550	120	35
	#126	13	—	—	—	2.5	—	—	—	—	—	—
HxCB	#167	120	19	36	6.4	11	3.8	4.3	14	160	15	3.7
	#156	230	47	96	23	26	14	12	30	210	45	8.7
	#157	120	13	22	7.1	8.4	2.8	7.5	19	99	14	5.4
	#169	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HpCB	#189	21	—	22	—	—	—	—	—	18	—	—
Total concentration		3400	330	540	280	310	100	160	730	3000	560	150

— : No detection

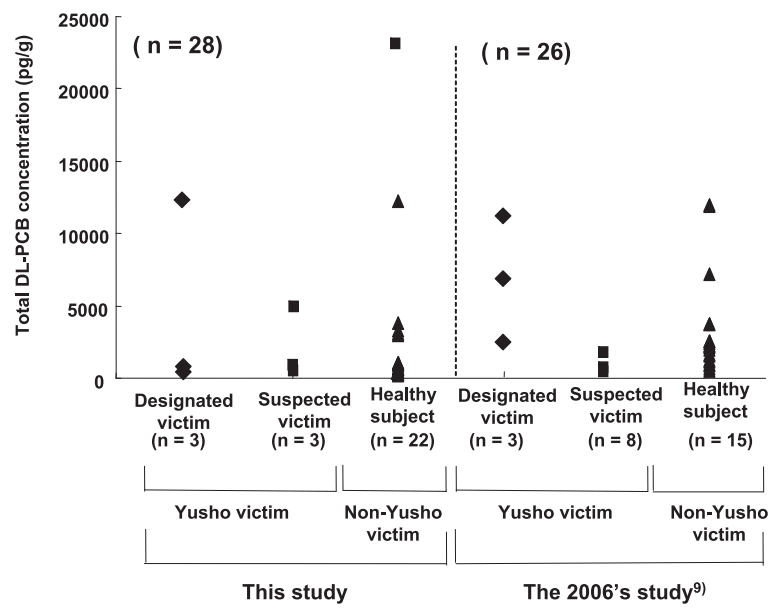


Fig. 2 Comparison of the total DL-PCB concentration in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects

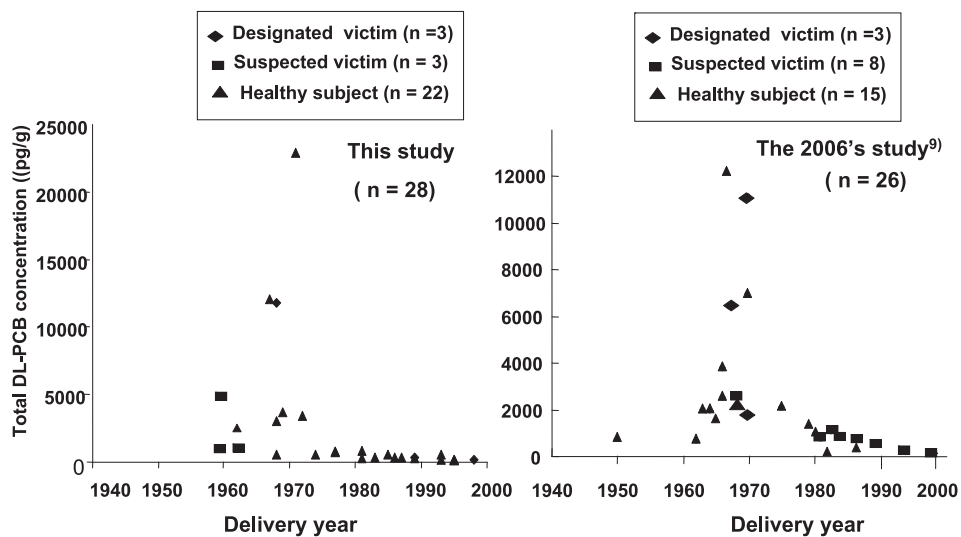


Fig. 3 Comparison of the total DL-PCB concentration in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects

Table 6 Comparison of the peak area ratio of PCB#118-/PCB#153 and PCB#156-/PCB#153 in Yusho victims and healthy subjects

【The result of this study】

Peak area ratio	Yusho victim (n=6)		Healthy subject (n=22)
	Designated victim (n=3)	Suspected victim (n=3)	
PCB#118/PCB#153	1.8 (0.44~4.2)	2.4 (0.20~2.8)	1.6 (0.17~4.2)
PCB#156/PCB#153	0.25 (0.09~0.51)	0.17 (0.10~0.23)	0.15 (0.04~0.23)
Total DL-PCB (pg/g)	4200 (150~12000)	2100 (570~4800)	2400 (100~23000)

【The result of 2006's study⁹⁾】

Peak area ratio	Yusho victim (n=11)		Healthy subject (n=8)
	Designated victim (n=3)	Suspected victim (n=8)	
PCB#118/PCB#153	8.0 (4.5~12)	3.9 (1.1~5.9)	2.1 (0.98~4.4)
PCB#156/PCB#153	0.29 (0.21~0.36)	0.21 (0.06~0.40)	0.10 (0.06~0.20)
Total DL-PCB (pg/g)	6500 (2000~11000)	560 (130~1400)	3900 (680~12000)

Table 7 Comparison of the peak area ratio of PCB#118-/PCB#153 and PCB#156-/PCB#153 in Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

【The result of this study】

Peak area ratio	Yusho victim		E-1 (Healthy subject)
	B-1 (Designated victim)	C-2 (Suspected victim)	
PCB#118/PCB#153	4.2	2.8	4.2
PCB#156/PCB#153	0.51	0.23	0.23
Total DL-PCB (pg/g)	12,000	4800	23,000

【The result of 2006's study⁹⁾】

Peak area ratio	Yusho victim		①-1 (Healthy subject)
	①-1 (Designated victim)	②-1 (Suspected victim)	
PCB#118/PCB#153	4.5	4.6	3.8
PCB#156/PCB#153	0.21	0.40	0.20
Total DL-PCB (pg/g)	11,000	1,400	12,000

にまで低下する結果となっている。

また、油症認定者と一般健常者の濃度を比較した場合、油症発生直後の1968年~1970年に高濃度を示す傾向は、油症認定者だけでなく、一般健常者でも同様に認められた。また、油症認定者と一般健常者の濃度も近似したレベルであった。従って、油症発症直後の1968年~1970年には、一般健常者にも油症認定者と同等のレベルで母親の体内が高濃度に汚染されていた可能性が高いことが示唆された。この結果についても、2006年の調査結果⁹⁾と同様な傾向であった。このような結果は、わが国におけるPCB使用量をよく反映し

ている。即ち、わが国ではPCB使用は、1954年から始まり、その後、経年的に急増し、1970年の約1万トンをピークにして1972年に使用・生産が中止になっている¹⁰⁾。

油症認定者の生体試料中のPCBは一般健常者と比べ特徴的な異性体組成を示すことが明らかにされている¹¹⁾。具体的には、油症認定者は、一般健常者に比べて、2, 3, 3', 4, 4', 5-HxCB (PCB # 156) 異性体濃度が高く、逆に、2, 3', 4, 4', 5-PeCB (PCB #118) 異性体濃度が低いという特徴がある。従って、Table 6では、油症被害者(油症認定者と油症未認定者)および一般健常者につ

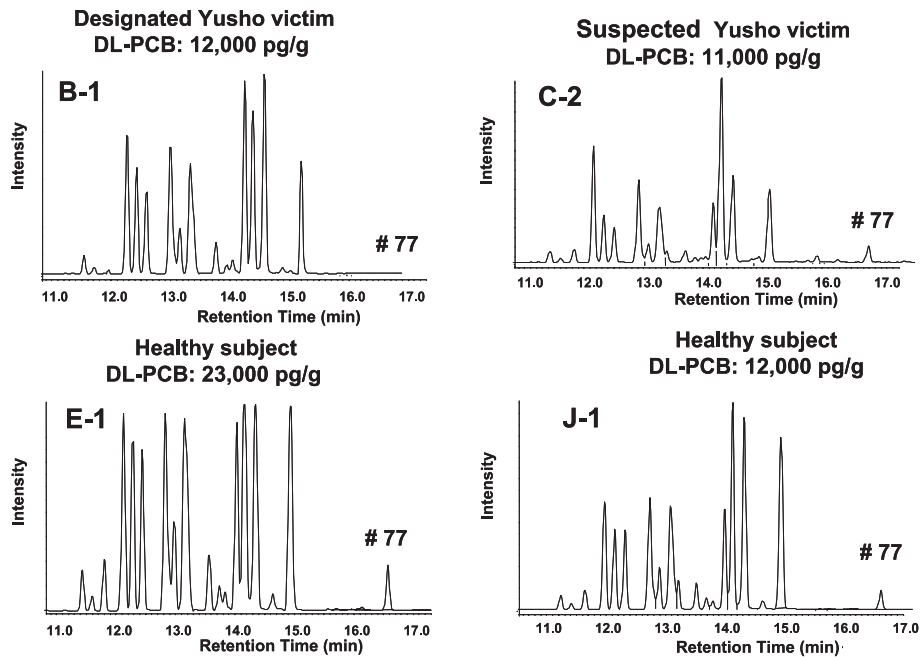


Fig. 4 HRGC/HRMS SIM chromatograms of TeCBs in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

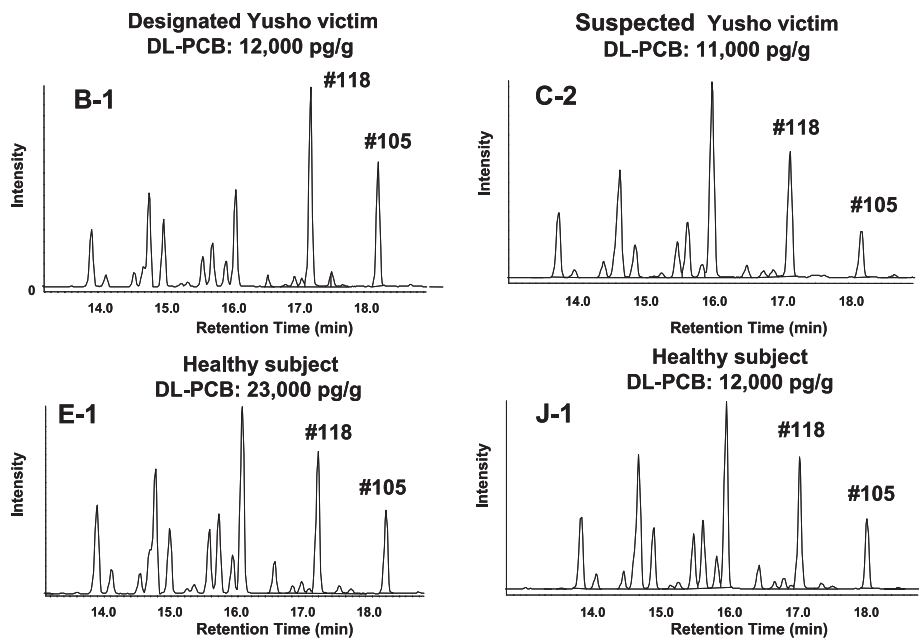


Fig. 5 HRGC/HRMS SIM chromatograms of PeCBs in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

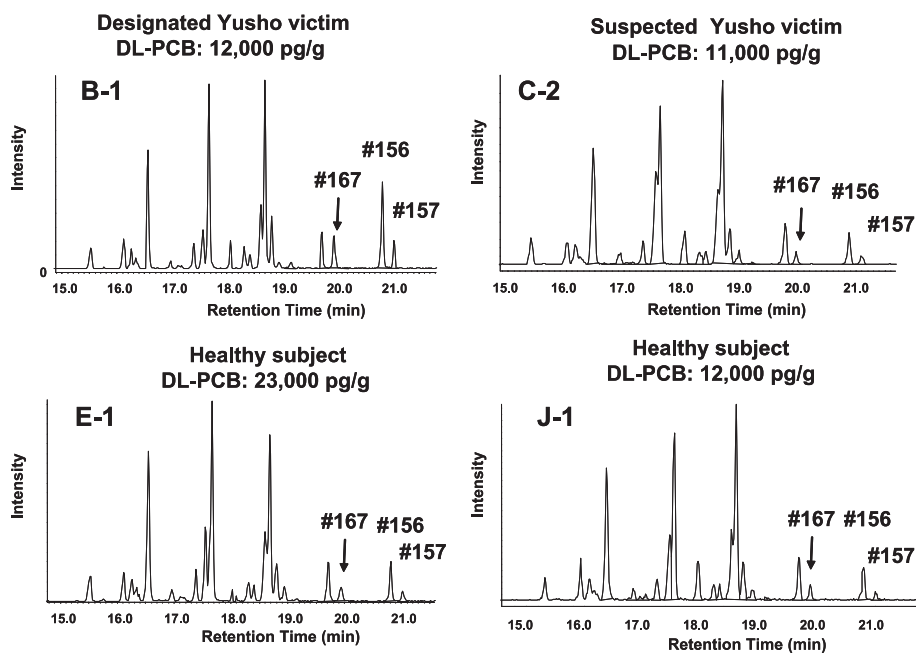


Fig. 6 HRGC/HRMS SIM chromatograms of HxCBs in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

いて、2, 2', 4, 4', 5, 5'-HxCB (PCB#153) 異性体を基準にして、PCB # 156 異性体および PCB#118 異性体の面積比を算出し、比較・検討した。

その結果、油症認定者における PCB # 153 異性体に対する PCB # 118 異性体の面積比 (PCB # 118/PCB # 153 比) は、1.8 であり、一般健常者の面積比の 1.6 よりも、逆に高い値となった。この傾向は、前回の調査結果⁹⁾ (油症認定者の濃度比: 8.0, 一般健常者の濃度比: 2.1) でも同様であった。従って、保存さい帯では、油症認定者の生体試料中に認められる特徴的な異性体組成を示す可能生は低いことが示唆された。さらに、Table 7 において、油症認定者で最高濃度 (12,000 pg/g) を示した B-1 試料および油症未認定者で最高濃度を示した C-2 試料についてのピーク面積比を、一般健常者で最高濃度 (23,000 pg/g) の E-1 試料と比較検討したが、上記と同様の結果となった。

Fig. 4~Fig. 6 には、前回⁹⁾および今回の調査において、最高濃度を示した油症認定者および一般健常者の保存さい帯試料について、それぞれの HRGC/HRMS SIM クロマトグラムを示した。これらクロマトグラムを比べ、DL-PCB 以外の PCB 異性体について、油症認定者に特徴的な異性

体の有無を検討した。しかしながら、クロマトグラムから読み取れる主要成分の異性体について、油症認定者に特徴的な異性体を確認することができなかった。

以上の結果から、今後、分析例を増やすとともに、さらに詳細な解析を行う必要がある。一方、ポリ塩化クワターフェニル (PCQ) は、油症原因油摂取の指標として極めて有効である。そのため、PCQ を指標化合物とした評価を検討することが重要であるものと推測される。

総 括

油症被害者 3 名および一般健常者 11 名の女性が出産した時の保存さい帯 (へその緒) 28 試料を対象として、ダイオキシン様 PCB (DL-PCB) を分析し、その分析値を基準にして、出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した。その結果、油症発症当時の 1968~70 年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く、それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた。しかし、両化合物の汚染濃度や組成は、油症被害者と一般健常者との間で有意的な差異は認められなかった。この傾向は、2006 年に実施した油症被害者と一般健常者の保存さい帯試料 (油症認定者: 3 試料, 油症未認定

者：8 試料，一般健常者：15 試料) の分析結果と同様であった。従って，今後，分析例を増やすとともに，さらに詳細な解析を行う必要がある。また，ポリ塩化クワッターフェニル (PCQ) 等を含めた PCB 熱変成物についても検討することが重要である。

参考文献

- 1) 飯田隆雄，深町和美，高橋克己，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，山口早苗，黒木宏明，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。
- 3) 黒木宏明，大間美和，原口浩一，増田義人，猿田隆夫：油症患者の皮脂，皮下膿瘍中の PCB および PCDF 分析，福岡医誌 78：320-324，1987。
- 4) 檜本 隆，宮田秀明，高山幸司，尾垣淳治：高分解能 MS-SIM 法による油症患者組織および原因油中の PCDDs，Coplanar PCBs，PCDFs，福岡医誌 78：325-336，1987。
- 5) 大神太郎，野中薫雄，吉田彦太郎，村山史男，山下和徳，益田宣弘：油症患者の血液および皮下脂肪組織中の polychlorinated biphenyls (PCB)，polychlorinated quaterphenyls (PCQ) の濃度と性状について，福岡医誌 78：337-342，1987。
- 6) 大間美和，黒木宏明，原口浩一，増田義人，許書刀：PCB 中毒患者における血液中 PCB 異性体の濃度推移，福岡医誌 80：281-286，1989。
- 7) 飯田隆雄，中川礼子，深町和美，高橋克己：油症患者の皮下脂肪組織中 Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs)，福岡医誌 80：296-301，1989。
- 8) Ohgami T, Nonaka S, Yamashita K, Irifune H, Watanabe M, Tsukazaki N, Tanaka K and Yoshida H: A comparative study on polychlorinated biphenyls (PCB) and polychlorinated quaterphenyls (PCQ) concentrations in subcutaneous fat tissue, blood and hair of patients with Yusho and normal control in Nagasaki Prefecture, 福岡医誌 80：307-311, 1989.
- 9) 青笹 治，太田壮一，中尾晃幸，宮田秀明，石澤春美，坂下 栄，佐藤麗子，水野玲子：カネミ油症患者における保存さい帯（へその緒）中の PCB 濃度，環境ホルモン学会第 9 回研究発表会要旨集，70-71 頁（東京）（2006）。
- 10) PCB をなくすために：<http://www.pcb.jp/seisan.html>
- 11) 増田義人，吉村健清，梶原淳陸：油症発症より 38 年間の患者血液中 PCBs，PCDFs の濃度変遷，福岡医誌 98：182-195，2007

(Received for publication April 7, 2009)

発酵玄米健康補助食品摂取による油症原因物質の体外排泄促進 —PCDFs と PCDDs の場合—

¹⁾九州大学大学院医学研究院 保健学部門 環境分子疫学研究室

²⁾福岡県保健環境研究所 保健科学部 生活化学科

³⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

⁴⁾北九州津屋崎病院 内科

⁵⁾株式会社玄米酵素

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

Promotive Excretion of Causative Agents of Yusho by Intake of Fermented Brown Rice with *Aspergillus oryzae* in Patients with Yusho —with Regard to PCDFs and PCDDs—

Junya NAGAYAMA¹⁾, Hironori HIRAKAWA²⁾, Jumboku KAJIWARA²⁾, Takao IIDA²⁾, Takashi TODAKA³⁾,
Takeshi UENOTSUCHI³⁾, Satoko SHIBATA³⁾, Hiroshi TSUJI⁴⁾ and Teruaki IWASAKI⁵⁾

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

²⁾Division of Food and Drug Hygiene, Department of Health Science, Fukuoka
Institute of Health and Environmental Science

³⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

⁴⁾Division of Internal Medicine, Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital

⁵⁾Genmaikouso Corp

Abstract Forty 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 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, chlorophyll and dietary fiber have been shown to promote the fecal excretion of PCDFs and PCDDs and to reduce their levels in rats. In this study, we have examined whether such kinds of effect are also observed by fermented brown rice with *Aspergillus oryzae* (FBRA) containing 5% spirulina, which is so-called spirulina HI·GENKI, the health food and relatively rich with chlorophyll and dietary fiber, in eighteen patients with Yusho. They were divided into two groups, namely group A, ten patients (3 males and 7 females) with the mean age of 67.7 years old and group B, eight patients (4 males and 4 females) with the mean age of 64.1 years old. 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 lipid weight basis just before initiating this study were as follows; group A: 413, 152 and 45.7 pg/g lipid, and group B: 151, 42.7 and 17.3 pg/g lipid. Contamination levels of these PCDF congeners in group A were 2.6 to 3.6 times higher than those in group B. In respective mean concentrations of PCDFs, PCDDs and PCDFs/DDs in both groups were as follows; group A: 228, 30.9 and 258 pg-TEQ/g lipid, and group B: 82.4, 19.7 and 102 pg-TEQ/g lipid. Contamination levels of PCDFs and PCDDs were around 2 times higher in group A than in group B. Group A took around 7.0 g of spirulina HI·GENKI after each meal and three times a day for the first one

year and for the second one year, they did not take spirulina HI·GENKI any more. Group B took spirulina HI·GENKI with the same manner as the group A only for the second one year. The concentrations of PCDFs and PCDDs in the blood of groups A and B were also measured at the end of the first and second year, respectively. Assuming the body fat is also contaminated with PCDFs and PCDDs at their concentrations on lipid weight basis in the blood and the content of body fat is 20% of 60 kg body weight, we computed the average amounts in the net excretion of PCDFs and PCDFs/DDs from the body of the patients due to the intake of spirulina HI·GENKI in groups A and B. As a result, in group A, 85.0 and 99.6 ng-TEQ/patient, respectively were excreted from the body of the patients. In group B, only 38.1 and 40.0 ng-TEQ/patient were excreted. Accordingly, promotive excretion of PCDFs and PCDDs 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.

はじめに

カネミ油症(油症)中毒事件が1968年に福岡県、長崎県を中心として発生して以来、41年が経過しようとしている。中毒事件発生当初に油症患者に認められた激しい症状は最近ではほとんどの患者で認められなくなっているが、未だに皮膚の化膿傾向を認める患者も少なからずおり、二極化の傾向にあるとも考えられる。また、種々様々な自覚症状で苦しむ患者も少なくない。

油症中毒事件が発生した当初、この中毒事件の原因物質はポリ塩化ビフェニル(PCBs)と考えられた¹⁾。しかし、その後、油症患者が摂取したライスオイルおよび患者の種々の臓器・組織から極めて高濃度のポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDFs)が分離・同定され^{2)~4)}、これが油症の原因物質と考えられた。その後の動物実験や1979年に台湾中部で発生した同様の中毒事件の研究結果などから、油症の主原因物質はPCDFsと判明した^{5)~9)}。圧巻はある工場で熱媒体として使用されていたカネクロール400—これは現株カネカが1954年から製造し、販売していたPCBの一種で、油症の原因となったライスオイルを製造していたカネミ倉庫でも熱媒体として使用されていた—からPCBsとPCQsそれにPCDFsを抽出分離し、サルへの毒性を調べた実験である¹⁰⁾。この実験で、PCDFs含有バナナを摂取したサルだけが油症患者に特有の浮腫、クロルアクネ、色素沈着および脱毛の症状を呈した。しかも、油症患者とほぼ同じ摂取量だった。しかし、油症患者の13倍ものPCBsとPCQsを摂取しても、サルには何の異常も観察されなかった。この実験から、油症は完全にPCDFsが原因であると考えられた。

現在でも油症患者は健常者と比較して、油症の

原因物質である2,3,4,7,8-五塩化ダイベンゾフラン(2,3,4,7,8-PenCDF)とPCDFsの平均濃度は約10倍も高い¹¹⁾。したがって、油症患者の臨床症状や自覚症状を根本的に改善・治療する唯一最重要課題は油症原因物質の体内への吸収を抑制し、体外への排泄を促進し、できるかぎり体内汚染レベルを低下させることである。

ラットを用いた実験により、食物繊維と葉緑素にはPCDFsおよびPCDDsの消化管での吸収と再吸収を抑制することにより、体外への排泄を促進することが認められている^{12)~17)}。これにより、体内汚染レベルが低下するとともに、特に油症原因物質として重要な2,3,4,7,8-PenCDFの生物学的半減期が2分の1以下に短縮させられた¹⁶⁾。このような動物実験の結果より、我々は食物繊維と葉緑素を多量に含有する発酵玄米健康補助食品ハイ・ゲンキ(スピルリナ入)によるダイオキシン類の体外排泄促進について健常な日本人を対象とした研究結果をすでに報告している^{18)~21)}。また、実際に油症患者を対象としたハイ・ゲンキ(スピルリナ入)によるPCDFsの体外排泄促進についても発表している²²⁾²³⁾。しかし、これらの油症患者を対象とした論文ではPCDFsの血中濃度は全重量当りの濃度を用いており、血液の脂質含有率を0.3%と仮定して、脂質重量当りの濃度を算出し、体外への排出量を求めている。その理由は、近年、我々の研究により、脂質重量当りの濃度が不正確であることが判明したからである^{24)~26)}。しかし、今回、この研究のPCDFs, PCDDs, ダイオキシン様PCBsおよびPCBsの全重量当りと脂質重量当りの濃度を比較・検討したところ、この研究に関してはこれまで指摘してきた問題が生じていないことがわかった。したがって、この論文ではPCDFsとPCDDsの脂質重量

当りの濃度を用いて、ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の体外排泄促進効果を検討したので報告する。

研究方法

1. 発酵玄米健康補助食品ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）

ハイ・ゲンキとは玄米に胚芽と糠を混合後、蒸したものを *Aspergillus oryzae* で発酵させた健康補助食品で、(株)玄米酵素（本社：札幌市）が1977年より製造・販売しており、これまで10万人以上の人々が食している。葉緑素を含有するハイ・ゲンキ（スピルリナ入）は1984年より同社から製造・販売されている。玄米にはもともと白米と比較して多量の食物繊維が含まれているが、ハイ・ゲンキにはこの製造過程で添加された胚芽と糠により、さらに多くの食物繊維が含有されることになる。Table 1にハイ・ゲンキ（スピルリナ入）と白米ご飯の1日摂取量を基準とした栄養成分を比較して示した。1日に白米ご飯600gを食べるとしているが、その食物繊維摂取量は1.8gとなる。これに対して、毎食2袋（3.5g/袋）のハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を食するとすると、1日では6袋21gとなり、その食物繊維摂取量は4.7gで、白米ご飯の2.6倍多くなる。また、カロリーや糖質を除く多くの栄養成分においても、ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）からの摂取量が多くなり、栄養素摂取の点からも効率が良いことがわかる。さらにハイ・ゲンキ（スピルリナ入）にはスピルリナという藍藻粉末を5%添加することにより、クロロフィルaが12.9mg含まれている。したがって、PCDFsやPCDDsの体内への吸収を抑制し、体外への排泄を促進する食物繊維と葉緑素の両方を多量に含有している。これらのことは油症患者の体内汚染レベルを低下させる可能性があり、低カロリー・高栄養で、健康にも良い影響を与えることが期待される。ということで、研究用食品として用いることにした。

2. 対象者と採血

油症の認定患者に対して、研究内容について十分に説明した文書等により、研究への参加者を募集した。2年間の研究に協力してくれたのは18名であった。最初の1年間ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取するAグループと、その次の1年

Table 1 Ingredients of Spirulina HI・GENKI and boiled polished rice

Ingredient	Unit	Spirulina HI・GENKI	Boiled Polished Rice
		/21g*	/600g
Energy	kcal	88	1008
Moisture	g	0.3	360
Protein	g	5.9	15
Fat	g	4.5	1.8
Carbohydrate	g	3.8	223
Dietary Fiber	g	4.7	1.8
Ash	g	1.9	0.6
Mineral			
Sodium	mg	5.3	6.0
Potassium	mg	405	174
Calcium	mg	67	18
Magnesium	mg	162	42
Phosphorus	mg	386	206
Iron	mg	2.7	0.6
Zinc	mg	1.1	3.6
Copper	mg	0.16	0.6
Manganese	mg	2.71	2.1
Selenium	μg	1.47	n.a.
Vitamin			
A	μg	201	0
E	mg	1.1	Trace
K	μg	22.5	0
B1	mg	0.56	0.12
B2	mg	0.20	0.06
Niacin	mg	9.1	1.2
B6	mg	0.55	0.12
B12	μg	2.73	0
Folic acid	μg	48	18
Pantothenic acid	mg	1.32	1.5
Biotin	μg	9.0	n.a.
SOD activity	U/g	650	n.a.
Phytin acid	g	0.87	n.a.
Chlorophyll	mg	12.9	n.a.

* : Analysis was conducted and certified by Foundation of Japan Food Analysis Center on June 17, 2008.
n.a. : Not analyzed.

間に摂取するBグループについて患者の希望によりグループ別けした。その結果、Aグループは10名（男性3名、女性7名）で平均年齢が67.7歳となり、Bグループは8名（男性4名、女性4名）で平均年齢が64.1歳となった。

上記の両グループについて Fig. 1 に示すプロトコルに従って研究を行った。つまり、研究を開始する前の2003年4月、1人の患者につき、1週間

以内に2回の採血を行った。2003年5月よりAグループの患者に対して、毎食時3袋1日3回ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取するようお願いした。Bグループの患者については通常の食事をしていただいた。研究開始からおよそ1年が経過する2004年4月、1人の患者につき1週間以内に2回の採血を行った。さらに、2004年5月より、今度はBグループの患者に対して、毎食時3袋1日3回ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取するようお願いした。Aグループの患者には通常の食事をしていただいた。研究開始からおよそ2年が経過する2005年4月、1人の患者につき1週間以内に2回の採血を行った。

3. PCDFs/DDsの測定

研究開始前、研究開始1年後および2年後の血液検体から高速溶媒抽出装置でアセトン/ヘキサン溶媒系によりPCDFsおよびPCDDsを抽出し、高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能マスマスペクトロメトリーによる分析・定量はすでに報告している方法で行った^{27)~29)}。また、WHOにより1998年に公表された2,3,7,8-四塩化ダイベンゾ-*a*-ダイオキシン毒性当量係数³⁰⁾を用いて、PCDFsとPCDDsの毒性当量（TEQ）濃度を算出した。

各時期において、1人につき1週間以内に2回採血した血液検体のPCDFsおよびPCDDs濃度を平均して、それぞれの時期における患者の化学物質濃度とした。

4. 解析方法

研究開始前、研究開始1年後および2年後の血中PCDFsおよびPCDDsの濃度変化の有意性は対応のある場合のStudent t検定により、検討した。

研究結果および考察

Table 2 に油症の原因物質として特に重要な3

種のPCDFs同族体、つまり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AグループとBグループの血中濃度測定結果を示した。いずれのPCDFs同族体でもAグループのほうが2.6~3.6倍高濃度であった。しかし、汚染レベルの低いBグループでも、研究開始前の2,3,4,7,8-PenCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF および1,2,3,6,7,8-HxCDFそれぞれの平均濃度151, 42.7 および17.3 pg/g lipidは同時代・同年代の健常者と比較して8.6倍, 8.5倍そして3.0倍も高い³¹⁾。このことは両グループのPCDFsとPCDDsをTEQ濃度に換算して示した表3でも認められる。やはりTEQ濃度でもAグループよりもBグループのほうが2倍前後低く、研究開始前のBグループのPCDFs, PCDDsおよびPCDFs/DDsの各濃度は82.4, 19.7および102 pg-TEQ/g lipidであった。これを上記の健常者と比較すると、それぞれ8.1倍, 1.3倍そして4.0倍高く³¹⁾、現在でも油症患者はその主原因物質である2,3,4,7,8-PenCDFやPCDFsによって高濃度で汚染されていることがわかる。

最初の1年間ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取したAグループでは研究開始前の濃度と比較して、1年後の濃度が低下し、逆に摂取しなかった2年後には1年後の濃度よりも高くなっていった。また、2年目の1年間ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取したBグループでは2年後の濃度のほうが1年後の濃度よりも低下していた（Table 2）。このような傾向は両グループのPCDFsとPCDDsのTEQ濃度でも認められた（Table 3）。

血中濃度の変化が認められるということはとても大変なことで、体内に存在するPCDFsとPCDDsが動的平衡状態にあるとすると、この脂質重量当りの濃度で体全体に存在する脂肪が汚染

	First Year		Second Year	
April	May	April	May	April
Collection of Blood Sample 2 times/ person-week	Intake of Spirulina HI-GENKI Group A (+) Group B (-)	Collection of Blood Sample 2 times/ person-week	Intake of Spirulina HI-GENKI Group A (-) Group B (+)	Collection of Blood Sample 2 times/ person-week

Fig. 1 Experimental protocol of intake of Spirulina HI · GENKI on promotive excretion and/or suppressive absorption of PCDFs/DDs in patients with Yusho

されていることになる。そして、体重を 60 kg とし、体脂肪率を 20% とすると、体脂肪量は 12 kg になる。この体脂肪中に存在する 3 種類の PCDFs 同族体と PCDFs および PCDDs の負荷量を算出し、それぞれを Table 4 と Table 5 に示す。A グループでは研究開始当初よりも 1 年後の負荷量のほうが低値であり、B グループでは研究開始 1 年後よりも 2 年後の負荷量のほうが低値となっている。これはハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の摂取により、PCDFs と PCDDs の腸管での吸収と再吸収が抑制され、体外への排泄が促進された

結果と考えられる。

Fig. 2 に 2,3,4,7,8-PenCDF の、そして Fig. 3 と Fig. 4 にはそれぞれ PCDFs と PCDFs/DDs の TEQ 濃度での体内負荷量の変化をハイ・ゲンキ（スピルリナ入）の摂取状況とあわせて示した。2,3,4,7,8-PenCDF の場合、ハイ・ゲンキ（スピルリナ入）を摂取した 1 年では A グループで患者 1 人当たり 12.0 ng、また B グループでは 13.4 ng 体内負荷量が減少しているのに、摂取しない 1 年ではそれぞれ 61.9 ng と 64.6 ng 増加している (Fig. 2)。また、PCDFs/DDs の場合、ハイ・ゲン

Table 2 Effects of the intake of Spirulina HI·GENKI for one year on changes in concentrations on lipid weight basis of three PCDF congeners in the blood of patients with Yusho

PCDF Congener	Concentration (Mean ± S.D.), pg/g lipid weight		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
2,3,4,7,8-PenCDF			
Group/A	413 ± 570	412 ± 569	417 ± 577
B	151 ± 122	157 ± 125	156 ± 126*
1,2,3,4,7,8-HxCDF			
Group/A	152 ± 244	130 ± 205*	137 ± 223**
B	42.7 ± 31.0	41.3 ± 29.5	40.5 ± 31.2
1,2,3,6,7,8-HxCDF			
Group/A	45.7 ± 65.0	39.9 ± 54.0*	42.7 ± 60.3*
B	17.3 ± 10.1	17.2 ± 10.2	16.8 ± 10.9

* : Significantly different from the initial concentration of each group, $p < 0.1$.

** : Significantly different from the initial concentration of each group, $p < 0.05$.

Table 3 Effects of the intake of Spirulina HI·GENKI for one year on changes in concentrations on lipid weight basis of PCDFs, PCDDs and PCDFs/DDs in the blood of patients with Yusho

Compound	Concentration (Mean ± S.D.), pg-TEQ/g lipid		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
PCDFs			
Group/A	228 ± 317	224 ± 312	228 ± 318
B	82.4 ± 65.0	84.9 ± 66.8	84.3 ± 67.6
PCDDs			
Group/A	30.9 ± 22.8	30.3 ± 21.4	31.0 ± 22.4
B	19.7 ± 5.3	19.7 ± 4.2	19.5 ± 4.3
PCDFs/DDs			
Group/A	258 ± 340	254 ± 333	259 ± 340
B	102 ± 65.5	105 ± 68.6	104 ± 69.2

Table 4 Effect of the intake of Spirulina HI·GENKI for one year on changes in average body burdens of three PCDF congeners in patients with Yusho

PCDF Congener	Average Body Burden, ng/patient*		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
2,3,4,7,8-PenCDF			
Group/A	4,951	4,939	5,001
B	1,817	1,882	1,868
1,2,3,4,7,8-HxCDF			
Group/A	1,820	1,558	1,644
B	512	495	486
1,2,3,6,7,8-HxCDF			
Group/A	548	479	512
B	207	206	201

* : Content of body fat was considered 20% of 60kg body weight.

Table 5 Effect of the intake of Spirulina HI·GENKI for one year on changes in average body burdens of PCDFs, PCDDs and PCDFs/DDs in patients with Yusho

Compound	Average Body Burden, ng-TEQ/patient*		
	Initial	After 1st year	After 2nd year
PCDFs			
Group/A	2,730	2,689	2,733
B	989	1,019	1,011
PCDDs			
Group/A	370	364	372
B	237	237	234
PCDFs/DDs			
Group/A	3,101	3,053	3,105
B	1,226	1,256	1,246

* : Content of body fat was considered 20% of 60kg body weight.

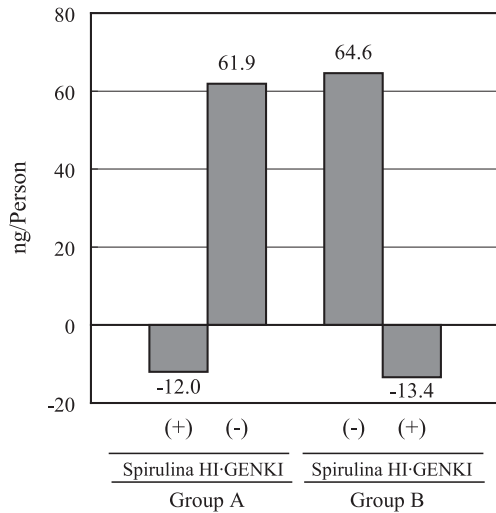


Fig. 2 Effects of the intake of Spirulina HI · GENKI for one year on the changes of body burden of 2,3,4,7,8-PenCDF in patients with Yusho

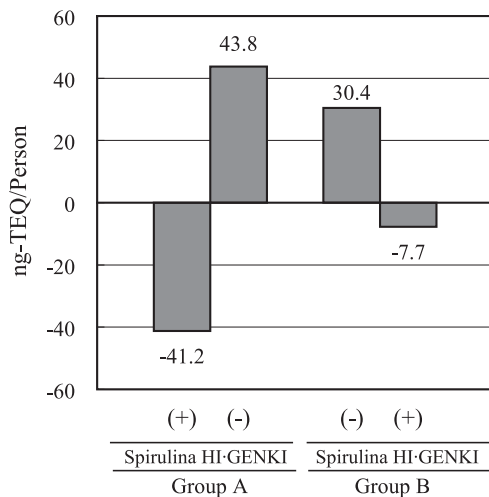


Fig. 3 Effects of the intake of Spirulina HI · GENKI for one year on the changes of body burden of PCDFs in patients with Yusho

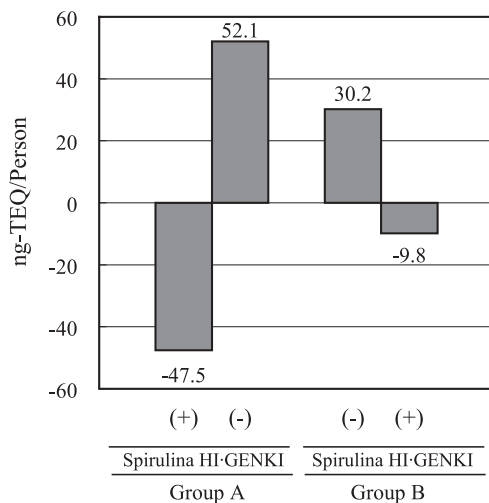


Fig. 4 Effects of the intake of Spirulina HI · GENKI for one year on the changes of body burden of PCDFs/DDs in patients with Yusho

キ (スピルリナ入) を摂取した1年ではAグループ, Bグループそれぞれ患者1人につき47.5 ng-TEQと9.8 ng-TEQ減少しているが, 摂取しない1年では52.1 ng-TEQと30.2 ng-TEQ増加している (Fig. 4). TEQ濃度の場合, Fig. 3からその大部分はPCDFsにおける体内負荷量の変化により説明できる.

動物実験では再吸収抑制実験の28日間にラットが摂取した葉緑素と食物繊維の量は体重を60 kgに換算すると, それぞれ3.6 g~1.2 kgと1.5 kg~56 kgとなる. ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) からの葉緑素と食物繊維の1年間の摂取量は1日に6袋食べた場合, 葉緑素が4.7 gで食物繊維が1.7 kgとなる. これらの摂取量は動物実験の最少摂取量よりも多く, 人でもPCDFsとPCDDsの吸収と再吸収の抑制とそれによる体外への排泄促進が認められる量と考えられる. そして, ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) の体外排泄促進は汚染レベルの高い患者でより有効と思われる.

これまで, 健常者^{18)~21)}と油症患者²²⁾²³⁾を対象として, ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) によるダイオキシン類の体外排泄促進について報告してきた. これらの研究は油症患者の場合を除き, いずれも脂質重量当りの濃度にもとづいた結果であった. しかし, “はじめに”の項でも指摘したように, この脂質重量当りの濃度については検体からの脂質抽出に問題があり, 正確ではない^{24)~26)}. そのため油症患者を対象とした研究では全重量当りの濃度を用いたのであるが, 今回, 脂質重量当りと全重量当りの濃度にこれまで指摘してきたような脂質含有率による濃度の相違がないことがわかった. それでこの論文では脂質重量当りの濃度を用いたのである. その結果, ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) のPCDFs, PCDDsの体外排泄促進については前回の全重量当りの濃度での結果²²⁾²³⁾と今回の脂質重量当りの濃度での結果がほぼ同様の傾向を示した. これまでの健常者での結果^{18)~21)}も踏まえ, ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) にはPCDFs, PCDDsの体外排泄促進効果があると考えられる. また, まだ未発表であるが, ハイ・ゲンキ (スピルリナ入) にはPCBsとダイオキシン様PCBsの体外排泄促進効果についても明確な結果が得られている.

結 論

中毒事件発生から40年以上が経過した現在でも油症患者は種々様々な臨床症状と自覚症状により苦しめられている。対症療法ではなく、根本的にこれらの症状を軽減し、さらには治療するためには油症患者を汚染している原因物質であるPCDFsやPCDDsを積極的に体外へ排泄し、汚染レベルを改善・低下させることである。これまで食物繊維と葉緑素を比較的多量に含む健康補助食品ハイ・ゲンキ(スピルリナ入)を用いて、健常者や油症患者からのPCDFs・PCDDsの体外排泄促進効果を検討してきた。その結果、今回の研究でも明確な排泄促進効果が認められた。したがって、低カロリー・高栄養でもあるハイ・ゲンキ(スピルリナ入)は栄養上も極めて有用であるが、さらに油症患者の根本的治療のためにも効果があると考えられる。

参 考 文 献

- 1) Kuratsune M, Yoshimura T, Matsuzaka J and Yamaguchi A : Epidemiological study on Yusho, a poisoning caused by ingestion of rice oil contaminated with a commercial brand of polychlorinated biphenyls. *Environ. Health Perspect.* 1 : 119-128, 1972.
- 2) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and rice oil used by patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 66 : 593-599, 1975.
- 3) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in Kanechlors and "Yusho oil". *Bull. Environ. Contam. Toxicol. (U.S.)* 15 : 9-13, 1976.
- 4) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with "Yusho". *Food Cosmet. Toxicol.* 15 : 195-198, 1977.
- 5) Kashimoto T, Miyata H, Kunita S, Tung T-C, Hus S-T, Chang K-J, Tang S-Y et al. : Role of polychlorinated dibenzofurans in Yusho (PCB Poisoning). *Arch. Environ. Health* 36 : 321-326, 1981.
- 6) Masuda Y, Kuroki H, Haraguchi K and Nagayama J : PCB and PCDF congeners in the blood and tissues of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 53-58, 1985.
- 7) Miyata H, Fukushima S, Kashimoto T and Kunita N : PCBs, PCQs and PCDFs in tissues of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 67-72, 1985.
- 8) Kashimoto T, Miyata H, Fukushima S, Kunita N, Ohi G and Tung T-C : PCBs, PCQs and PCDFs in blood of Yusho and Yu-Cheng patients. *Environ. Health Perspect.* 59 : 73-78, 1985.
- 9) Kunita N, Hori S, Obana H, Otake T, Nishimura H, Kashimoto T and Ikegami N : Biological effect of PCBs, PCQs and PCDFs present in the oil causing Yusho and Yu-Cheng. *Environ. Health Perspect.* 59 : 79-84, 1985.
- 10) Kunita N, Kashimoto T, Miyata H, Fukushima S, Hori S and Obana H : Causal agents of Yusho. *Am. J. Ind. Med.* 5 : 45-58, 1984.
- 11) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Dioxin concentration in the blood of patients collected during medical check-up for Yusho in 2004-2005. *Fukuoka Acta Med.* 98 : 222-231, 2007.
- 12) 森田邦正, 松枝隆彦, 飯田隆雄 : ラットにおける Polychlorinated Dibenzop-dioxins の糞中排泄に対する食物繊維の効果. *衛生化学* 43 : 35-41, 1997.
- 13) 森田邦正, 松枝隆彦, 飯田隆雄 : ラットにおける Polychlorinated Dibenzop-dioxins の糞中排泄に対するクロレラ, スピルリナ及びクロロフィリンの効果. *衛生化学* 43 : 42-47, 1997.
- 14) Morita K, Matsueda T, Iida T and Hasegawa T : *Chlorella* accelerates dioxin excretion in rats. *J. Nutr.* 129 : 1731-1736, 1999.
- 15) Morita K, Ogata M and Hasegawa T : Chlorophyll derived from *Chlorella* inhibits dioxin absorption from the gastrointestinal tract and accelerates dioxin excretion in rats. *Environ Health Perspect.* 109 : 289-294, 2001.
- 16) Morita K and Tobiishi K : Increasing effect of nori on the fecal excretion of dioxin by rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66 : 2306-2313, 2002.
- 17) Morita K and Nakano T : Seaweed accelerates the excretion of dioxin stored in rats. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 910-917, 2002.
- 18) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H and Iwasaki T : Decrease in blood levels of dioxins after the one year intake of FBRA in Japanese. *Organohal. Comp.* 52 : 293-296, 2001.
- 19) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H and Iwasaki T : Decrease in blood levels and body burdens of highly toxic dioxin congeners after one year intake of FBRA in Japanese. *Organohal. Comp.* 55 : 327-330, 2002.
- 20) Nagayama J, Takasuga T, Tsuji H, Umehara M,

- Sada T and Iwasaki T : Active elimination of causative PCDFs/DDs congeners of Yusho by one year intake of FBRA in Japanese people. *Fukuoka Acta Med.* 94 : 118-125, 2003.
- 21) 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.
- 22) Nagayama J, Hirakawa H, Kajiwara J, Iida T, Todaka T, Uenotsuchi T, Shibata S, Tsuji H and Iwasaki T : Excretion of causative PCDFs congeners of Yusho by one year intake of FBRA in patients with Yusho. *Fukuoka Acta Med.* 98 : 215-221, 2007.
- 23) Nagayama J, Hirakawa H, Kajiwara J, Todaka T, Shibata S, Tsuji H and Iwasaki T : Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans by FBRA in patients with Yusho. *Organohal. Comp.* 70 : 1574-1577, 2008.
- 24) Nagayama J, Kohno H, Kunisue T, Shimomura H and Tanabe S : Effects of prenatal exposure to dioxins, PCBs and organochlorine pesticides on induction of congenital hypothyroidism with special reference to lipid contents. *Organohal. Comp.* 68 : 277-280, 2006.
- 25) Nagayama J, Matsueda T, Hirakawa H, Kunisue T, Tanabe S, Tsuji H, Kohno H, Shimomura H and Yanagawa T : Effects of lipid extraction from breast milk on risk assessment of dioxins and other POPs in Japanese infants. *Organohal. Comp.* 69 : 512-515, 2007.
- 26) Nagayama J, Nakagawa R, Matsueda T, Hirakawa H, Tsuji H, Yanagawa T, Fukushige J and Watanabe T : Different effects in the concentrations of dioxins, PCBs and organochlorine pesticides on whole and lipid weight bases on immune response and thyroid hormone systems in Japanese infants. In Morita M (ed) : *Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia.* pp. 381-386, 2008.
- 27) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol for dioxin analysis of human blood. *Fukuoka Acta Med.* 94 : 148-157, 2003.
- 28) Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood: Improvement of analytical method. *Ind. Health* 41 : 197-204, 2003.
- 29) 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.
- 30) Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld ATC et al. : Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Perspect.* 106 : 725-792, 1998.
- 31) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T : Follow-up survey of dioxins concentration in the blood of Yusho patients in 2002-2003. *Fukuoka Acta Med.* 96 : 249-258, 2005.

(Received for publication March 12, 2009)

2,2',5,5'-四塩素化ビフェニル (CB52) の ウサギ肝ミクロゾームによる代謝

¹⁾中村学園大学栄養科学部 食品衛生学研究室

²⁾第一薬科大学 健康化学教室

³⁾徳島文理大学香川薬学部 薬物動態学講座

⁴⁾北海道医療大学薬学部 衛生薬学講座

太田 千穂¹⁾, 原口 浩一²⁾, 加藤 善久³⁾,
遠藤 哲也⁴⁾, 古賀 信幸¹⁾

Metabolism of 2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl (CB52) by Rabbit Liver Microsomes

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

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

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

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

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

Abstract Our preceding studies have reported that 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl (tetraCB)(CB52) is mainly metabolized to 3-hydroxy (OH)-metabolite by phenobarbital (PB)-inducible cytochrome P450 (P450) isoforms such as CYP2B1 and CYP2B18. In this study, the metabolism of CB52 by liver microsomes of untreated and PB-treated rabbits was investigated. Rabbit liver microsomes produced mainly 3-OH- and 4-OH-metabolites (M-1 and M-2) at an equal extent and two other metabolites (M-3 and M-4) and also that phenobarbital (PB) treatment accelerated the formation of all these metabolites. M-3 was assumed to OH-tetraCB by GC-MS. Another metabolite, M-4, was determined to 3,4-diOH-CB52 by GC-MS and ¹H-NMR. Addition of antiserum against CYP2B4, a constitutive and PB-inducible rabbit P450 isoform, to a microsomal incubation system resulted in almost complete inhibition of the formation of 3-OH-, 4-OH- and 3,4-diOH-metabolites. These results suggest that CYP2B4 plays an important role in CB52 metabolism in rabbit liver.

はじめに

PCB はカネミ油症の原因物質である²¹⁾とともに世界的な環境汚染物質としても有名である。PCB は脂溶性が高いため、経口摂取後、極めて高い効率で小腸から吸収される。PCB のうち、置換塩素数が4個以下の PCB は、肝小胞体に局在するチトクロム P450 (P450) によって容易に代謝され、代謝物として主に胆汁を介して糞中に

排泄されるが、塩素数が5個以上になると代謝されにくくなり、肝、脂肪組織および血液中に残留することになる³³⁾。PCB 代謝物の主なものは、一水酸化 (OH) 体であるが、2次代謝物として、二水酸化 (diOH) 体、メチルスルホン (MeSO₂) 体および親 PCB から塩素が1個脱離した OH 体などが見つかっている²⁰⁾。また、これらの代謝物の生成には、3つの P450 サブファミリーに属する P450 (CYP1A, CYP2A および CYP2B) が関

与することが明らかになっている^{1)12)13)16)~18)}。このうち、CYP1A および CYP2A は PCB 異性体のうち主に 3, 4, 5 位に塩素置換されたものを、一方、CYP2B に属する P450 は 2, 5 位に塩素置換されたものをよく代謝し、OH 体を生成する。

2, 2', 5, 5'-四塩素化ビフェニル (tetraCB) (CB52) は、カネミ油症原因油であるカネクロール 400 の主成分の一つ²⁵⁾で、フェノバルビタール (PB) 型の肝酵素誘導能を有する PCB 異性体の原型³⁶⁾²⁹⁾といえるものである。当研究室では、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 CB52 の代謝を調べた結果、いずれの動物でも 3-OH 体が主代謝物であること、また、この生成は PB 前処理で顕著に増加することを明らかにした¹⁹⁾。さらに、CB52 代謝に関与する P450 分子種についても検討を加え、ラット CYP2B1¹²⁾、ラット CYP2B2¹²⁾、モルモット CYP2B18¹⁶⁾ およびハムスター P450HPB-1¹⁸⁾ が 3-水酸化反応を、また、ハムスター CYP2A8¹⁷⁾ が 4-水酸化反応をそれぞれ触媒することを明らかにした。

一方、Gardner らは、CB52 を投与したウサギ尿中から 3-OH 体に加え、4-OH 体および trans-3,4-dihydro-3,4-dihydroxy 体を検出している⁵⁾。この報告は、PCB 代謝において中間体として 3,4-epoxide 体の存在を示唆した最初の報告である。また、この事実は、ウサギが他の実験動物と異なる PCB 代謝酵素系を有することを示唆している。そこで、本研究ではウサギ肝 Ms による CB52 の代謝を調べるとともに、代謝に関与する P450 分子種を明らかにすることを目的とした。

実験方法

1. 実験材料

(1) CB52 および代謝物

CB52 および 4-OH-CB52 は既報¹¹⁾¹⁷⁾¹⁹⁾に従い、合成した。3-OH-CB52 は CB52 (200 mg/kg) をラット腹腔内に 1 回投与し、得られた糞より精製した⁸⁾。

(2) 動物の薬物処理および肝 Ms の調製

7 匹の雄性日本白色種ウサギ (体重 3.0~4.5 kg) を用いた。このうち 4 匹を未処理群、3 匹を PB 処理群に分け、PB 処理群には飲料水として

0.1% (w/v) PB 水溶液を 6 日間自由に摂取させた。pentobarbital による麻酔下、ウサギ肝を摘出し、常法により肝 Ms を調製した³⁶⁾。なお、動物の取り扱いは、「中村学園大学における実験動物のための指針」を遵守し、行った。

(3) ウサギ肝 P450 (CYP2B4) 抗血清の調製

まず、PB 前処理ウサギ肝 Ms より、1 種類の P450 (CYP2B4) を既報¹⁸⁾¹⁶⁾に準じて精製した。すなわち、PB 前処理ウサギ肝 (110 g 湿重量) から肝 Ms を調製し、これをコール酸で可溶性化後、 ω -aminooctyl-Sepharose 4B カラム, hydroxyapatite, DEAE-Biogel A agarose, CM-Sephadex C-50 の各カラムを用いて精製し、1 種類の P450 分子種を得た。この精製標品は比含量 10.3 nmol/mg protein, 収量 1.6% であった。さらに N-末端アミノ酸 20 個の配列を調べたところ、既報²⁾の CYP2B4 と一致した。以下、抗血清を得るために、精製した CYP2B4 を Ribi adjuvant (RIBI ImmunoChem Research Inc., USA) に懸濁し、3 匹のモルモット背中皮下に注射した。5 週間後、モルモットの頸動脈より全血を採取し、血清分離剤 (栄研製) により、抗血清を得た^{16)~18)}。

2. ウサギ肝 Ms による代謝

ウサギ肝 Ms による CB52 の代謝は既報¹⁹⁾に準じて行った。すなわち、40 μ M CB52 あるいはその OH 代謝物 (3-OH あるいは 4-OH 体) を NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM glucose-6-phosphate (G-6-P), G-6-P 脱水素酵素 1 unit), 6 mM MgCl₂, 牛血清アルブミン (0.8 mg/ml) およびウサギ肝 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 20 分間インキュベート後、代謝物を chloroform-methanol (2:1) 1 ml および n-hexane 4 ml で 3 回ずつ抽出した。抽出液は濃縮乾固し、N,O-bis-(trimethylsilyl)acetamide によるトリメチルシリル (TMS) 化あるいは di-azomethane によるメチル化後、電子捕獲型検出器付ガスクロマトグラフィー (GC-ECD), あるいは質量分析計付 GC (GC-MS) に付した。代謝物の定量は、M-3 を除き、それぞれ CB52 代謝物の検量線を用いて GC-ECD により行った。GC-ECD の条件は次の通りである。分析機器、

ECD 付 HP5890 Series II ガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard 製) ; カラム, DB-1 fused silica キャピラリーカラム (15 m × 0.25 mm i.d., 0.33 μm 膜厚, J&W Scientific 製) ; オープン温度, 200°C ; 注入口温度, 250°C ; 検出器温度, 250°C ; キャリアーガス, N₂ (1 ml/min).

一方, 代謝物の分子量は, 質量分析器付 HP5890 Series II ガスクロマトグラフ (Hewlett-Packard 製) を用いて, EI モードで測定した. GC-MS 分析条件は次の通りである. カラム, DB-1 fused silica キャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d., 0.33 μm 膜厚, J&W Scientific 製) ; オープン温度, 210°C ; 注入口温度, 250°C ; 検出器温度, 280°C ; キャリアーガス, He (1 ml/min).

3. 3,4-diOH-CB52 の分離精製

500 ml の大容量の反応液, すなわち, 40 μM 3-OH-CB52 を基質として用い, 前述のように, 牛血清アルブミン (0.8 mg/ml), NADPH 生成系, 6 mM MgCl₂, PB 前処理ウサギ肝 Ms (500 mg protein) とともに 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) で, 37°C, 1 時間インキュベーションを行った. その後, 100 ml の chloroform-methanol (2 : 1) と 400 ml の n-hexane を加えて 2 回抽出し, さらに diazomethane でメチル化後, HPLC により M-4 を分離精製した. HPLC 条件は次の通りである. カラム, ODS カラム (20 mm i.d. × 250 mm, YMC 製) ; プレカラム, ODS プレカラム (20 mm i.d. × 50 mm, YMC 製) ; 流速, 5 ml/min ; 溶離液, methanol-H₂O (9 : 1). M-4 のメチル誘導体は保持時間 25.9 min に溶出され, 最終的に, 収量は 1.5 mg であった. M-4 のメチル誘導体の化学構造は GC-MS および ¹H-NMR により, 3,4-dimethoxy (diMeO)-CB52 であると決定された.

MS spectrum ; m/z (relative abundance, %) : 354 (60, M⁺+4), 352 (100, M⁺+2), 350 (80, M⁺), 335 (45, M⁺-15), 307 (30, M⁺-43), 292 (30, M⁺-58), 272 (36, M⁺-78).

¹H-NMR δ (ppm) : 3.954 (3H, s, 3 or 4-MeO), 3.983 (3H, s, 4 or 3-MeO), 7.255 (1H, s, 6-H), 7.430 (1H, d, J=2.52Hz, 6'-H), 7.523 (1H, dd, J=2.52Hz, 8.57Hz, 4'-H), 7.593 (1H,

d, J=8.57Hz, 3'-H).

4. 抗 CYP2B4 抗血清の添加による代謝阻害

モルモットで調製した抗 CYP2B4 抗血清を 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) 中でウサギ肝 Ms とともに, 30°C で 30 分間インキュベート後, CB52 および NADPH 生成系を添加して反応をスタートし, さらに 37°C で 20 分間インキュベートした. 反応液は, 上記と同様に有機溶媒で抽出し, GC-ECD に付した.

5. その他

ウサギ肝 Ms のタンパク質の定量は, Lowry 法²³⁾を用いて行った. なお, 標準タンパク質として牛血清アルブミンを用いた. P450 含量は Omura と Sato²⁸⁾の方法により測定した. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動は Laemmli²²⁾の方法により, また, ウェスタンブロットは Guengerich 法⁷⁾の方法により行った. ウサギ肝 Ms 中 CYP2B4 タンパクの免疫染色は Konica immunostaining キット (生化学工業) を用いて行った. N-末端アミノ酸の測定は, Model 473A gas phase sequencer (Applied Biosystems, USA) を用いてエドマン分解法により行った¹⁸⁾.

¹H-NMR スペクトルの測定は, 500 MHz JEOL GSX-500 spectrometer (日本電子製) により行った. 試料は acetone-d₆ に溶解し, また, 内部標準物質として tetramethylsilane を用いた.

実験結果

1. ウサギ肝 Ms による CB52 の代謝

Fig. 1 には, ウサギ肝 Ms により生成された CB52 代謝物の TMS 誘導体のガスクロマトグラムを示す. 代謝物と思われる 4 種類のピーク (M-1, M-2, M-3 および M-4) が, それぞれ保持時間 6.75 分, 7.07 分, 7.37 分および 12.77 分に観察された. 標品の保持時間との比較から, M-1 および M-2 は, これまでに報告している 3-OH-CB52 および 4-OH-CB52 の TMS 誘導体であることが明らかとなった¹⁹⁾. なお, 両 OH 体以外に, 新たに 2 つの代謝物ピーク (M-3 および M-4) が観察された. M-3 の TMS 誘導体は, M-2 のすぐ後ろに検出されたのに対し, M-4 の

TMS 誘導体は保持時間が、他 3 者よりずっと長かった。

次に、M-1 と M-2 につき、それぞれ標品の TMS 誘導体の検量線から定量を試み、既報の実験動物の結果と比較した。Table 1 に示すように、未処理ウサギ肝 Ms により、M-1 と M-2 が 1.1 : 1 でほぼ同程度生成された。未処理ウサギ肝 Ms での代謝パターンおよび代謝活性の強さは、ハムスターとよく似ていた。

一方、PB 前処理ウサギ肝 Ms では、M-1 の生

成が未処理ウサギ肝 Ms の 2.4 倍に、また、M-2 の生成も未処理ウサギ肝の 2.4 倍に増加した。このような PB 前処理による M-1 (3-OH 体) の顕著な増加はラット、ハムスターおよびモルモットのいずれとも共通していたが、M-2 (4-OH 体) の増加に関しては、ハムスターと類似していた。

さらに、M-1 と M-2 の生成量の相関関係を調べた。その結果、Fig. 2 のように、両代謝物の生成量は非常によく相関しており、相関係数は 0.889 で有意であった。この結果から、3-OH 体および 4-OH 体は同一の P450 分子種によって生

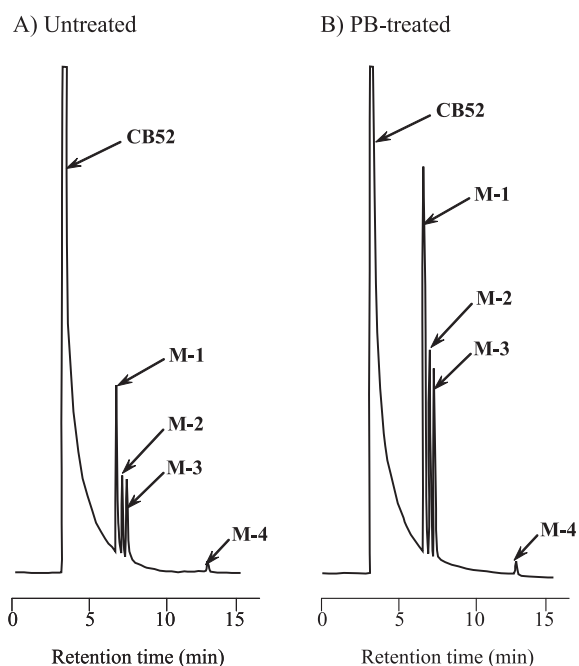


Fig. 1 Gas chromatograms of the trimethylsilylated derivatives of CB52 metabolites formed by liver microsomes of untreated (A) and PB-treated (B) rabbits.

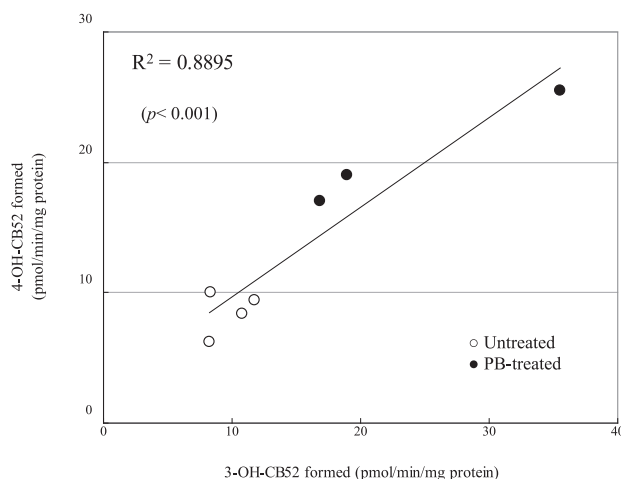


Fig. 2 Correlation of 3-OH- and 4-OH-CB52 formed by liver microsomes of untreated and PB-treated rabbits.

Table 1 Metabolism of CB52 by liver microsomes of untreated and PB-treated rabbits, rats, hamsters and guinea pigs

Animal	Treatment	No.	Metabolite formed (pmol/min/mg protein)	
			3-OH	4-OH
Rabbit	None	4	9.8 ± 1.7(100)	8.5 ± 1.7(100)
	PB	3	23.8 ± 10.2(243)	20.5 ± 4.4(241)
Rat ¹⁹⁾	None	4	N.D.	N.D.
	PB	4	324.0 ± 15.4	N.D.
Hamster ¹⁹⁾	None	4	6.3 ± 0.5(100)	5.6 ± 0.3(100)
	PB	4	20.1 ± 0.2(319)	11.1 ± 0.3(198)
Guinea pig ¹⁹⁾	None	4	8.4 ± 0.9(100)	N.D.
	PB	4	19.3 ± 2.2(230)	1.1 ± 0.1

N.D., not detected.

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

Data in rats, hamsters and guinea pigs were cited from the reference (19).

成されていることが示唆された。

2. CB52 代謝物生成の経時的变化

M-1 および M-2 とともに生成された M-3 と M-4 が代謝物であるかどうかを確かめるために、インキュベーション時間を 60 分間まで延ばして、これらの代謝物の経時的な増減を調べた。Fig. 3 に示すように、インキュベーション時間 10 分後までは M-1, M-2 および M-3 は、いずれもほぼ直線的に増加したが、M-1 については 30 分後から、わずかに減少が見られた。一方、M-4 は 10 分の遅れで増加し始め、その後 60 分間わずかずつであるが増加した。これらの結果から、M-3 と M-4 はいずれも CB52 代謝物であることが示唆された。

3. M-3 と M-4 の化学構造

M-3 および M-4 の分子量を調べるため、これらを diazomethane でメチル化後、GC-MS にかかった。その結果、M-3 のメチル誘導体は分子量 320 で、塩素 4 個を含む同位体ピークが観察されたことから、methoxy (MeO)-tetraCB であることが判明した (データ未掲載)。一方、M-4 のメ

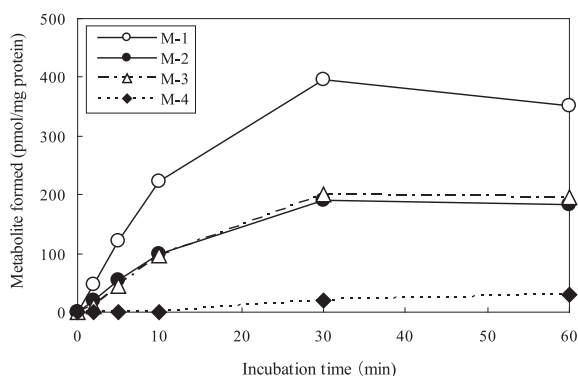


Fig. 3 Time course of CB52 metabolism by liver microsomes of PB-treated rabbits.

チル誘導体は、分子量 350 であり、同様に塩素 4 個を含む同位体ピークが観察されたことから、diMeO-tetraCB であることが明らかになった (実験方法 3. 参照)。

次に、M-4 の $^1\text{H-NMR}$ を測定するため、3-OH-CB52 を基質として 500 ml の反応液を用いてインキュベーションを行った。M-4 を有機溶媒で抽出後、HPLC で分離精製した。このメチル誘導体につき $^1\text{H-NMR}$ を測定した結果、実験方法 3. に示すように、3-MeO および 4-MeO 基に由来する 2 本の singlet と 6 位プロトン由来の singlet が、それぞれ 3.95 ppm, 3.98 ppm および 7.26 ppm に検出された。また、2,5-二塩素置換された芳香環の 3 つのプロトンに由来するシグナルが、7.43 ppm (doublet), 7.52 ppm (doublet) および 7.59 ppm (singlet) に検出された。以上の結果から、最終的に、M-4 は 3,4-diOH-CB52 であることが明らかとなった。

4. ウサギ CYP2B4 の精製

PB 前処理ウサギ肝 Ms より、P450 分子種の精製を試みた。最終的に、比含量 10.3 nmol/mg protein で、見かけの分子量 50,000 の P450 分子

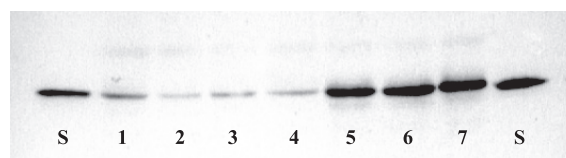


Fig. 4 Immunoblot of rabbit liver microsomes with anti-serum against CYP2B4. Lanes S contain purified rabbit CYP2B4 (1 µg protein). Lanes 1-4 and 5-7 contain liver microsomes (10 µg protein each) from four untreated and three PB-treated rabbits, respectively.

Table 2 N-Terminal amino acid sequence of a rabbit P450 purified in this study

P450	Animal	1	Amino acid residue				20
			5	10	15		
This study	(rabbit)	MEFS	LLLLL	AFLAG	LLLLL	F	
CYP2B4 ²⁾	(rabbit)	MEFS	LLLLL	AFLAG	LLLLL	F	
CYP2B1 ³⁷⁾	(rat)	MEPS	I LLLL	ALLVG	FLLLL	V	
P450HPB-1 ¹⁸⁾	(hamster)	MEPS	TLLLL	TLLLS	FLVLL	V	
CYP2B18 ²⁶⁾	(guinea pig)	MELS	LLLFL	ALLLG	LLLLL	F	

The abbreviations used are as follows: M, methionine; E, glutamic acid; F, phenylalanine; P, proline; S, serine; L, leucine; I, isoleucine; A, alanine; G, glycine; T, threonine; V, valine

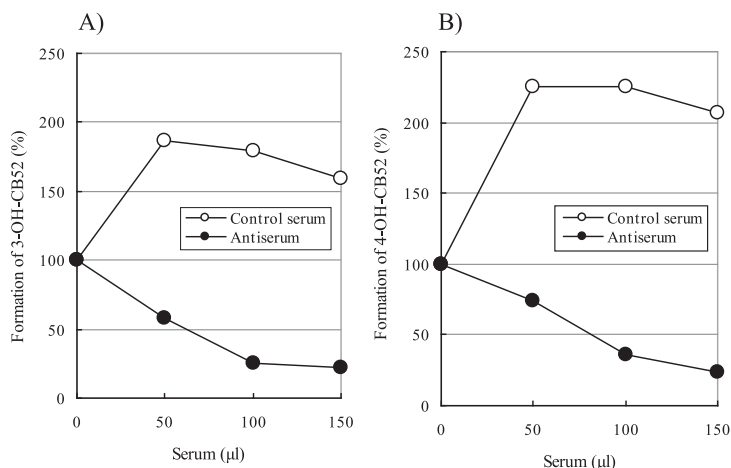


Fig. 5 Effect of antiserum against CYP2B4 on the formation of 3-OH- and 4-OH-metabolites from CB52 with liver microsomes of PB-treated rabbits. Open and closed circles indicated control serum and antiserum raised against CYP2B4, respectively. Each point represents the mean of duplicate determinations.

種 1 種類を得ることができた。本 P450 の N-末端アミノ酸 20 個を調べたところ、Table 2 に示すように、これまでに報告された PB 誘導性 P450 のうち、CYP2B4²⁾ と完全に一致したことから、以下、本 P450 を CYP2B4 とした。

本 P450 に対する抗血清をモルモットで作製後、これを用いて未処理および PB 前処理ウサギ肝 Ms 中の CYP2B4 の検出を試みた。ウサギ肝 Ms を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動およびウェスタンプロット後、免疫染色したところ、Fig. 4 に示すように、未処理ウサギにおいて、CYP2B4 タンパクと分子量が一致するタンパクバンドが 1 本検出された。また、PB 前処理ウサギでは同じタンパクバンドが著しく増加していた。これらの事実から、これまでの報告のように、CYP2B4 が常在型であり、かつ PB 誘導性であることが確認された。さらに、PB 前処理による CYP2B4 タンパクの増加が、Table 1 に示した M-1 (3-OH 体) および M-2 (4-OH 体) の生成活性の増加とよく相関していることから、両代謝物の生成に CYP2B4 が関与していることが示唆された。

5. 抗 CYP2B4 抗血清添加による CB52 代謝阻害

CB52 代謝における CYP2B4 の関与の程度を明らかにするため、抗 CYP2B4 抗血清を用いて代謝阻害を試みた。その結果、Fig. 5 に示すように、PB 前処理 Ms による M-1 (3-OH 体) および M-2 (4-OH 体) の生成は抗血清 150 µl の添加で、

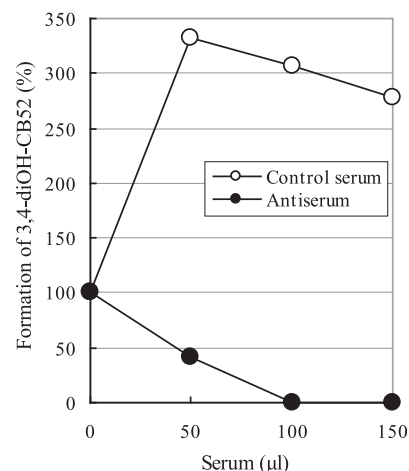


Fig. 6 Effect of antiserum against CYP2B4 on the formation of 3,4-diOH-CB52 from 3-OH-CB52 with liver microsomes of PB-treated rabbits. Open and closed circles indicated control serum and antiserum raised against CYP2B4, respectively. Each point represents the mean of duplicate determinations.

いずれも約 90% が阻害された。また、M-3 と M-4 の生成も、定量的ではないものの、本抗血清の添加により強く阻害された (データ未掲載)。

次に、3-OH-CB52 から 3,4-diOH-CB52 への 2 次代謝に及ぼす抗 CYP2B4 抗血清の添加効果を調べた。基質として 3-OH 体を用い、PB 前処理 Ms による代謝を調べた。その結果、Fig. 6 に示すように、抗血清 100 µl の添加により、3,4-diOH 体の生成は完全に阻害された。この結果から、CYP2B4 が 3-OH 体から 3,4-diOH 体への酸化反応にも、大きく関与していることが示唆された。

考 察

ウサギ肝 Ms による CB52 の代謝を調べたところ、ウサギ肝は、他の動物とかなり異なる代謝パターンを有することが明らかとなった。すなわち、代謝物として 3 種類の OH 体と 3,4-diOH 体が生成されたが、主代謝物の 3-OH 体と 4-OH 体の生成比はいずれの群でもほぼ 1 : 1 であった。これまでに、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る経路 (直接水酸化) で、Preston らは、ラットにおける CB52 の 3-水酸化反応が、PB 誘導性 P450 による直接水酸化で進行していることを示した³⁰⁾³¹⁾。もう 1 つは、代謝中

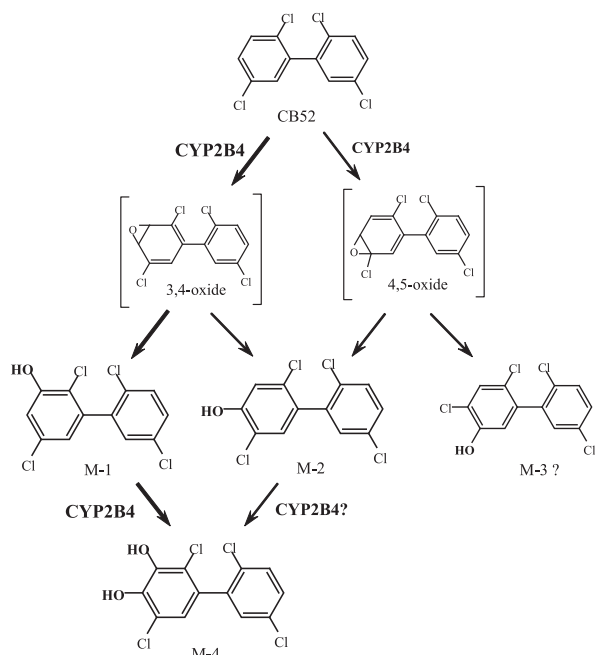


Fig. 7 Postulated metabolic pathways of CB52 in rabbit liver.

間体の3,4-あるいは4,5-epoxide体を経由し、さらに塩素原子のNIH転位を伴って進行する経路で、MC誘導性P450が主に関与している。コプラナーPCBの3,3',4,4'-tetraCB (CB77)³⁵や3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (CB126)¹⁵などの4-水酸化反応がこの経路で進行しているといわれている。一方、Forgueら³⁾⁴⁾はCB52の3,4-epoxide体の単離に成功し、さらにこれが開裂すると、3-OH体および4-OH体へと変換することを報告した。今回のウサギの場合、どの経路であるか明確ではないが、3-OH体と4-OH体がほぼ同程度生成される事実から、代謝中間体として3,4-epoxide体を経由していると考えられる。また、CB52と関連した2,5-二塩素置換ベンゼンを有するPCB代謝物を調べると、ほ乳動物組織中で必ず3-MeSO₂体と4-MeSO₂体の両方が検出されている¹⁴⁾¹⁰⁾。これらのことから、ウサギ肝におけるCB52代謝は、中間体として3,4-epoxide体を経由していると思われる。Fig. 7にウサギ肝におけるCB52の推定代謝経路を示す。

今回、3-OH体および4-OH体以外に、もう1つ別のOH体(M-3)が生成された。現在のところ、分子量以外は不明であるが、GCの保持時間が3-OH体と4-OH体より長いことから、5位の塩素原子が4位に転位した代謝物かもしれない。そうであれば、M-3は5-OH-2,2',4,5'-tetraCB

であると考えられるが、この点は今後の課題である。

CYP2B4抗血清を用いた代謝阻害実験により、CYP2B4が3-OH体、4-OH体、3,4-diOH体およびM-3の生成すべてに関与することが明らかとなった。当研究室の一連の研究では、CYP2Bサブファミリーに属する、ラットCYP2B1¹²⁾およびCYP2B2¹²⁾、モルモットCYP2B18¹⁶⁾およびハムスターP450HPB-1¹⁸⁾は3-水酸化反応のみを触媒した。一方、4-水酸化反応を触媒するのはハムスターCYP2A8¹⁷⁾だけであったが、最近、McGrawとWallerにより、2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101)の4'-水酸化酵素として、ヒトCYP2A6が報告された²⁴⁾。これらの事実は、CYP2B4が他の動物P450酵素と異なる水酸化機構を有すること、さらにウサギ肝においてCYP2B4が最も重要なCB52代謝酵素であることを示している。

最近、我々はCB101の3'-あるいは4'-OH体から3',4'-diOH体への代謝をラット、ハムスターおよびモルモット肝Msを用いて調べ、その結果、親CB101から3'-あるいは4'-OH体を経由して最終的に3',4'-diOH体が生成されることを明らかにした²⁷⁾。このことは、親PCBからdiOH体への代謝過程で、3位および4位へ2度連続して直接水酸化が起こることを示唆している。本研究でも3-OH-CB52を用いて3,4-diOH体への代謝を調べたところ、比較的容易に3,4-diOH体が生成され、さらにCYP2B4が大きく関与していた(Fig. 6)。これらを考え合わせると、CYP2B4の場合には、3,4-epoxide体を経由する経路と直接水酸化の両方の経路で3,4-diOH体を生成しているかもしれない。

CB52の毒性は、CB77、CB126および3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB168)などのコプラナーPCBに比べはるかに弱い³⁶⁾。そのため、毒性等価係数は設定されていない。しかしながら、代謝的に毒性が増強される例がいくつか報告されている。Stadnickiらは培養細胞の増殖に及ぼす影響を調べ、CB52の3,4-epoxide体がCB52より強い阻害活性を示した³⁴⁾。また、Haraguchiらはラットにおいて4-メチルチオ(MeS)-CB52が親CB52に比べ体重増加をより強く抑制したり、肝薬物代謝酵素をより強く誘導することを報告した⁹⁾。さらに最近では、PCBのdiOH体が女性ホ

ルモン様作用⁶⁾を示したり、細胞毒性³²⁾を有することが報告されている。今後は、CB52 代謝物の 3,4-diOH 体の毒性評価も重要な研究課題の 1 つとなろう。

総 括

1. ウサギ肝 Ms による CB52 の代謝を調べた結果、これまでに報告されたラット、モルモットおよびハムスターと異なり、3-OH 体と 4-OH がほぼ同程度で生成された。これらの生成は PB 前処理により、いずれも未処理の 2.4 倍に増加した。なお、これら以外に 2 つの代謝物が生成され、1 つは OH-tetraCB であること、もう 1 つは 3,4-diOH-CB52 であることが明らかになった。
2. モルモットから調製された CYP2B4 抗血清を用いてウサギ肝 Ms を免疫染色したところ、CYP2B4 は常在型であり、PB 誘導性であることが確認された。PB 前処理による CYP2B4 タンパクの増加は、主代謝物の 3-OH 体および 4-OH 体の増加とよく一致していた。
3. CYP2B4 抗血清を用いて、CB52 の代謝阻害を試みたところ、3-OH 体と 4-OH 体の生成は抗血清 100 μ l の添加で、いずれも 90% 前後が強く阻害された。また、3-OH-CB52 から 3,4-diOH 体への代謝に及ぼす添加効果を調べたところ、抗血清 100 μ l の添加で、3,4-diOH 体の生成は完全に阻害された。
4. 以上の結果から、ウサギ肝 CYP2B4 は、CB52 代謝のすべての経路で大きく関与していることが示唆された。

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）および日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究(B), No. 20404006 原口浩一；基盤研究(C), No. 20510070 加藤善久）に一部負うものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 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.

- 2) Black SD, Tarr GE and Coon MJ : Structural features of isozyme 2 of liver microsomal cytochrome P-450. Identification of a highly conserved cysteine-containing peptide. *J. Biol. Chem.* 257 : 14616-14619, 1982.
- 3) Fargue ST and Allen JR : Identification of an arene oxide metabolite of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl by gas chromatography-mass spectroscopy. *Chem.-Biol. Interact.* 40 : 233-245, 1982.
- 4) Fargue ST, Preston BD, Hargraves WA, Reich IL and Allen JR : Direct evidence that an arene oxide is a metabolic intermediate of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 91 : 475-483, 1979.
- 5) Gardner AM, Chen JT, Roach JA and Ragelis EP : Polychlorinated biphenyls : Hydroxylated urinary metabolites of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl identified in rabbits. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 55 : 1377-1384, 1973.
- 6) 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.
- 7) Guengerich FP, Wang P and Davidson NK : Estimation of isozymes of microsomal cytochrome P-450 in rats, rabbits, and humans using immunochemical staining coupled with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Biochemistry* 21 : 1698-1706, 1982.
- 8) 埴岡伸光, 佐伯和枝エレナ, 石田忠三, 古賀信幸, 吉村英敏 : 2,5,2',5'-Tetrachlorobiphenyl とその主代謝物 3-hydroxy-2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl のラットに対する毒性評価. *福岡医誌* 82 : 191-196, 1991.
- 9) Haraguchi K, Kuroki H, Masuda Y, Koga N, Kuroki J, Hokama Y and Yoshimura H : Toxicological evaluation of sulfur-containing metabolites of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl in rats. *Chemosphere* 14 : 1755-1762, 1985.
- 10) 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.
- 11) Hutzinger O, Safe S and Zitko V : Polychlorinated biphenyls : Synthesis of some individual chlorobiphenyls. *Bull. Environ. Contamin. Tox.*

- icol. 6 : 209-219, 1971.
- 12) Ishida C, Koga N, Hanioka H, 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.
 - 13) Kaminsky LS, Kennedy MW, Adams SM and Guengerich FP : Metabolism of dichlorobiphenyls by highly purified isozymes of rat liver cytochrome P-450. *Biochemistry*, 20 : 7379-7384, 1981.
 - 14) 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.
 - 15) Koga N, Beppu M and Yoshimura H: Metabolism in vivo of 3,4,5,3',4'-pentachlorobiphenyl and toxicological assessment of the metabolite in rats. *J. Pharmacobio-Dyn.* 13 : 497-506, 1990.
 - 16) 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. Contamin. Toxicol.* 60 : 898-903, 1998.
 - 17) 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.
 - 18) 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.* 312 : 464-470, 1995.
 - 19) Koga N, Kikuichi-Nishimura N and Yoshimura H : Effect of cytochrome P450 inducers on liver microsomal metabolism of tetrachlorobiphenyls in rats, guinea pigs and hamsters. *Biol. Pharm. Bull.* 18 : 705-710, 1995.
 - 20) 古賀信幸, 吉村英敏 : PCB と関連化学物質の代謝並びに代謝物の毒性. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編 : 油症研究—30年の歩み—, pp93-110, 九州大学出版会 福岡, 2000.
 - 21) 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.
 - 22) Laemmli UK : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685, 1971.
 - 23) Lowry OH, Rosebrough AL, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275, 1951.
 - 24) McGraw JE Sr and Waller DP : Specific human CYP450 isoform metabolism of a pentachlorobiphenyl (PCB-IUPAC#101). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344 : 129-133, 2006.
 - 25) 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.
 - 26) Oguri K, Kaneko H, Tanimoto Y, Yamada H and Yoshimura H : A constitutive form of guinea pig liver cytochrome P450 closely related to phenobarbital inducible P450b (e). *Arch. Biochem. Biophys.* 287 : 105-111, 1991.
 - 27) 太田千穂, 忝岡樹子, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸 : 2,2',4,5,5'-五塩素化ジフェニル (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. *福岡医誌* 96 : 232-240, 2005.
 - 28) Omura T and Sato R : The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* 239 : 2370-2378, 1964.
 - 29) Parkinson A, Safe SH, Robertson LW, Thomas PE, Ryan DE, Reik LM and Levin W : Immunochemical quantitation of cytochrome P-450 isozymes and epoxide hydrolase in liver microsomes from polychlorinated or polybrominated biphenyl-treated rats. A study of structure-activity relationships. *J. Biol. Chem.* 258 : 5967-5976, 1983.
 - 30) Preston BD and Allen JR : 2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl : Isolation and identification of metabolites generated by rat liver microsomes. *Drug Metab. Dispos.* 8 : 197-204, 1980.
 - 31) Preston BD, Miller JA and Miller EC : Non-arene oxide aromatic ring hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl as the major metabolic pathway catalyzed by phenobarbital-induced rat liver microsomes. *J. Biol. Chem.* 258 : 8304-8311, 1983.
 - 32) Sadeghi-Aliabadi H, Chan K, Lehmler HJ, Robertson LW and O'Brien PJ : Molecular cytotoxic mechanisms of catecholic polychlorinated biphenyl metabolites in isolated rat hepatocytes. *Chem.-Biol. Interact.* 167 : 184-192, 2007.
 - 33) Safe S : Polyhalogenated aromatics : uptake,

- disposition and metabolism. In Kimbrough RD and Jensen AA (ed) : Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products. pp. 131-159, Elsevier Science Publishers Amsterdam, 1989.
- 34) Stadnicki SS and Allen JR : Toxicity of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl and its metabolites, 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl-3,4-oxide and 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl-4-ol to cultured cells in vitro. Bull. Environ. Contami. Toxicol. 23 : 788-796, 1979.
- 35) Yoshimura H, Yonemoto Y, Yamada H, Koga N, Oguri K and Saeki S : Metabolism in vivo of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl and toxicological assessment of the metabolites in rats. Xenobiotica 17 : 897-910, 1987.
- 36) Yoshimura H, Yoshihara S, Ozawa N and Miki M : Possible correlation between induction modes of hepatic enzymes by PCBs and their toxicity in rats. Ann. N. Y. Acad. Sci. 320 : 179-192, 1979.
- 37) Yuan PM, Ryan DE, Levin W and Shively JE : Identification and localization of amino acid substitutions between two phenobarbital-inducible rat hepatic microsomal cytochromes P-450 by micro sequence analyses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80 : 1169-1173, 1983.

(Received for publication March 25, 2009)

Cholebine による 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran 排泄促進

¹⁾九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学専攻分野

²⁾九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

³⁾九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

石田卓巳¹⁾, 坂井雄一¹⁾, 石井祐次¹⁾,
古江増隆²⁾³⁾, 山田英之¹⁾

The Accelerated Excretion of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran by Cholebine

Takumi ISHIDA¹⁾, Yuichi SAKAI¹⁾, Yuji ISHII¹⁾, Masutaka FURUE²⁾³⁾ and Hideyuki YAMADA¹⁾

¹⁾Laboratory of Molecular Life Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, and

²⁾Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences,
Kyushu University, Fukuoka 812-8582

³⁾Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin,
Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582

Abstract While it has been reported that the blood level of dioxins and polychlorinated biphenyls in humans may be decreased by treatment with colestimide, the effects of the agent are still obscure. To address this issue, we examined the effect of Cholebine, a cholesterol lowering agent containing colestimide as an active ingredient, on the excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) in rats. In a short term study, male Wistar rats (5 weeks-old) were given chows including 3% Cholebine (PenCDF/Chol group) or control chows (PenCDF group) for 7 days after administration of ¹⁴C-labeled PenCDF (0.5 mg/kg body weight, p.o.). On day 1, the fecal excretion of PenCDF in the PenCDF/Chol group was greater by 15% compared to that of the PenCDF group. Although some increases were also observed during day 2 and day 7, Cholebine did not exhibit any marked effect on the fecal excretion of PenCDF. The tissue concentrations of PenCDF at day 7 in the PenCDF/Chol group showed a 20%~30% decrease compared with those of the PenCDF group, except that the level in the brain was comparable between the two groups. The fecal excretion of PenCDF in a long term study (Cholebine treatment for 28 days) demonstrated the same tendency as that of short term study. However, in long term study, the Cholebine had no effect on the tissue concentration of PenCDF except for brain. An increase in PenCDF excretion by Cholebine seems to be due to the binding of Cholebine to bile acids as lipid carriers. This is because no binding of Cholebine to ¹⁴C-PenCDF was detected. These results suggest that Cholebine has little effect on the reabsorption of dioxin, whereas it reduces substantially the first absorption of dioxin.

はじめに

カネミ油症事件が発生してから40年余りが経過した現在、油症認定患者（以下、油症患者と記す）に観察された数々の初期症状は、その多くが軽快、もしくは消失している。しかし、全身倦怠感を始めとする種々の症状が現在でもかなりの頻度で残存している。また、油症患者の血中ダイオ

キシン濃度は、現在でも健常人に比べ高値を示しており¹⁾、その健康への影響は過去の問題ではない。油症は、複数のダイオキシン類が関与した複合汚染が原因であり²⁾³⁾、中でも2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF)は、原因油中含量や毒性の強さ等から、油症病態の最も重要な起因物質と考えられている。本物質だけに注目すると、現在でも、油症患者の平均体内濃度は健常人

の15倍にも達する¹⁾。これまでの研究から、ダイオキシン中毒症状のほとんどは、細胞の可溶性画分に存在する芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor: AhR) の活性化、並びにそれに伴う機能性タンパク質の発現変動を介して惹起されると考えられている⁴⁾。しかし、ダイオキシンの毒性は多岐に亘っており、かつ、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ぶため、その関連性については不明な点が多い。一般に、生体異物による健康障害に対する治療では、原因物質の体外排泄の促進が有効であるのは論を待たない。ダイオキシン中毒に関してもこれが当てはまるが、有効性の高い実用的な方策はまだ見いだされていない。

経口的に摂取されたダイオキシン類は、消化管より吸収され、肝臓を中心に全身に分布したのち、再び肝臓へ再分布される⁵⁾。再分布が完了したダイオキシン類のほとんどは残留するが、極微量が小腸壁より管腔内に排出され、胆汁酸の介助により再びリンパ系を介して再吸収される⁶⁾。従って、管腔内に排出されたダイオキシン類、もしくはその担体である胆汁酸の再吸収の抑制は、体外排泄の促進に向けた有効な方法であると考えられる。事実、これまでに、胆汁酸吸着剤や食物成分を対象としたダイオキシン類排泄促進に関する研究が多くなされている⁷⁾。しかし、その安全性、並びに有効性の問題から、実用化には至っていない。

Cholebine (一般名 Colestimide) は、イミダゾリウム塩を有する陰イオン交換樹脂であり、高コレステロール血症治療薬として使用されている医薬品である。Cholebine は、腸管内において胆汁酸を吸着し、その糞中排泄を促進する (2007年10月 (第14版) 添付文書参照)。上述のように、体内に吸収されたダイオキシン類は、微量ずつ小腸壁より管腔内に排泄され、胆汁酸の介助によって再びリンパ系を介して再吸収されることから⁶⁾、Cholebine がダイオキシン類の再吸収を阻害し、その糞中排泄を促進する可能性が期待される。最近、持田らは、Cholebine の6ヶ月間の服用が、ヒト血中ダイオキシン濃度を平均20%低下させると報告している⁸⁾。しかし、この検討は例数が少なく、さらに偏差も大きいいため、その有効性には疑問も残されている。そこで、本研究では、ダイオキシン類の体外排泄における Cholebine の有効

性を実証するため、ラットを用い PenCDF の糞中排泄促進への効果を検討した。

実験方法

1. 実験材料

[¹⁴C-U-ring]-PenCDF (purity: > 98%, 2.9 MBq/mg) は、BlyChem. Ltd. (Billingham, England) より購入した。Corn oil は、味の素株式会社製の市販品を使用した。Cholebine 含有飼料は、三菱ウェルファーマ株式会社 (現 田辺三菱製薬株式会社) より供与された。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

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第12条第4号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認を受けたのち実施した。

PenCDF の調製

あらかじめ調製し -20℃ に保存した PenCDF 溶液 (1.0 mg/mL アセトン溶液) を、corn oil に 0.5 mg PenCDF/3 mL corn oil となるように加え、窒素ガスでアセトンを留去したのち実験に供した。

薬物処理

5週令の Wistar 系雄性ラット (九動株式会社) を1群3匹として2群に分け、1週間馴化した。Cholebine 短期間摂取による PenCDF 排泄促進実験 (以下、短期実験と記す) では、PenCDF を 0.5 mg/kg body weight/3 mL corn oil の用量で経口投与し、その直後から、1群には3% Cholebine 含有飼料を、他群には対照となる飼料を与え1週間飼育した。期間中、毎朝定時に糞を回収し、それぞれのラットの体重を測定した。また、1日あたりの摂餌量と糞量を、それぞれラット3匹分の総量として計測した。回収した糞は、一定量 (約5g) をデシケーター内に約1ヶ月間放置して乾燥させた。実験最終日の糞を回収したのち、採血を行い、臓器を摘出して -30℃ に保存した。採取した血液は、9,000 x g, 20分間、4℃で遠心し、上清をサンプルチューブに移して -30℃ に保存した。

Cholebine 長期間摂取による PenCDF 排泄促進実験 (以下、長期実験と記す) では、PenCDF 投与後の飼育期間を28日間に延長して観察を行った。実験

方法は、短期処理実験と同様であるが、PenCDF と Cholebine による体重変化、摂餌量、並びに糞量への影響を観察するため、両者と与えない群も準備した。

3. 糞中、および臓器中の PenCDF の定量

デシケーター内で乾燥させた糞は、金槌を用いて粉碎したのち、その一部（約 20 mg）をバイアルに量り取り、水 1 mL を加え 30 分間静置した。液体シンチレーション用可溶化剤 Soluent-350 (Perkin Elmer 社製) を 1 mL 加え、50 °C で 24 時間、加温し、2-propanol を 1 mL 加えたのち、更に 50 °C で 2 時間、加温した。インキュベート後、30% 過酸化水素水を 0.4 mL 加え、酸素が発生しなくなるまで静置したのち、シンチレーションカクテル Hionic-Fluor™ (Perkin Elmer 社製) を 10 mL 加え、暗所にて 1 日静置して測定用のサンプルとした。臓器と血液サンプルについては、解凍したのち、その一定量（臓器については 50~100 mg、血液上清は 0.3 mL）をバイアルに分取した。臓器に対しては、Soluent-350 を 1 mL、血液上清には Soluent-350 : 2-propanol = 1 : 1 の混液を 1 mL 加え、60 °C で 24 時間、加温し、30% 過酸化水素水を 0.4 mL 加えて、酸素が発生しなくなるまで静置した。そののち、Hionic-Fluor™ を 10 mL 加え、1 日静置（暗所）して測定用のサンプルとした。両検討における放射線強度の測定は、Aloka 社製 Liquid Scintillation Counter LSC-5100 を用いて行い、測定時間 3 分間として測定を行った。

4. Cholebine と PenCDF の結合実験

PenCDF を含む corn oil (0.17 mg/mL) を調製し、サンプルチューブに 1 mL 分取した。さらに、粉碎した Cholebine 含有飼料 0.2 g をサンプルチューブに加え、24 時間穏やかに攪拌した。攪拌後、2,000 x g、2 分間、室温で遠心し、その上清 0.5 mL をバイアルに分取した。Hionic-Fluor™ を 10 mL 加え 1 日静置したのち、放射線強度を測定時間 3 分間として測定した。

5. 統計処理

有意差検定は、2 群間の比較では Student's t-test を、多群間の比較では、Fischer's Protect Least Significant Difference (PLSD) test を用いて

行った。

結 果

1. Cholebine 短期処理による PenCDF 排泄への影響

Fig. 1~5 には Cholebine 併用による種々の影響を解析した結果を示すが、各図には Cholebine 短期実験の結果と共に (A パネル)、長期実験での結果 (B パネル、詳細は後述) を合わせて掲載する。

短期実験では、PenCDF 単独処理群 (PenCDF 群) と併用群 (PenCDF + Cholebine) の体重変化に顕著な差は認められなかった (Fig. 1A)。一方、

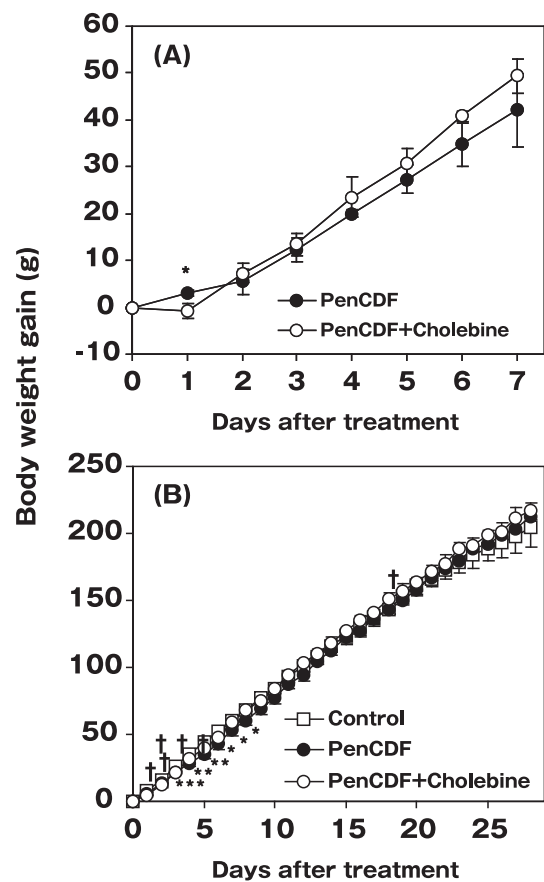


Fig. 1 Effects of Cholebine on body weight gain in Wistar rats treated with PenCDF. Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). The values represent the mean \pm S.D. of 3 rats. The initial body weights (mean \pm S.D.) of rats in PenCDF- and PenCDF + Cholebine-treated groups in (A) were 178 ± 6 and 189 ± 7 g, respectively. The initial body weights (mean \pm S.D.) of rats in Control-, PenCDF- and PenCDF + Cholebine-treated groups in (B) were 100 ± 4 , 101 ± 2 and 102 ± 2 g, respectively. Significant difference in PenCDF-group from control: *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$. Significant difference in PenCDF + Cholebine-group from control: †, $p < 0.05$; †††, $p < 0.001$.

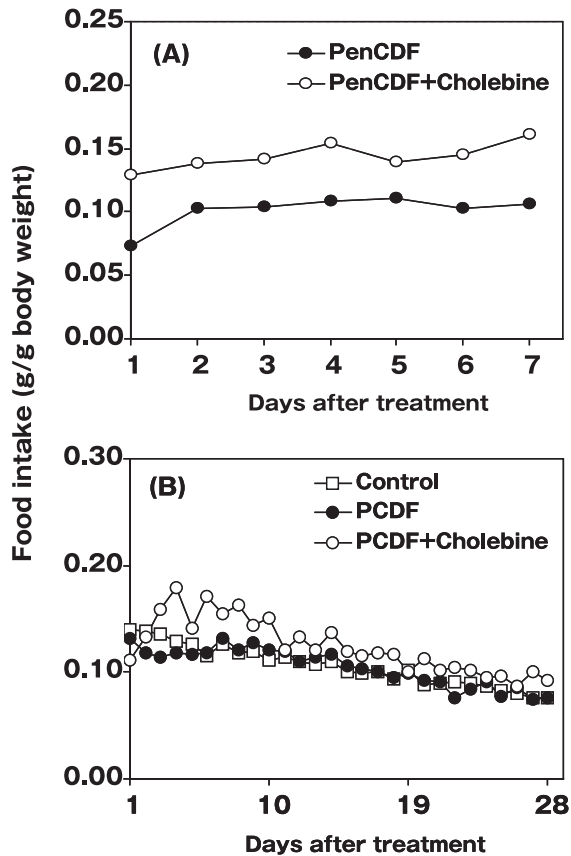


Fig. 2 The effects of Cholebine on food intake in Wistar rats after exposure to PenCDF. Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). Food amount consumed by three rats which were housed in one cage was measured. Each dot represents the food weight divided by the summed body weight of three rats.

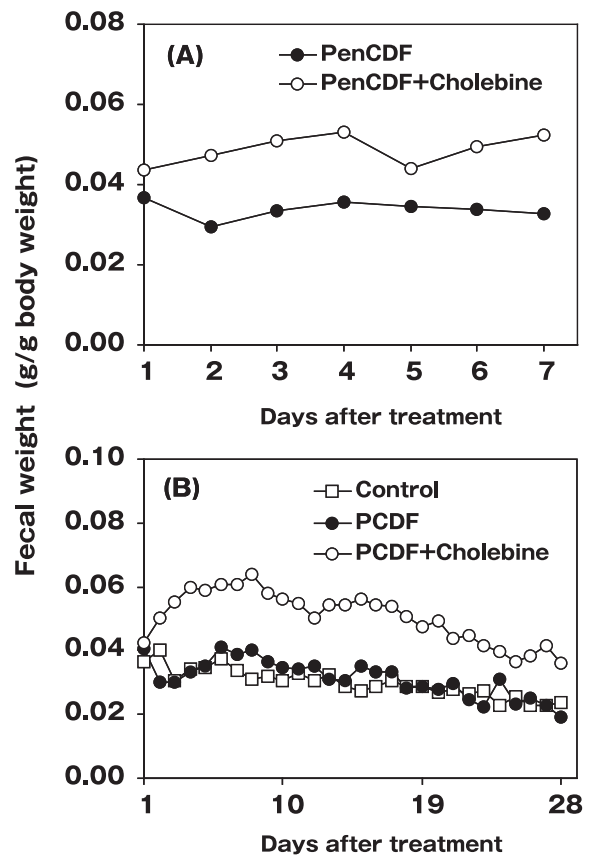


Fig. 3 The effects of Cholebine on fecal weight in Wistar rats after exposure to PenCDF. Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). Weight of feces by three rats which were housed in one cage was measured. Each dot represents the fecal weight divided by the summed body weight of three rats.

摂餌量と糞量については、両指標とも併用群において増加する傾向が認められた (Fig. 2A and 3A). 糞中への PenCDF の排泄量を測定した結果、1日目において、併用群は PenCDF 群に比べ約 15% の増加を示した (Fig. 4A). 2日目以降についても両群間に PenCDF 排泄量の差が散見されたが、そのいずれも摂取1日目での差に比べわずかであった。本検討における PenCDF の糞中への総排泄量は、併用群で投与量の約 42.9% であったのに対し、PenCDF 群では約 28.1% であった。さらに、臓器中における PenCDF 含量を測定した結果、脳を除く全ての臓器において Cholebine 摂取による有意な低下が認められた (Fig. 5A).

2. Cholebine 長期処理による PenCDF 排泄への影響

長期実験における各群の体重変化を観察した結

果、12日目までに併用群と PenCDF 群においてわずかではあるが有意な違いが観察された (前者 > 後者) (Fig. 1B). また、摂餌量と糞量においても、短期実験の場合と同様、併用群で増加傾向が認められたが (Fig. 2B and 3B), PenCDF および Cholebine 未処理群 (以下、コントロール群と記す) と PenCDF 処理群の間に顕著な差は認められなかった。糞中への PenCDF の排泄量を測定した結果、1日目において、併用群では PenCDF 群に比べ約 15% の排泄量の増加が観察された (Fig. 4B). 2日目以降も散発的に差異が認められたが、顕著なものではなかった。28日間における PenCDF の総排泄量は、併用群で投与量の約 64.4% であったのに対し、PenCDF 群では約 48.4% であった。また、臓器における PenCDF 含量を測定した結果、短期実験の場合とは異なり、脳を除く臓器に有意な差は認められなかった (Fig. 5B).

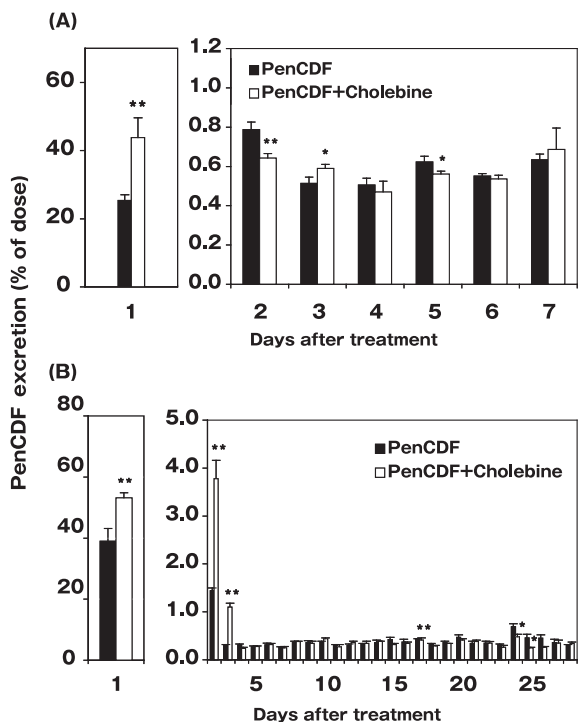


Fig. 4 Effect of Cholebine on the excretion of PenCDF into feces. Cholebine was given to rats for 7 days (A) and 28 days (B). Feces of three rats which were housed in one cage were pooled, and its portion was subjected to the measurement of radioactivity due to ¹⁴C-PenCDF. Values represent the mean ± S.D. of 3 assays. Significant difference from each PenCDF-treatment group, *, p < 0.05; **, p < 0.01.

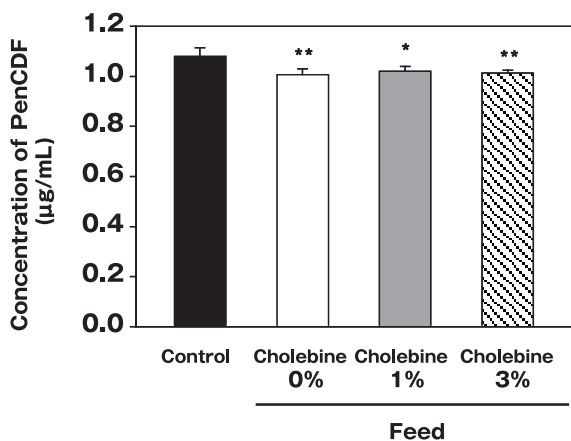


Fig. 6 The binding of Cholebine to ¹⁴C-PenCDF. ¹⁴C-PenCDF was incubated with powdered diets in the absence and presence of Cholebine, and the radioactivity recovered in the supernatant of the reaction solution was measured. The values represent the mean ± S.D. of 3 assays. Significant difference from the control: *, p < 0.05; **, p < 0.01.

3. Cholebine による PenCDF 排泄促進機構の解析

Cholebine による PenCDF 排泄促進機構を明らかにするため、Cholebine と ¹⁴C-PenCDF の結合

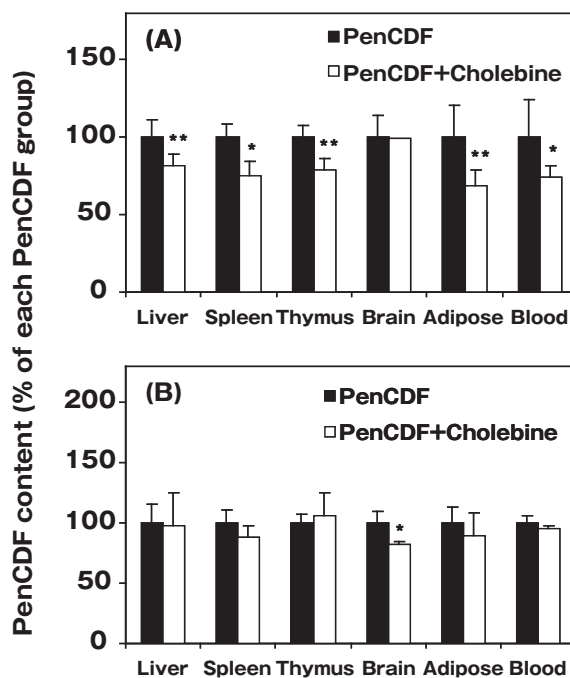


Fig. 5 Effect of Cholebine on the tissue concentrations of PenCDF. Cholebine was given to PenCDF-treated rats for 7 days (A) and 28 days (B). The values represent the mean ± S.D. of 3 rats, except for the brain (N = 2) in the PenCDF + Cholebine group. The PenCDF concentration in each tissue of PenCDF group was as follows: In (A), Liver, 5.13 ± 0.57 μg/g tissue; Spleen, 7.56 ± 0.64 ng/g tissue; Thymus, 8.35 ± 0.63 ng/g tissue; Brain, 4.61 ± 0.64 ng/g tissue; Adipose tissue, 0.34 ± 0.07 μg/g tissue; Serum, 0.39 ± 0.09 ng/mL. In (B), Liver, 1.48 ± 0.23 μg/g tissue; Spleen, 3.73 ± 0.39 ng/g tissue; Thymus, 3.22 ± 0.22 ng/g tissue; Brain, 3.24 ± 0.31 ng/g tissue; Adipose tissue, 14.21 ± 1.94 ng/g tissue; Serum, 0.19 ± 0.01 ng/mL. Significant difference from each PenCDF-treatment group, *, p < 0.05; **, p < 0.01.

実験を行った。その結果、粉碎飼料を加えた場合、上清中の PenCDF 回収量がわずかに低下した (Fig. 6)。しかし、Cholebine を粉碎飼料に添加しても放射能の上清への回収量は全く変化しなかった。従って、Cholebine による PenCDF の排泄促進は、PenCDF の直接的な結合によるものではなく、胆汁酸吸着に基づく可能性が示された。

考 察

PenCDF は、ダイオキシン毒性等価係数が 0.3 であり、多塩素化ジベンゾフラン類中最も強い毒性を有することが知られている。F344 ラットにおける LD₅₀ が 916 μg/kg body weight であることから⁹⁾、今回の検討において設定された PenCDF の投与量は、比較的高用量であったと考えられる。しかし、短期および長期実験において、ダイオキシンの急性中毒として観察される消耗症

は、PenCDF を処理したいずれの群においても観察されなかった。また、摂餌量と糞量に対する影響も認められなかった。従って、本検討での実験条件では、顕著な PenCDF 急性毒性は惹起されなかった。一方、長期実験において、Cholebine 併用群とコントロール群との間に体重変化の有意な差が認められた。しかし、これに関しても、PenCDF 処理の場合と同様に微弱な差であったため、Cholebine が顕著な障害性を有するとは考えがたい。本検討において、Cholebine は、摂餌量と糞量を増加させる傾向を示した。これらの原因は不明であるが、摂餌量の増加は、栄養素摂取量が Cholebine により低下することに起因し、これを相補するために摂餌量が増加したものと推定される。また、糞量の増加は、排泄された Cholebine が含まれるためであると予想された。

短期実験の場合、1日目において、PenCDF 処理群における糞中排泄量は約 25%であった。Cholebine 併用は、約 15%の PenCDF 排泄増加を惹起した。2日目以降については、顕著な排泄促進効果は認められなかった。一方、長期実験では、短期実験と同様、Cholebine は初日での PenCDF 排泄量を約 15%増加させた。また、程度は低いものの、2日目と3日目においても Cholebine の併用による PenCDF の排泄促進が観察された。4日目以降については、顕著な排泄促進効果は認められなかった。PenCDF をラットに経口投与した場合、未吸収体を主体とする約 30%が3日程度で糞中に排泄されることが明らかとなっている⁵⁾。従って、本検討における Cholebine の効果は、ダイオキシンの再吸収の阻害より初回吸収の阻害の寄与が大きいと考えられた。

ダイオキシンの糞中排泄に関しては、これまでも多くの研究成果が報告されている。例えば、ラットに PenCDF を経口投与して1週間通常の飼料を与えたのち、スクアラン (8%)¹⁰⁾、パラフィン (8%)¹¹⁾、コレステラミン (5%)¹¹⁾、および活性炭 (5%)¹²⁾ を含有した飼料を3週間与えた場合、糞中への PenCDF の排泄量が対照群に比べ2~3倍高くなることが明らかとなっている。一方、Cholebine の場合、PenCDF の糞中排泄の増加率は、長期実験の場合でも非摂取群に比べ約 1.3 倍であった。Cholebine による PenCDF の排泄効率が、他の物質に比べ低い理由は不明で

ある。しかし、本検討では、PenCDF 投与直後から Cholebine を与えていたため、腸管における PenCDF の初回吸収量は、Cholebine 非摂取群に比べ低下したと予想される。事実、長期実験において、3日目までにおける PenCDF の体内残存量は、PenCDF 処理群では約 60%であったのに対し、併用群では約 40%であった。体内残存量が胆汁酸中への排泄量に影響を及ぼすと仮定した場合、Cholebine の併用における腸管内への PenCDF の分泌量は、PenCDF 処理群のそれに比べ低かったと予想される。従って、この吸収量の低下が排泄効率の低下の要因となった可能性も否定できない。

一方、臓器中の PenCDF 残存量については、短期実験の場合、脳を除く全ての臓器において Cholebine 併用群では 20~30%の低下が観察された。しかし、長期実験では、脳を除いて Cholebine による効果は認められなかった。長期実験において差が消失した原因を明らかにすることはできなかったが、曝露 28 日目では、臓器中の PenCDF 量は7日目と比較してかなり低下しており (Fig. 5 脚注参照)、Cholebine の効果が出現しにくい状況に至っている可能性が考えられた。これらの結果を総合すると、一旦体内に蓄積したダイオキシンが微量ずつ排泄される定常状態では、Cholebine による再吸収阻害は、皆無とまでは言えないが、少なくとも顕著な効果は期待できないものと考えられた。ただ、ラットとヒトでのダイオキシン体内半減期は大きく異なり (ラット < ヒト)¹³⁾、ラットはその固有の性質としてダイオキシン排泄能力が高いものと思慮される。従って、ヒトはダイオキシン再吸収能力が高い種とも考えられ、Cholebine の効果がラットよりも顕著に出現する可能性は否定できない。前述の通り、Cholebine を投与されたヒトではダイオキシン水準が低下することが示唆されており⁸⁾、このことは上記推論を支持するかもしれない。

総 括

Cholebine 摂取により、ダイオキシンの糞中排泄量が有意に増加することが明らかとなった。また、ダイオキシンの組織中の残存量も、若干の低下、ないしその傾向が認められた。Cholebine による排泄促進効果は、摂取1日目において最も顕

著であり、それ以降、顕著な差は見られなかった。さらに、Cholebine によるダイオキシンの糞中排泄は、胆汁酸などを介して惹起されると考えられた。以上の結果から、Cholebine はダイオキシンの初回吸収は効果的に抑制するが、ラットでの検討からみる限り、再吸収に関しては顕著な抑制効果を示さなかった。

謝 辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業；課題番号，H18-食品一般-012）に負うものである。また、Cholebine 含有飼料は、三菱ウエルファーマ株式会社（現 田辺三菱製薬株式会社）より供与頂いた。ここに記して謝意を表する。

参 考 文 献

- 1) 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：油症認定患者と一般人におけるダイオキシン類血中残留量と曝露経路の関連性について, 福岡医誌 98 : 196-202, 2007.
- 2) Furue M, Uenotsuti T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M : Overview of Yusho. J. Dermatol. Sci. 1 (Suppl. 1) : S3-S10, 2005.
- 3) Yoshimura T : Yusho in Japan. Ind. Health 41 : 139-148, 2003.
- 4) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM and Gonzalez FJ : Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 140 : 173-179, 1996.
- 5) Yoshimura H, Kuroki J, Koga N, Kuroki H, Masuda Y, Fukasaku N and Hasegawa M : High accumulation of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran to hepatic microsomes of rats. J. Pharm. Dyn. 7 : 414-419, 1984.
- 6) Oguri K, Kamimura H, Koga N and Yoshimura H : Mechanisms for stimulated excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in rats by treatment with squalane and liquid paraffin. Chemosphere 16 : 1707-1712, 1987.
- 7) 吉村英敏, 神村英利：動物実験. 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編, 油症研究—30年の歩み—, pp. 259-271, 九州大学出版会, 福岡, 2000.
- 8) Mochida Y, Fukata H, Matsuno Y and Mori C : Reduction of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) in human body. Fukuoka Acta Med. 98 : 106-119, 2007.
- 9) Brewster DW, Uraih LC and Birnbaum LS : The acute toxicity of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (4PeCDF) in the male Fischer rat. Fundam. Appl. Toxicol. 11 : 236-249, 1988.
- 10) 吉村英敏, 神村英利, 小栗一太, 佐伯清太郎：高毒性 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran のラット糞中排泄に及ぼすスクアランの効果, 福岡医誌 76 : 184-189, 1985.
- 11) 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.
- 12) Yoshimura H, Kamimura H, Oguri K, Honda Y and Nakano M : Stimulating effect of activated charcoal beads on fecal excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in rats. Chemosphere 15 : 219-227, 1986.
- 13) Larsen JC : Risk assessments of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food. Mol. Nut. Food Res. 50 : 885-896, 2006.

(Received for publication March 19, 2009)

福岡医学雑誌投稿規定

1. 本誌には原著論文、症例報告、総説、学会報告等を掲載する。
2. 原著論文は、和文の場合は英文抄録、はじめに、実験方法、実験結果、考察、総括または結論、謝辞、文献の順とし、英文の場合は、Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References, の順で記すものとする。ただし、短報の場合は、この区別をつけなくともよい。図、表の標題、説明文は、英文とすることが望ましい。
3. 和文原著には英文の抄録を、欧文原著には和文抄録を付けることとし、それぞれ本誌印刷1ページ以内とする。
4. 和文は現代かなづかい、平がなまじりの横書きとする。外国語は typewriter を使用するか、あるいは block letter で鮮明に記すことが必要である。
5. 数字は算用数字を用い、度量衡の単位は、cm, mm, μm , nm, g, mg, μg , ng, ml, dl, μl , cm^2 など、一般的に用いられる略字を使用する。
6. 原稿の第1ページには、標題、著者の所属（必要あれば指導者名付記）、著者名のみを記し、印刷所要部数を赤で付記する。ランニングタイトルを20字以内（欧文の場合は40文字以内）で鉛筆で付記する。
7. 引用した文献は末尾に一括して番号を付けて記載し、その順序は引用した順とする。著者名は全員併記する。本文の引用箇所には上付きで¹⁾²⁾と記す。なお総説等の場合、重要なものについて5~10程度に○をつけて読者の便宜を図る。記載の形式は次の例による。
 - 1) 雑誌の場合：著者名. 論文表題. 雑誌名. 巻：最初最終頁, 発行年. とする。
原著の first and middle name の省略のピリオドは用いない。
(例) Hatch TP, Miceli M and Silverman JA : Synthesis of protein in host-free reticulate bodies of Chlamydia psittaci and Chlamydia trachomatis. J. Bacteriol. 162 : 938-942, 1985.
(例) 神村英利, 吉村英敏 : 油症原因物質の排泄促進, 福岡医誌 78 : 266-280, 1987.
 - 2) 単行本の場合：著者名. 書名. 第何版. 引用頁, 発行社, 発行地, 発行年。
(例) Bloom W and Fawcett DW : A Textbook of Histology 10th ed. pp. 179-227, Saunders Co. Philadelphia, 1975.
 - 3) 分担執筆の場合：著者名. 章の表題. 編者. 書名. 第何版. 最初最終頁, 発行者. 発行地. 発行年。
(例) Yamada Y : Far-storing cells, In Yamakawa I (ed) : Structure and Function of the Liver. 1st ed. pp. 188-202, Nanzando Tokyo, 1980.
8. 写真原稿は鮮明なものでなければならない。表は1ページに組める大きさであることを要する。
9. 英文原稿については、文法上の誤りが無い正確なものを提出できるよう、原則として native speaker 等による校閲を受けること。
10. 人を対象とした研究については、ヘルシンキ宣言を遵守したものであること、また症例を提示する際（症例報告）は、患者さんのプライバシーの保護やインフォームドコンセントなどに関する倫理的問題に十分配慮されていること。
11. 定期号のほかに補冊を刊行することがある。教室論文集等を補冊とすることの可否は幹事会で決定する。
12. 投稿時には原稿を4部揃えて福岡医学雑誌編集室へ提出する。
13. 本誌に掲載する論文は、2名のレフリーによる査読を原則とし、その採否は編集幹事が決定する。
續 輝久* (基礎放射線医学), 笹栗俊之* (臨床薬理学), 池田典昭* (法医学), 中西洋一* (呼吸器内科学), 前原喜彦* (消化器・総合外科学), 野中和明* (歯・小児口腔医学), 森元 聡* (薬・薬用資源制御学), 中村誠司 (歯・顎顔面腫瘍制御学), 吉開泰信 (生医研・感染制御学), 池松秀之* (原土井病院), 尾形裕也* (医療経営・管理学), 鮎澤純子 (医療経営・管理学), 佐々木雅之* (医保・医用量子線科学), 鳩野洋子 (医保・看護学), 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 21 年 5 月 25 日 発行

発行所 **福岡医学会**

〒 812-8582 福岡市東区馬出3丁目1番1号 (九州大学医学部内)

TEL ダイヤルイン (092) 642-6896

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

(日本出版協会準会員番号 B211042 振替 01750-2-2233)

編集兼発行者 續 輝久

印刷所 秀巧社印刷株式会社

福岡市南区向野2丁目13-29



経口用セフェム系製剤

薬価基準収載

日本薬局方 セフジニルカプセル、セフジニル細粒



**セフゾン[®] 細粒小児用10%
カプセル 50mg
100mg**

指定医薬品、処方せん医薬品（注意—医師等の処方せんにより使用すること）

Cefzon[®]

■「効能・効果」「用法・用量」「禁忌・原則禁忌を含む使用上の注意」等につきましては、製品添付文書をご参照ください。

製造販売 **アステラス製薬株式会社**

東京都板橋区蓮根3-17-1

[資料請求先] 本社 / 東京都中央区日本橋本町2-3-11

07/4作成.245×170mm.C.03

月刊総合臨床雑誌

臨床と研究

編集委員

- 加地 正郎 (久留米大学名誉教授)
- 杉町 圭蔵 (九州中央病院長)
- 柏木 征三郎 (九州医療センター名誉院長)
- 兼松 隆之 (長崎大学外科教授)
- 大石 了三 (九州大学薬学部教授)
- 久保 千春 (九州大学病院長)
- 林 純 (九州大学総合診療部教授)

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



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

平成20年特集

- 1月号 最新の高血圧治療の進歩
- 2月号 増加するアレルギー疾患の治療
- 3月号 外来がん化学療法のパワー
- 4月号 高齢者認知症の知識と理解
- 5月号 変貌する感染症治療
- 6月号 メンタルヘルス新時代
- 7月号 日常診療に必要なウイルス肝炎の知識と対策
- 8月号 脂質異常症治療の進歩
- 9月号 医師として知っておきたいTravel Medicine
- 10月号 スポーツ障害とそのリハビリテーション

- 11月号 進歩した排尿障害の治療
- 12月号 新型インフルエンザと季節性インフルエンザ

平成21年特集

- 1月号 急増する2型糖尿病への対応
- 2月号 最近のCOPDと気管支喘息
- 3月号 専門医以外に必要な乳癌診療の新しい知識
- 4月号 小児診療のピットフォール
- 5月号 日常診療に役立つすりの選び方・使い方
- 6月号 関節リウマチと痛風—新しい治療戦略
- 7月号 増加する肺癌—早期診断と治療
- 8月号 最新の向精神薬の使い方—うつ・不安・睡眠障害

輸液を今から学び始める医療関係者に!!

水分先生 と 若津君の 宿酔対談

2次元必勝解法による水・電解質、酸・塩基平衡の理解

著者 長尾 哲彦 特定医療法人原土井病院 みどりのクリニック

■本書では読者の理解を助けるために、二次元必勝解法という独自の手法を用いて解説している。付録は病棟で手軽に開けるような大きさに編んでいるので、足非白衣のポケットに忍ばせて、事あるごとに開いていただきたい。本書は入門書ではあるが、なるべく病態生理の理解をもとに学べるように解説したつもりである。

目次		
水・ナトリウム編 出合い だから輸液が解らない 生理学の復習 いよいよ二次元必勝解法登場か? 細説外液量の評価 透析の評価は難しい? 真打ち、内頸静脈の登場 こんな「手」もある 総合判断が重要	二次元必勝解法、再登場 自由水とsaineの過不足を定量する Basic allowanceという概念 限界を知ろう イメージトレーニング 特殊な状況下でのBasic allowance Kも考えよう	酸・塩基平衡編 酸基か?動脈血ガス分析 洗腸状
電解質平衡障害を脱ぐ 二次元必勝解法でらくらく 血液ガスを分析するということ 呼吸性アシドーシスと呼吸性アルカローシス 代謝性アシドーシスと代謝性アルカローシス 真影を隠してみよう pHCO3 (補正重炭酸塩) の考え方 別れ		



○定価 1,500円 (本体1,429円+税71円) ○送料 180円
 ○御送金は「郵便振替が現金書留」を御利用ください。

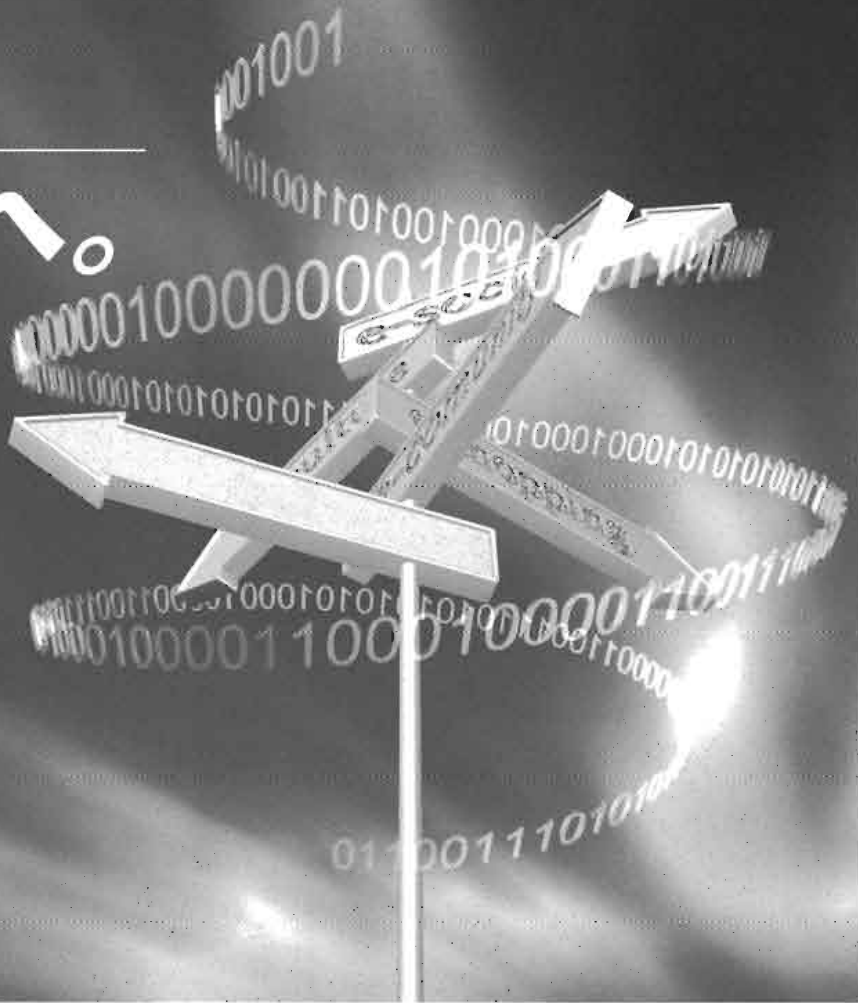


お問い合わせ・申込み先

大道学館出版部

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

To The Next
輝く未来へ。



化血研の血漿分画製剤

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

献血ベニロン[®]-I

生物学的製剤基準 乾燥ペプシン処理人免疫グロブリン
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

献血静注グロブリン[®] “化血研”

日本薬局方 生物学的製剤基準 人免疫グロブリン
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

“化血研” **ガンマ-グロブリン[®]** 献血

生物学的製剤基準 乾燥抗破傷風人免疫グロブリン
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

テタノセーラ[®]

生物学的製剤基準 抗HBs人免疫グロブリン
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

パトセーラ[®]

生物学的製剤基準 人血清アルブミン
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

献血アルブミン25[®] “化血研”
献血アルブミン20[®] “化血研”

生物学的製剤基準 乾燥濃縮人血液凝固第Ⅴ因子
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

コンファクトF[®] 献血

生物学的製剤基準 乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

JバクトM[®] 献血

生体組織接着剤
特定生物由来製品 指定医薬品 処方せん医薬品^(注)

ポルヒール[®] 献血

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

注射用アナクトC[®] 2,500単位 献血

注) 注意—医師等の処方せんにより使用すること

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



製造販売

化血研

製法化学及血清療法研究所
熊本県大津一丁目5番1号 〒860-8568
Phone 096-344-1211 / Fax 096-345-1345

財団法人 恵 愛 団



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

本年4月から運営を開始した**恵愛団ファミリーハウス「森の家」**では、看護師さん等九大病院に勤務される教職員向けの賃貸マンションを28室、小児科等において入院の付き添いで不自由な思いを余儀なくされている家族向けの宿泊施設等8室を備え、割安な料金で提供し、医療に従事する教職員・学生の福利厚生や患者さんへの支援事業の拡大を図ってまいります。

なお、上記趣旨に鑑み、微力ではありますが福岡医学会を通じて「福岡医学雑誌」発行に協賛させていただいております。



財団法人 恵 愛 団

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