

昭和29年11月5日第三種郵便物認可  
平成27年5月25日（毎月25日発行）  
第1124号

Vol. 106 No. 5  
May 2015

CODEN : FKIZA4  
ISSN 0016-254X

# 福岡医学雑誌

*FUKUOKA ACTA MEDICA*

第 106 卷 第 5 号 (1124)

平成 27 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 25 集

責任編集者 古 江 増 隆

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

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 25 集

(福岡医学雑誌 第 106 巻 第 5 号 平成 27 年 5 月)

### 目 次

序 言	古江 増隆…83
一般成人を対象とした健康実態調査とカネミ油症患者実態調査の比較 赤羽 学・松本 伸哉・神奈川芳行・三苦 千景 内 博史・吉村 健清・古江 増隆・今村 知明…85	
油症における抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討	辻 博…119
長崎県油症患者における制御性 T 細胞 (Treg 細胞) の検討 峯 嘉子・鋤塚 大・宇谷 厚志…124	
ダイオキシン母体曝露による発達児の甲状腺ホルモンへの影響 服部友紀子・武田 知起・田浦 順樹 黒木 広明・石井 祐次・山田 英之…127	
油症検診における骨密度の解析	福士 純一・岩本 幸英…135
カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期と芳香族炭化水素受容体 (AhR) の SNP の関係 松本 伸哉・赤羽 学・神奈川芳行・梶原 淳睦・月森 清巳 和氣 徳夫・三苦 千景・内 博史・古江 増隆・今村 知明…139	
油症患者の唾液におけるメタボローム解析 (英文) 川崎 五郎・市川 陽子・吉富 泉・梅田 正博…144	
油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布 梶原 淳睦・戸高 尊・平川 博仙・堀 就英 平田 輝昭・飯田 隆雄・内 博史・古江 増隆…149	
福岡県油症検診 (2011-2014 年度) 受診者における血液中 PCB 濃度と傾向 安武 大輔・小木曾俊孝・堀 就英・宮脇 崇・山本 貴光 梶原 淳睦・平田 輝昭・内 博史・古江 増隆…154	
2012 年度油症認定患者の血液中に残留するポリ塩素化ビフェニルに関する研究 (英文) 宮脇 崇・平川 周作・戸高 尊・平川 博仙・堀 就英 梶原 淳睦・平田 輝昭・内 博史・古江 増隆…160	
Cynaropicrin が油症原因物質 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran による Wasting Syndrome および酸化的ストレスに及ぼす影響 山田 健一・石井 祐次・武田 知起・黒木 廣明 三苦 千景・内 博史・古江 増隆・山田 英之…169	
2,2',3,4,4',5,5'-七塩素化ビフェニル (CB180) の動物肝マイ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・木村 治・古賀 信幸…176	

油症の最新の知見と治療開発に向けて  
三苦 千景・内 博史・辻 学・古賀沙緒里・古江 増隆…184

**The Twenty-fifth Reports of the Study on Yusho**  
**—PCBs and Dioxin-Related Compounds—**  
**(FUKUOKA ACTA MEDICA Vol. 106, No. 5, 2015)**

**CONTENTS**

Foreword	M. Furue···83
Comparison of the prevalence of symptoms and medical histories between Yusho patients and healthy controls	M. Akahane, S. Matsumoto, Y. Kanagawa, C. Mitoma, H. Uchi, T. Yoshimura, M. Furue and T. Imamura···85
Anti-SSA/Ro and Anti-SSB/La Antibodies in Patients with Yusho	H. Tsuji···119
Serum Levels of Regulatory T Cell in the Yusho Patients	Y. Mine, Y. Kuwatsuka and A. Utani···124
The Effect of Maternal Exposure to Dioxins on the Level of Thyroid Hormone in Developing Pups	Y. Hattori, T. Takeda, J. Taura, H. Kuroki, Y. Ishii and H. Yamada···127
Bone Mineral Density in Yusho Health Examination	J. Fukushi and Y. Iwamoto···135
Relationships between Half-Lives of Dioxins and SNPs in AhR among Yusho Patients	S. Matsumoto, M. Akahane, Y. Kanagawa, J. Kajiwara, K. Tsukimori, N. Wake, C. Mitoma, H. Uchi, M. Furue and T. Imamura···139
Metabolomics of Salivary Biomarkers in Yusho Patients	G. Kawasaki, Y. Ichikawa, I. Yoshitomi and M. Umeda···144
The Distribution of Dioxin Concentrations in the Blood of Yusho Patients	J. Kajiwara, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, T. Hirata, T. Iida, H. Uchi and M. Furue···149
Blood PCB Concentrations and their Tendencies Examined in Fukuoka 2011–2014 Annual Inspections for Yusho	D. Yasutake, T. Kogiso, T. Hori, T. Miyawaki, T. Yamamoto, J. Kajiwara, T. Hirata, H. Uchi and M. Furue···154
A Study on Polychlorinated Biphenyls Specifically-Accumulated in Blood of Yusho Patients Collected from Medical Check-Ups in 2012	T. Miyawaki, S. Hirakawa, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, J. Kajiwara, T. Hirata, H. Uchi and M. Furue···160
Effect of Cynaropicrin on 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran-induced Wasting Syndrome and Oxidative Stress	K. Yamada, Y. Ishii, T. Takeda, H. Kuroki, C. Mitoma, H. Uchi, M. Furue and H. Yamada···169

Metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl (CB180) by Animal Liver Microsomes  
C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, O. Kimura and N. Koga···176

Latest Findings of Yusho and Its Therapeutic Development  
C. Mitoma, H. Uchi, G. Tsuji, S. Koga and M. Furue···184

## 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

九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター長

古 江 増 隆

## Foreword

Masutaka FURUE

*Chief of The Study Group for Yusho*

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

*Professor, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University*

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

A mass poisoning, involving at least 2200 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 that 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 45 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 quarterphenyls (PCQs) levels were then added to the diagnostic criteria of Yusho as a relatively specific marker. Recent technological advancement allowed us to measure dioxins levels in 5 to 10 ml of human blood samples. After the evaluation of validity, sensitivity and reproducibility of measuring the blood levels of dioxins, we added the blood levels of 2,3,4,7,8-penta-CDF (PeCDF) in the new diagnostic criteria in Sep. 29th, 2004.

The clinical and basic observation and follow-up study of Yusho patients are extremely important not only for supporting patients' health but also for understanding the potential prolonged effects of high level exposure to dioxin-related chemicals in humans. In our follow-up study, Yusho consultants, established in 2002, keep in touch with the patients by direct interview, by phone or by mail. Various types of questionnaire were carried out by Yusho consultants. Statistical correlations were analyzed between blood PeCDF levels and clinical/laboratory manifestations in addition to questionnaire comments.

Patients with Yusho still complain various subjective and objective symptoms. Although definitive therapy for Yusho has not been proposed yet, basic and clinical researches by us and others have revealed that various phytochemicals and some Japanese Kampo drugs are potential candidates for treatments by modulating aryl hydrocarbon receptors. Finally, 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, Labour and Welfare for their efforts to help and support patients' health and well-being.

Acknowledgement ; This work was supported by a grant from The Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (project No. : H24-Shokuhin-Shitei-014).

厚生労働省全国油症治療研究班の第 25 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 25 年度と平成 26 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。本報告集のいくつかの論文はその成果です。これらの研究成果は油症ニュース (<http://www.kyudai-derm.org/part/yusho/index.html>) にとりあげて、認定者の方々に送付しております。こうして少しずつではありますが、認定者の方々と交流をさらに深めたいと思っています。現時点では油症に著効する治療薬はありませんが、我々を含めた最近の研究によって、さまざまな野菜や漢方薬にダイオキシンの作用を抑制する効果が期待されることが明らかになってきました。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。

謝辞：本誌は、厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業（カネミ油症に関する研究））研究課題名（課題番号）：食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究（H24 - 食品 - 指定 - 014）によって刊行されています。深く感謝申し上げます。

## 一般成人を対象とした健康実態調査とカネミ油症患者実態調査の比較

赤羽 学<sup>1)</sup>, 松本伸哉<sup>1)</sup>, 神奈川芳行<sup>1)</sup>, 三苦千景<sup>2)</sup>,  
内 博史<sup>3)</sup>, 吉村健清<sup>4)</sup>, 古江増隆<sup>2)3)</sup>, 今村知明<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>奈良県立医科大学 健康政策医学講座

<sup>2)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

<sup>3)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>4)</sup>福岡女子大学国際文理学部 食・健康科学

### Comparison of the prevalence of symptoms and medical histories between Yusho patients and healthy controls

Manabu AKAHANE<sup>1)</sup>, Shinya MATSUMOTO<sup>1)</sup>, Yoshiyuki KANAGAWA<sup>1)</sup>, Chikage MITOMA<sup>2)</sup>, Hiroshi UCHI<sup>3)</sup>, Takesumi YOSHIMURA<sup>4)</sup>, Masutaka FURUE<sup>2)3)</sup> and Tomoaki IMAMURA<sup>1)</sup>

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

<sup>2)</sup>*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital*

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

<sup>4)</sup>*Department of Food and Health Sciences, International College of Arts and Sciences, Fukuoka Women's University*

#### Abstract

Yusho disease was first reported in October 1968 in western Japan. Although a previous survey revealed that Yusho patients have suffered from various symptoms for 40 years after the outbreak of Yusho, some symptoms could be caused by aging. Therefore, we compared the prevalence of symptoms and medical histories (symptoms or patient-reported diseases) between Yusho patients and healthy controls to demonstrate the effects of Yusho on health conditions. We conducted a survey of healthy controls who had already registered to a survey company and created a dataset of symptoms and medical histories. We then merged the healthy control data with the Yusho survey data obtained from The Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. Statistical analyses were performed using a chi-square analysis for the incidence of symptoms. Symptoms included in the major diagnostic criteria for Yusho, such as pigmentation and acneform eruption, were expectedly higher in the Yusho patients than in the healthy individuals. Symptoms that could be caused by aging, such as general fatigue, arthralgia, and numbness in the extremities, were also significantly higher in the Yusho patients after adjustment for age, indicating the possibility that Yusho may cause various systemic symptoms and diseases.

**Key words** : Yusho disease · Healthy controls · Disease prevalence · Medical history

#### 背景と目的

油症は、1960年代後半に九州北部で発生したダ

イオキシン類による中毒事件であり、当初は polychlorinated biphenyl (PCB) が原因と考えられていた。その後の研究によって主たる原因は、

Correspondence author : Manabu AKAHANE, M.D.

Department of Public Health, Health Management and Policy, Nara Medical University, Kashihara, Nara 634-8521, Japan.

Tel : 81-744-22-3051 Fax : + 81-744-22-0037 E-mail : makahane @ naramed-u.ac.jp

ダイオキシン類の一つである2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF) であることが判明した<sup>1)-3)</sup>。油症患者の健康状態はこれまでに繰り返し調査が行われ、様々な症状や疾患とダイオキシン濃度との関連が報告されている<sup>4)-6)</sup>。しかし、発生から既に40年余が経過しているため、油症患者の現在の症状には加齢によるものも少なからず含まれていると考えられる。

本研究では、油症患者と一般成人の健康実態に関するアンケート調査を比較し、油症患者の健康状態(症状)の特性を解析することを目的とした。

## 方 法

平成20年にカネミ油症患者の健康実態に関するアンケート調査<sup>7)</sup>(以下、「患者実態調査」とする)が実施されているが、比較対象となる調査がない。

そこで本研究では、一般成人を対象とした対照群調査を実施し、国民生活基礎調査結果と比較したのちに、油症患者の健康状態の特性を解析するために患者実態調査と対照群調査を比較した。

### 1. 患者実態調査

平成19年4月24日時点で生存している認定患者および平成20年度に新たに認定された計1,420名のうち、所在不明者等を除いた1,331名の油症患者を調査対象として、平成20年度に実施された郵送アンケート調査「患者実態調査」の結果<sup>7)</sup>を本研究における油症患者の健康状態として利用した。調査の回答者は1,131名で、回収率85.0%である<sup>7)</sup>が、調査員等が返送された調査票の内容を確認し、必要に応じて回答者あるいはかかりつけ医等に照会して回答内容を補足している。

「油症患者に係る健康実態調査結果の報告」によると「腰痛」が69.4%と最も多く、次いで、「全身倦怠感」59.7%、「肩こり」58.4%、「手足のしびれ」56.8%、「皮膚の瘙痒(かゆみ)」47.8%、「眼脂過多(めやに)」43.9%、「虫歯になりやすい」43.9%、「せき」42.6%、「たん」42.5%等の順となっている<sup>7)</sup>。

### 2. 対照群調査

対照群の調査対象は、アンケート調査会社である(株)日本能率協会総合研究所のモニターに登録さ

れている30代から80代の一般成人男女とした。患者実態調査の結果と比較するため、患者実態調査の回答者の居住地分布に近似させて調査対象1,800名を抽出し、平成22年12月から平成23年1月にかけてFAXによるアンケート調査を実施した。調査項目は患者実態調査の設問項目をベースとした(表1)。

### 3. 国民生活基礎調査と対照群調査の比較

対照群調査はモニター調査方式を採用しているため、一般国民の無作為抽出ではないことが懸念される。そこで国民生活基礎調査結果と対照群調査の結果の比較を行った。

対照群調査における回答者の居住地は、福岡県、長崎県、大阪府の3府県で全体の約8割を占めていたため、3府県に限定して国民生活基礎調査の集計データを再集計し、対照群調査と比較した。設問のうち「疾病に関する事項」および「悩みやストレスに関する事項」を比較項目とした。

### 4. 患者実態調査と対照群調査の比較

患者実態調査および対照群調査それぞれの回答者総数(患者実態調査:n=1131, 対照群調査:n=1212)に占める各設問の回答者の割合をそれぞれ比較した。

なお、患者実態調査と対照群調査では年齢階級の回収割合が異なっているため、患者実態調査の年齢階級別割合に合わせて対照群調査の回答数を補正した。それらの補正值をもとに回答者の割合を算出し、比較分析に用いた。

#### 4-1. 分析の視点

本研究では、「これまでにかかったことのある病気」について、次の4つの視点で比較を行った。1) 油症の診断基準<sup>8)</sup>に含まれる症状との関係、2) 患者実態調査で得られた結果(症状)のうち油症一斉検診時のPeCDF濃度との間で強い関連が認められた症状<sup>3)</sup>との関係、3) 油症一斉検診で得られた症状のうち血中PeCDF、PCB、PCQ濃度との関係が強いと評価された症状<sup>4)</sup>との関係、4) 新たに油症との関連の検討が必要と考えられる症状について解析した。

## 4-2. 結果の比較

統計解析ソフトウェア PASW<sup>®</sup> Statistics 18 を用いたカイ二乗検定を実施した。ただし、患者実態調査では油症患者から、対照群調査ではモニターからそれぞれ客体を抽出したことにより、客体にバイアスがあると予測されることから、統計学的に有意差が認められた症状についても差の解釈が困難な場合がある。

そこで本研究においては、有意差があり、かつ差が1.5倍以上の開きがあった症状について「回答割合が高い」と表現した。ただし、「これまでになかったことのある病気」で「なかったことのある」と回答した人の割合が両調査とも1%未満の症状については、回答者の人数が少ないため評価しないこととした。

## 結 果

### 1. 対照群調査

1,212名から回答が得られた（回収率67.3%）。回答者の居住地は、福岡県、長崎県、大阪府で全体の約8割を占めていた（表2）。男性は572名（47.2%）、女性は640名（52.8%）であった。回答者の年齢は男女ともに70代が最も多く、30代が最も少なかったが、男女における差は少なかった（表3）。

### 2. 国民生活基礎調査と対照群調査の比較

症状がある、悩みやストレスがある等の回答割合は、対照群調査の方が国民生活基礎調査よりも総じて高い傾向であった（表4～7）。

「高血圧」、「高脂血症」、「骨粗しょう症」などの割合は両調査でほぼ同等であったが、「糖尿病」の割合は、国民生活基礎調査が10%程度であるのに対し、対照群調査では6%と低くなっていた（表4）。

### 3. 患者実態調査と対照群調査の比較

患者実態調査と対照群調査における「これまでになかったことのある病気」についての比較結果を表8～28に示す。対照群調査と比べると、総じて患者実態調査の方が「これまでになかったことのある」との回答割合が高い傾向であった。とくに油症診断基準に含まれる症状やPeCDF濃度、PCB、PCQ濃度との関連が強いと評価された症

状の大半で回答割合に差が認められた。

なお、カイ二乗検定の結果有意差がみられた症状については、表8～28において有意水準を付記した。表中の「対象群（補正）」は、患者実態調査の年齢階級別割合に合わせて対照群調査の回答数を補正した値である。

### 3-1. 油症診断基準に含まれる症状における比較

油症診断基準に含まれる次の症状において、油症患者群の回答割合が1.5倍以上高かった。「頭痛」および「頭重」（表8）、「眼脂過多（めやに）」「眼瞼腺からのチーズ状分泌物」「結膜の色素沈着」（表10）、「歯牙形成不全」「歯肉の色素沈着」（表11）、「慢性気管支炎」、「たん」（表14）、「過多月経」「過少月経」（表22）、「全身倦怠感」および「手足のしびれ」（表28）。「皮膚・爪の病気」については、油症診断基準に含まれる全ての症状で油症患者群の回答割合が1.5倍以上高かった（表25）。

「せき」については油症患者群の回答割合が有意に高かったものの、1.5倍以上の差は認められず、「肝臓・胆のう・脾臓の病気」では、油症診断基準には血清 $\gamma$ -GTPの増加が含まれているが、「肝機能障害」としてとらえると油症患者群の回答割合が1.5倍以上高かった（表17）。「月経不順」については、本解析においては有意な差は認められなかった（表22）。

### 3-2. 先行研究でPeCDF濃度と関連が強いと報告された症状における比較

先行研究でPeCDF濃度との関連が強いと評価された次の症状において、油症患者群の回答割合が1.5倍以上高かった。「頭痛」「神経痛」「認知症」「もの忘れ」（表8）、「多汗症」「不眠」（表9）、「眼脂過多（めやに）」「眼瞼腺からのチーズ状分泌物」「結膜の色素沈着」（表10）、「歯肉の色素沈着」（表11）、「鼻血が止まりにくい」（表12）、「風邪が治りにくい」（表14）、「心肥大」「動悸」（表15）、「動脈硬化」（表16）、「糖尿病」（表18）、「十二指腸潰瘍」（男性で差が顕著、表20）、「高脂血症」（表21）、「骨粗しょう症」「骨の変形」（表24）、「爪の変形」「粉瘤（皮膚のふくら）」「紫斑（内出血）」（表25）、「手足のしびれ」（表28）である。

「白内障」(表10)、「高血圧」(表16)は油症患者群の回答割合が有意に高かったものの、1.5倍以上の差は認められなかった。「強皮症」は、油症患者の回答割合が有意に高かったものの、有症状者が両群ともに1%以下と少なく、有意差の評価は難しいと考えられた(表27)。

一方、先行研究で関連が報告されている「脳梗塞」(表8)、「緑内障」(表10)、「メニエール病」(表12)では有意な差が見られなかった。「静脈炎」(表16)、「すい臓がん」(表18)、「大腸がん」(表20)、「胃がん」(表20)、「シェーグレン症候群」(表27)も有意な差は認められなかったが、有症状者が1%以下と少なかったために判断できなかった。

「近視」は、対照群の回答割合が有意に高いという結果が得られた(表10)。「悪性リンパ腫」も対照群が有意に高いという結果が得られたが、有症状者が両群ともに1%以下と少なく、有意差の評価は難しいと考えられた(表21)。

### 3-3. 先行研究で血中 PeCDF, PCB, PCQ 濃度と関連が強いと報告されている症状における比較

先行研究で PeCDF, PCB, PCQ 濃度との関連が強いと評価された次の症状において、油症患者群の回答割合が1.5倍以上高かった。「頭痛」「頭重」(表8)、「眼脂過多(めやに)」(表10)、「歯肉の色素沈着」(表11)、「関節痛」(表24)、「ざ瘡(にきび)」「爪の変形」(表25)、「全身倦怠感(体がだるい)」「手足のしびれ」(表28)である。

### 3-4. 新たに油症との関連の検討が必要と考えられる症状

先行研究では指摘されていない次の症状でも差が見られた。「躁うつ病」「統合失調症」「幻覚」「かっとなりやすい・短気」(表8)、「起立性低血圧」「過敏性腸症候群」「汗が出にくい」「不安神経症」「自律神経失調症」(表9)、「弱視」(表10)、「歯周病(歯槽膿漏)」「顎関節症」「味覚異常」「口内炎になりやすい」「虫歯になりやすい」「歯の知覚過敏」(表11)、「めまい」「鼻炎を起こしやすい」「難聴」「鼻血がよく出る」(表12)、「バセドウ病」「甲状腺機能低下症」(表13)、「肺がん」「嗚声(声がかれる)」「呼吸困難」「息切れ」「風邪を引きやすい」(表14)、「心不全」「不整脈」「頻脈」(表15)、「低血圧」「静脈瘤」(表16)、「B型肝炎」「胆石症」(表17)、「すい炎」(表18)、「腎炎」「血尿」「蛋白尿」(表19)、「大腸ポリープ」「慢性胃炎」「腸閉塞」「腹部膨満感(おなかが張る)」(表20)、「リンパ節の腫大」(表21)、「椎間板ヘルニア」「ガングリオン」「骨痛」(表24)、「掌蹠膿疱症」「湿疹がしやすい」「皮膚の瘙痒(かゆみ)」「乾燥肌(さめ肌)」「脱毛」「白斑」(表25)、「喘息」および「薬物アレルギー」(表26)、「関節リウマチ」(表27)、「体がつる」「のどがつる」「筋肉の痛み」「体がむくむ」(表28)である。

## 考 察

国民生活基礎調査との比較では、対照群調査の方が総じて高い傾向が見られたが、対照群調査がモニター調査方式を採用したものであり一般国民から無作為抽出された対象者ではないことが影響した可能性が考えられる。また、国民生活基礎調査は調査時点で感じている自覚症状や通院の要因となっている傷病数を集計しているため、対照群調査や油症患者実態調査で用いられた「これまでにかかったことのある…」というものと質問形式が異なる点も影響すると考えられる。質問形式が影響する可能性の少ない高血圧、高脂血症、骨粗しょう症などの割合は両調査でほぼ同等であったため、モニター調査方式で行った対照群調査と患者実態調査を比較し油症患者の健康状態を解析することが可能であろうと考えられる。なお、糖尿病の割合は、国民生活基礎調査、患者実態調査ともに10%程度であるのに対し、対照群調査では6%と低くなっているが理由は不明である。

対照群調査と比べると油症患者実態調査の回答割合が高い傾向であった。特に油症診断基準に含まれる症状や先行研究で PeCDF 濃度、PCB、PCQ 濃度との関連が強いと報告されている症状の大半で差が見られた。しかし、油症診断基準に含まれず、先行研究でも関連が指摘されていない症状でも、差が大きいものもあり、今後各領域の専門家によるさらに詳細な検討が必要である。

先行研究で PeCDF 濃度との関連が強いと指摘<sup>3)</sup>されていたにもかかわらず、本解析においては有意な差が認められなかった項目もあった。静脈炎、すい臓がん、胃がん、大腸がん、シェーグレン症候群については、回答者人数が少なかった

ことが影響したのではないかと考えられる。また、脳梗塞、緑内障については、先行研究<sup>3)</sup>において、年齢補正を含んでいない対象患者全体に対して関連があるとされている項目である。PeCDF 濃度は年齢と関係があると考えられているが<sup>9)~11)</sup>、本調査においては年齢による修正を行ったため、差が認められなかった可能性がある。

近視は対照群が有意に高く、PeCDF 濃度が高いほど近視になりにくいという結果が得られたが、この理由は本解析結果からは推測できない。悪性リンパ腫も対照群の回答割合が有意に高いという結果が得られたが、回答者人数が少ないことが影響している可能性も考えられる。メニエール病についても有意差は得られなかったが、これらについてはさらなる検証が必要である。

自律神経失調症やめまい、動悸などについては本人の訴えによる面もあるため、差の有無について今回調査の結果だけで判断することは難しい。大腸ポリープやB型肝炎は、健診等を受ける機会が多い油症患者群の方がより発見率が高いということも考えられる。

本研究においては、有意差があり、かつ1.5倍以上の差があった症状について「回答割合が高い」と表現したが、カイ二乗検定で有意差が認められたものの、1.5倍以上の差がなかった症状については今後の検討課題となる。今回得られた有意差が油症によるものか否かを別途調査も踏まえつつ慎重に見極めてゆく必要がある。また、1.5倍以上の差が認められた場合でも、油症患者あるいは対照群における有病者数が1%未満のものについては、本解析結果のみからの評価は難しい。こうしたケースについても今後さらなる検討が必要である。

先に述べた生活基礎調査の項目と同じく、「これまでにかかった病気」の項目でも無作為抽出した一般国民を対象にしたものよりも対照群調査の結果の方が高い値が出ている可能性がある（いわゆる「over-estimate」）。そのような中で、対照群調査の値と比べて患者実態調査の回答割合が高かった点は注目すべきことであり、実態をさらに検証する必要がある。

## 研究の限界

本研究における一般対照群の調査はFAXによ

るアンケート調査であるため、調査対象者が各病名を正しく理解しているかは確認できない。また、両調査ともにアンケート調査であるため、本人の訴え（自己申告）が結果に少なからず影響していると考えられる。本解析結果だけで判断するのが難しい項目もあり、今後各分野の専門家によるさらなる検討が必要であると考えられる。

## 結 語

平成20年度に実施されたカネミ油症患者健康実態調査結果と、一般人（対照群）を対象とした健康実態調査結果を比較したところ、総じて油症患者で高い割合であった。新たに油症との関連が示唆された症状もあり、今後のさらなる検討が必要である。

## 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. (Suppl 1) : S3-S10, 2005.
- 2) 小栗一太, 赤峰昭文, 古江増隆編: 油症30年の歩み, 九州大学出版会, ISBN 4-87378-642-8.
- 3) Yoshimura T : Yusho : 43 years later. Kaohsiung J Med Sci. 28 (7 Suppl) : S49-52, 2012.
- 4) 赤羽学, 松本伸哉, 今村知明, 神奈川芳行: カネミ油症患者の症状と2,3,4,7,8-PeCDF濃度の関係に関する研究: 熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究. 平成22年度総括・分担研究報告書, 平成23年3月.
- 5) 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: 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. 福岡医学雑誌 100 : 166-171, 2009.
- 6) 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. Environ Health 7 : 47, 2008.
- 7) 「油症患者に係る健康実態調査結果の報告」

- <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r98520000005hks.html>
- 8) 油症診断基準 (2004年9月29日補遺).
  - 9) 松本伸哉, 赤羽学, 神奈川芳行, 梶原淳睦, 戸高尊, 千葉貴人, 安川史子, 内博史, 古江増隆, 今村知明: 血中ダイオキシン類の半減期の関係と想定される代謝機構. 福岡医学雑誌 102(4) : 92-99, 2011
  - 10) Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M and Imamura T : Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. BMC Res Notes. 3 : 129, 2010.
  - 11) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Imamura T : Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood : correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. Chemosphere. 92 (7) : 772-777, 2013.

(Received for publication March 16, 2015)

表1 調査項目

項目	設問番号	設問
回答者属性	F1	性別
	F2	生年月日
	F3	居住地
	F4	身長
	F5	体重
生活習慣について	Q1	1日の歩行時間
	Q2	運動する頻度
	Q3	飲酒頻度、飲酒量
	Q4	喫煙の有無、本数、やめた時期
	Q5	睡眠時間
健康・悩み・ストレスについて	Q6	1日の労働時間
	Q7	日常生活でのストレスの有無
	Q8	ストレスの原因
	Q9	入院・介護施設入所の有無
	Q10	要介護認定の有無
介護や日常生活動作の状況について	Q11	要介護度
	Q12	要介護状態になった原因
	Q13	介助なしに行える動作
	Q14	行うことができない日常生活動作(※)
	Q15	診断名の認知度(※)
	Q16	運動器障害による通院治療の有無(※)
	Q17	今後まで生きたいか(※)
	Q18	これまでにかかったことのある病気
	Q19	初婚・閉経の有無、時期
	Q20	これまでにかかったことのある病気(子宮・卵巣・婦人科系)
【女性のみ対象の設問】	Q21	不妊症の有無、妊娠回数
	Q22	1回目の妊娠について(妊娠中の異常、新生児の異常等)
	Q23	2回目の妊娠について(妊娠中の異常、新生児の異常等)
	Q24	3回目の妊娠について(妊娠中の異常、新生児の異常等)

※油症患者健康実態調査にない設問

表2 対象者数 (地域別)

	福岡県	大阪	長崎県	広島県	山口県	その他	計
回収数(件)	543	258	147	146	41	77	1,212
構成比	44.8%	21.3%	12.1%	12.0%	3.4%	6.4%	100.0%

表3 対象者数 (男女別)

	30代	40代	50代	60代	70代	80代	計
男	回収数(件)	63	105	101	90	135	78
	構成比	11.0%	18.4%	17.7%	15.7%	23.6%	13.6%
女	回収数(件)	68	85	110	115	137	125
	構成比	10.6%	13.3%	17.2%	18.0%	21.4%	19.5%
							640
							100.0%

表4 対照群調査と国民生活基礎調査との比較（「総傷病数」の抜粋）

	計						男性						女性					
	国民生活		対照群		割合		国民生活		対照群		割合		国民生活		対照群		割合	
	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県
N	1,589	516	1,212	100.0%	100.0%	689	225	572	100.0%	100.0%	920	291	640	100.0%	100.0%	640	291	100.0%
眼の病気	192	77	528	12.1%	14.9%	69	28	378	10.3%	12.4%	122	50	449	13.3%	17.2%	172	50	70.2%
高血圧	392	158	352	24.7%	30.6%	174	69	174	26.0%	30.7%	218	90	178	23.7%	30.9%	278	90	27.8%
糖尿病	165	48	72	10.4%	9.3%	99	25	52	14.8%	11.1%	66	23	20	7.2%	7.9%	20	7.2%	3.1%
高脂血症	143	50	102	9.0%	9.7%	53	17	78	7.9%	8.4%	91	30	50	9.1%	9.9%	30	9.9%	7.8%
前立腺肥大						42	17	78	6.3%	7.6%	13.6%							
骨粗しょう症	62	22	70	3.9%	4.3%	5	2	11	0.7%	0.9%	58	20	59	6.3%	6.9%	6.9%	20	9.2%
アレルギー性鼻炎	72	19	210	4.5%	3.7%	32	9	96	4.5%	4.0%	40	10	114	4.3%	3.4%	3.4%	10	17.8%
喘息	60	20	70	3.8%	3.9%	30	11	37	4.5%	4.9%	30	9	33	3.3%	3.3%	3.3%	9	5.2%
(腰痛症)	245	91	584	15.4%	17.6%	90	37	277	13.5%	16.4%	155	55	307	16.8%	18.9%	16.8%	55	48.0%

「国民生活基礎調査」の「第22表 総傷病数、性・年齢・傷病・都道府県-18大都市別」を元に加工した。

表5 対照群調査と国民生活基礎調査との比較（「総症状数」の抜粋）

	計						男性						女性					
	国民生活		対照群		割合		国民生活		対照群		割合		国民生活		対照群		割合	
	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県	福岡県	長崎県
N	1,707	493	1,212	100.0%	100.0%	700	206	572	100.0%	100.0%	1,008	287	640	100.0%	100.0%	640	287	100.0%
もの忘れ	228	64	159	14.5%	10.5%	84	20	65	12.0%	8.9%	144	35	94	15.7%	12.0%	14.7%	35	14.7%
腰痛	538	173	584	35.1%	33.5%	218	69	277	32.6%	30.7%	340	104	307	37.0%	35.7%	35.7%	104	48.0%

「国民生活基礎調査」の「第19表 総症状数、性・年齢・傷病・都道府県-18大都市別」を元に加工した。

表6 対照群調査と国民生活基礎調査との比較（悩みやストレスの有無）

	総数						男性						女性					
	国民生活		対照群		割合		国民生活		対照群		割合		国民生活		対照群		割合	
	全国	福岡県	長崎県															
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
悩みやストレスあり	48.7%	49.0%	44.8%	44.7%	43.9%	40.3%	62.2%	52.3%	53.3%	48.7%	67.3%	44.6%	45.4%	46.4%	34.6%	40.8%	41.1%	42.4%
悩みやストレスなし	6.7%	5.6%	8.8%	6.4%	5.7%	8.7%	0.3%	7.0%	5.6%	8.9%	0.6%	6.7%	5.6%	8.9%	0.6%	5.6%	8.9%	

「国民生活基礎調査」の「第9表 世帯人員数、悩みやストレスの有無-性・年齢・都道府県-18大都市別」を元に加工した。

表7 対照群調査と国民生活基礎調査との比較（悩みやストレスの原因）

	総数			男性			女性		
	国民生活			国民生活			国民生活		
	全国	福岡県	長崎県	全国	福岡県	長崎県	全国	福岡県	長崎県
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
家族との人間関係	8.0%	14.9%	14.2%	5.2%	10.1%	10.1%	10.5%	10.5%	17.1%
家族以外との人間関係	8.0%	17.8%	17.5%	6.6%	14.5%	14.5%	9.3%	9.3%	19.6%
恋愛・性に関すること	1.0%	4.7%	3.3%	1.2%	3.1%	3.1%	0.9%	0.9%	3.4%
結婚	1.2%	2.4%	2.2%	1.4%	2.6%	2.6%	1.0%	1.0%	1.9%
離婚	0.5%	0.9%	0.9%	0.4%	0.9%	0.9%	0.5%	0.5%	0.9%
いじめ、セクシュアル・ハラスメント	0.4%	0.9%	0.9%	0.3%	0.9%	0.9%	0.8%	0.8%	0.9%
生きがいに關すること	5.4%	10.8%	9.6%	4.9%	11.0%	11.0%	5.7%	5.7%	8.7%
自由にできる時間がない	4.9%	10.3%	8.9%	4.2%	7.5%	7.5%	5.5%	5.5%	9.9%
収入・家計・借金等	15.6%	30.1%	29.1%	15.0%	33.9%	29.8%	16.1%	16.1%	28.6%
自分の病気や介護	10.4%	18.4%	20.5%	8.8%	20.2%	20.2%	11.9%	11.9%	20.8%
家族の病気や介護	7.6%	12.5%	12.2%	5.6%	11.9%	9.6%	9.3%	9.3%	14.0%
妊娠・出産	0.6%	1.3%	1.1%	0.1%	0.5%	0.5%	1.0%	1.0%	1.9%
育児	2.3%	4.8%	3.8%	0.7%	4.2%	4.2%	1.7%	1.7%	5.9%
家事	2.8%	5.1%	4.9%	0.7%	4.9%	4.9%	4.7%	4.7%	7.1%
自分の学業・受験・進学	0.6%	0.9%	0.9%	0.4%	0.9%	0.9%	0.8%	0.8%	0.9%
子どもの教育	5.4%	9.2%	8.0%	3.1%	8.0%	5.3%	7.4%	7.4%	9.9%
自分の仕事	16.9%	34.3%	31.8%	21.4%	42.1%	42.1%	12.7%	12.7%	24.5%
家族の仕事	3.4%	5.8%	6.7%	1.9%	4.4%	4.4%	4.8%	4.8%	8.4%
住まいや生活環境	5.0%	10.1%	8.9%	4.0%	7.0%	7.0%	5.8%	5.8%	10.2%
その他	3.7%	7.1%	6.7%	2.9%	6.6%	6.6%	4.4%	4.4%	6.8%
わからない	0.8%	1.8%	2.0%	0.8%	2.2%	2.2%	0.9%	0.9%	1.9%
不明	2.7%	5.4%	6.5%	2.6%	7.0%	7.0%	2.8%	2.8%	6.2%

注：「国民生活基礎調査」の「第9表 世帯人員数、世帯人員数、悩みやストレスの有無・性・年齢・都道府県-18大都市別」を元に加工した。



	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
女性	0.7%	0.3%	0.0%	1.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.9%	0.0%	0.0%	0.0%	2.0%	0.8%
脳梗塞	0.2%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.8%
脳卒中	5.0%	2.8%	0.0%	1.5%	0.0%	0.0%	1.7%	0.9%	6.7%	1.7%	7.6%	4.4%	11.1%	6.4%
頭痛	47.3%	26.4%	55.6%	33.8%	29.4%	35.5%	46.2%	36.4%	56.7%	21.7%	54.6%	24.8%	43.4%	17.6%
頭重	22.5%	5.8%	11.1%	5.9%	12.9%	3.5%	20.5%	7.3%	28.0%	3.5%	34.5%	9.5%	21.2%	4.0%
神経痛	21.0%	8.1%	5.6%	1.5%	10.5%	5.9%	12.0%	8.2%	20.2%	5.2%	33.6%	13.1%	33.3%	10.4%
知的障害	1.0%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.7%	0.0%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%
腸うつ病	9.8%	2.8%	16.7%	2.9%	8.9%	2.4%	2.4%	1.8%	15.4%	0.0%	10.1%	3.6%	5.1%	5.6%
統合失調症	1.5%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	2.9%	0.0%	4.2%	0.0%	1.0%	0.0%
幻覚	2.9%	2.2%	5.6%	0.0%	0.0%	0.0%	3.4%	0.0%	2.9%	0.0%	3.4%	1.5%	5.1%	9.6%
認知症	4.8%	1.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	3.4%	2.2%	22.2%	4.0%
もの忘れ	31.8%	14.7%	16.7%	2.9%	13.7%	9.4%	21.4%	8.2%	35.6%	13.9%	48.7%	21.2%	45.5%	24.0%
かっとなりやすい・短気	14.3%	4.7%	22.2%	5.9%	12.1%	5.9%	14.5%	3.6%	19.2%	5.2%	10.1%	4.4%	15.2%	4.0%
その他	0.2%	3.1%	0.0%	4.4%	0.0%	0.0%	0.9%	0.9%	0.0%	0.9%	0.0%	3.6%	0.0%	8.0%

表9 疾患割合の比較 (自律神経系の病気)

病名	計						男性						女性						
	患者群		対照群		割合		患者群		対照群		割合		患者群		対照群		割合		
	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合	
起立性低血圧	50	1.6%	16	0.5%	1.4%	34	2	0.7%	0.4%	52	1.6%	14	0.4%	52	1.6%	12	0.4%	2.4%	1.9%
過動性腸膀胱群	70	2.3%	23	0.8%	2.6%	35	1.3%	1.3%	35	1.0%	1.0%	16	0.5%	38	1.1%	23	0.7%	2.7%	2.0%
多汗症	185	6.1%	57	1.9%	3.1%	128	4.2%	4.4%	57	1.7%	1.7%	110	3.3%	18	0.5%	18.9%	3.2%	2.8%	2.2%
汗が出にくい	64	2.1%	11	0.4%	1.7%	53	1.8%	1.8%	11	0.3%	0.3%	43	1.3%	7	0.2%	8	0.2%	1.2%	1.2%
不眠	204	6.9%	123	4.2%	6.0%	81	2.8%	2.8%	104	3.1%	3.1%	54	1.6%	67	2.0%	32.7%	5.3%	11.7%	8.4%
不安神経症	158	5.3%	37	1.3%	2.4%	121	4.0%	4.0%	31	0.9%	0.9%	92	2.8%	16	0.5%	11.7%	1.8%	3.1%	2.4%
自律神経失調症	182	6.1%	85	2.9%	4.7%	97	3.3%	3.3%	85	2.6%	2.6%	45	1.4%	64	1.9%	23.6%	3.7%	11.0%	10.6%

P<0.0001, P<0.0000001

(男女別年齢層別)

病名	男性												女性											
	30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群																						
起立性低血圧	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
過動性腸膀胱群	8.2%	1.2%	0.0%	0.0%	6.0%	2.1%	7.5%	2.4%	9.7%	1.0%	1.1%	12.0%	0.5%	16.4%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%
多汗症	6.2%	3.0%	11.6%	6.1%	4.2%	1.1%	5.4%	2.8%	9.2%	3.4%	4.0%	5.4%	1.0%	13.3%	2.8%	1.5%	25.3%	2.9%	13.3%	2.0%	2.0%	4.2%	0.0%	0.0%
汗が出にくい	5.7%	1.0%	4.7%	2.3%	5.3%	1.6%	5.4%	0.5%	8.7%	1.5%	5.0%	0.7%	4.2%	0.0%	29.0%	14.0%	18.7%	10.4%	35.4%	7.8%	15.1%	33.7%	13.3%	0.0%
不眠	9.0%	2.6%	9.3%	3.8%	6.4%	2.1%	6.0%	1.4%	12.3%	2.8%	12.7%	3.3%	7.8%	2.0%	16.1%	10.1%	12.3%	1.4%	12.3%	2.8%	12.7%	3.3%	7.8%	2.0%
自律神経失調症	16.1%	7.5%	11.6%	6.8%	12.1%	6.8%	15.4%	10.4%	20.5%	6.8%	6.3%	15.1%	7.8%	23.6%	10.8%	23.1%	15.5%	15.5%	10.8%	23.1%	15.5%	17.2%	10.4%	10.4%
起立性低血圧	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
過動性腸膀胱群	6.2%	0.5%	0.0%	0.0%	5.0%	0.0%	4.0%	0.0%	6.6%	0.0%	1.3%	16.4%	1.3%	13.3%	2.0%	1.5%	25.3%	2.9%	13.3%	2.0%	2.0%	4.2%	0.0%	0.0%
多汗症	5.8%	2.3%	12.0%	6.0%	3.5%	1.9%	5.6%	3.0%	8.8%	3.3%	4.0%	5.4%	1.0%	13.3%	2.8%	1.5%	25.3%	2.9%	13.3%	2.0%	2.0%	4.2%	0.0%	0.0%
汗が出にくい	4.4%	0.7%	0.0%	1.5%	3.5%	1.0%	4.6%	1.0%	7.7%	1.1%	2.0%	0.0%	0.0%	29.0%	14.0%	18.7%	10.4%	35.4%	7.8%	15.1%	33.7%	13.3%	0.0%	0.0%
不眠	16.9%	9.4%	4.0%	4.8%	12.1%	7.6%	14.5%	10.9%	26.4%	10.0%	23.5%	11.1%	29.9%	10.5%	16.1%	10.1%	12.3%	1.4%	12.3%	2.8%	12.7%	3.3%	7.8%	2.0%
不安神経症	9.2%	1.8%	12.0%	1.8%	5.7%	1.9%	4.8%	2.0%	6.6%	2.2%	7.8%	1.5%	4.5%	0.0%	23.6%	10.8%	23.1%	15.5%	15.5%	10.8%	23.1%	15.5%	17.2%	10.4%
自律神経失調症	8.2%	3.8%	4.0%	3.2%	6.4%	3.8%	8.1%	5.0%	7.7%	3.3%	6.3%	11.9%	3.8%	23.6%	10.8%	23.1%	15.5%	15.5%	10.8%	23.1%	15.5%	17.2%	10.4%	10.4%
起立性低血圧	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
過動性腸膀胱群	10.2%	1.9%	0.0%	0.0%	7.3%	4.7%	11.1%	4.5%	12.5%	1.7%	12.8%	0.7%	9.1%	0.0%	16.1%	10.1%	12.3%	1.4%	12.3%	2.8%	12.7%	3.3%	7.8%	2.0%
多汗症	6.5%	3.6%	11.1%	11.8%	4.8%	0.0%	5.1%	2.7%	9.5%	3.5%	4.0%	5.4%	1.0%	13.3%	2.8%	1.5%	25.3%	2.9%	13.3%	2.0%	2.0%	4.2%	0.0%	0.0%
汗が出にくい	18.9%	2.8%	0.0%	0.0%	7.3%	4.7%	12.8%	5.5%	31.7%	1.7%	31.9%	2.2%	15.2%	2.4%	29.0%	14.0%	18.7%	10.4%	35.4%	7.8%	15.1%	33.7%	13.3%	0.0%
不眠	32.7%	11.3%	11.1%	2.9%	7.5%	2.4%	6.0%	0.0%	9.6%	1.7%	7.6%	1.5%	3.0%	0.0%	43.3%	23.1%	23.1%	15.5%	15.5%	10.8%	23.1%	15.5%	17.2%	10.4%
不安神経症	11.7%	3.4%	5.6%	5.8%	7.3%	2.4%	8.5%	0.9%	17.3%	3.5%	16.8%	5.1%	10.1%	3.2%	23.6%	10.8%	23.1%	15.5%	15.5%	10.8%	23.1%	15.5%	17.2%	10.4%
自律神経失調症	23.6%	10.8%	22.2%	10.3%	18.5%	10.8%	23.1%	15.5%	31.7%	9.6%	27.7%	8.6%	17.2%	10.4%	43.3%	23.1%	23.1%	15.5%	15.5%	10.8%	23.1%	15.5%	17.2%	10.4%



表 11 疾患割合の比較 (口の中の病気)

疾患	計						男性						女性					
	患者数		割合		患者数		割合		患者数		割合		患者数		割合			
	絶対数	対照群	患者群	対照群(補正)	患者群	対照群(補正)	絶対数	対照群	患者群	対照群(補正)	患者群	対照群(補正)	絶対数	対照群	患者群	対照群(補正)		
舌がん	110	1.1%	11	0.1%	26	0.2%	52	0.5%	33	0.3%	44	0.4%	58	0.6%	107	1.1%		
歯肉炎	24	0.2%	2	0.0%	9	0.1%	1	0.0%	1	0.0%	5	0.0%	1	0.0%	1	0.0%		
歯肉形成不全	47	0.4%	2	0.0%	1	0.0%	1	0.0%	1	0.0%	1	0.0%	1	0.0%	1	0.0%		
歯肉腫(歯肉腫瘍)	154	1.5%	205	2.0%	222	2.2%	143	1.4%	152	1.5%	132	1.3%	176	1.8%	132	1.3%		
歯肉炎	214	2.1%	184	1.8%	100	1.0%	100	1.0%	100	1.0%	14	0.1%	75	0.8%	50	0.5%		
顎関節症	51	0.5%	37	0.4%	17	0.2%	3	0.0%	3	0.0%	45	0.5%	39	0.4%	45	0.5%		
顎関節症	44	0.4%	10	0.1%	4	0.0%	8	0.0%	3	0.0%	16	0.2%	16	0.2%	16	0.2%		
歯肉の色素沈着(歯茎が黒い)	379	3.8%	28	0.3%	26	0.3%	7	0.0%	18	0.2%	18	0.2%	18	0.2%	18	0.2%		
口内炎になりやすい	469	4.7%	364	3.6%	176	1.8%	73	0.8%	70	0.7%	118	1.2%	118	1.2%	118	1.2%		
歯肉の色素沈着(歯茎が黒い)	497	5.0%	372	3.7%	224	2.2%	171	1.7%	172	1.7%	152	1.5%	152	1.5%	152	1.5%		
歯の知覚過敏(歯がしみる)	361	3.6%	243	2.4%	161	1.6%	84	0.8%	84	0.8%	201	2.0%	201	2.0%	201	2.0%		

P<0.05\*\*\* - P<0.01\*\*\* - P<0.001\*\*\*\*

(男女別年齢層別)

疾患	男性												女性											
	30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群
舌がん	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
歯肉形成不全	2.7%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
歯肉腫(歯肉腫瘍)	40.7%	26.6%	16.0%	19.0%	38.7%	21.8%	50.5%	21.8%	60.8%	41.1%	60.8%	28.9%	40.3%	32.1%	18.2%	14.7%	12.0%	12.7%	10.6%	14.3%	20.2%	13.3%	22.5%	18.5%
歯肉炎	3.5%	1.2%	8.0%	1.6%	2.6%	0.0%	4.6%	4.0%	1.1%	1.0%	0.7%	4.5%	0.0%	1.2%	1.0%	0.0%	3.2%	1.4%	1.8%	1.4%	1.9%	21.8%	17.1%	
顎関節症	3.1%	1.0%	1.0%	0.0%	1.6%	1.0%	4.4%	3.5%	1.1%	1.0%	0.7%	4.5%	0.0%	1.8%	1.2%	1.0%	1.6%	1.5%	1.5%	1.5%	6.0%	1.5%	6.4%	
歯肉の色素沈着(歯茎が黒い)	18.0%	1.2%	12.0%	1.6%	20.4%	2.1%	24.1%	0.9%	20.5%	3.4%	21.7%	2.6%	13.3%	0.5%	13.8%	1.6%	18.4%	18.4%	19.9%	18.4%	19.9%	18.4%	19.9%	
口内炎になりやすい	30.9%	13.8%	16.0%	14.3%	30.5%	12.4%	32.3%	13.9%	34.1%	15.6%	17.6%	26.5%	12.8%	42.5%	21.3%	44.0%	25.4%	30.5%	31.1%	45.2%	24.6%	19.1%	25.3%	
歯肉の色素沈着(歯茎が黒い)	29.6%	14.9%	38.0%	14.3%	27.7%	17.1%	28.8%	16.9%	37.4%	15.6%	32.4%	16.3%	15.7%	15.8%	34.6%	14.3%	38.9%	32.3%	34.1%	44.4%	22.6%	18.2%	15.2%	

表12 疾患割合の比較 (耳・鼻の病気)

疾患	計				男性				女性			
	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群
耳	13.2%	1.3%	2.1%	100.0%	25.0%	2.7%	5.9%	100.0%	5.9%	1.1%	11.4%	100.0%
メニエール病	8.0	8.0	7.0%	7.5%	1.9	3.0%	3.3%	3.0%	6.0	11.4%	11.4%	10.0%
めまい	3.0	1.7%	32.4%	14.2%	1.7	24.9%	7.3%	7.3%	2.2	21.1%	21.1%	21.2%
中耳炎	1.6	3.0%	17.9%	18.1%	0.9	13.0%	17.9%	17.9%	0.9	15.6%	15.7%	15.4%
真珠腫性中耳炎	1.3	9	0.8%	0.6%	0	0.0%	0.7%	0.7%	0	0.7%	1.1%	1.1%
鼻	23.3	1.6%	16.7%	13.2%	12.2	22.2%	15.0%	15.0%	10.1	20.0%	11.4%	12.2%
アレルギー性鼻炎	22.3	8.4	14.9%	7.4%	11.1	20.4%	10.1%	10.1%	4.1	18.1%	2.5%	2.5%
慢性鼻炎	1.0	8.6	10.6%	8.8%	1.1	13.3%	8.8%	8.8%	5.0	9.1%	0.0%	0.0%
鼻血がよく出る	1.2	1.0	2.8%	2.5%	0.6	2.8%	2.8%	2.8%	1.4	11.4%	2.4%	2.4%
鼻血が止まりにくい	0.7	8	1.0%	0.3%	0.3	0.3%	0.3%	0.3%	0.3	2.9%	0.6%	0.6%

〈男女別年齢層別〉

疾患	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
メニエール病	7.6%	7.3%	0.0%	2.3%	3.4%	6.3%	4.6%	7.1%	11.3%	7.8%	12.7%	10.7%	9.6%	6.4%
めまい	32.4%	14.7%	23.3%	13.7%	20.4%	8.4%	28.2%	20.4%	43.6%	11.2%	42.1%	18.6%	33.7%	13.3%
中耳炎	14.9%	17.9%	20.9%	25.2%	26.4%	22.6%	13.3%	20.9%	8.7%	18.5%	11.3%	13.6%	9.0%	10.8%
真珠腫性中耳炎	1.1%	0.8%	2.3%	1.5%	2.6%	0.5%	0.8%	0.5%	0.0%	0.5%	1.4%	1.8%	0.0%	0.5%
鼻	24.1%	13.8%	20.9%	25.2%	25.7%	17.4%	25.7%	11.8%	29.2%	8.8%	20.8%	12.9%	15.7%	11.3%
アレルギー性鼻炎	19.7%	7.9%	9.3%	4.6%	10.6%	4.7%	10.8%	3.8%	23.1%	5.9%	27.6%	12.1%	35.5%	13.8%
慢性鼻炎	11.1%	8.7%	9.3%	8.4%	10.2%	8.4%	13.7%	10.4%	14.9%	9.3%	10.0%	8.9%	6.9%	5.4%
鼻血がよく出る	12.0%	2.6%	18.6%	6.1%	16.6%	3.2%	12.9%	2.4%	11.3%	1.0%	4.0%	10.2%	1.0%	0.0%
鼻血が止まりにくい	3.3%	0.8%	7.0%	0.8%	5.3%	0.5%	1.7%	0.0%	3.1%	0.0%	2.3%	2.2%	3.0%	1.0%
男性	患者群	対照群												
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
メニエール病	3.6%	3.3%	0.0%	3.2%	0.0%	2.9%	2.4%	5.0%	4.4%	1.1%	7.8%	4.4%	7.5%	2.6%
めまい	24.9%	7.3%	16.0%	7.9%	16.3%	3.9%	23.4%	11.9%	36.3%	1.1%	30.4%	11.9%	25.4%	5.1%
中耳炎	13.8%	17.3%	28.0%	27.0%	26.2%	21.9%	12.1%	20.6%	6.6%	15.6%	5.9%	14.1%	7.5%	6.4%
真珠腫性中耳炎	1.6%	0.7%	4.0%	3.2%	4.3%	1.0%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	0.0%	1.3%
鼻	22.2%	15.6%	16.0%	20.6%	21.3%	17.1%	21.8%	12.9%	23.1%	8.9%	24.5%	19.3%	22.4%	14.1%
アレルギー性鼻炎	20.4%	10.1%	8.0%	4.8%	12.1%	7.6%	10.5%	3.0%	20.9%	8.8%	33.3%	16.3%	40.3%	17.9%
慢性鼻炎	13.3%	8.9%	12.0%	9.2%	9.9%	5.7%	16.1%	8.9%	17.6%	8.9%	19.7%	14.1%	8.0%	9.0%
鼻血がよく出る	13.8%	2.8%	16.0%	7.9%	19.1%	3.9%	12.1%	3.0%	12.1%	0.0%	9.8%	3.6%	13.4%	0.0%
鼻血が止まりにくい	3.6%	0.9%	8.0%	0.0%	7.1%	1.0%	1.6%	0.0%	2.2%	0.0%	2.0%	2.2%	3.0%	1.3%
女性	患者群	対照群												
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
メニエール病	11.4%	10.8%	0.0%	1.5%	7.3%	10.6%	6.8%	9.1%	17.3%	13.0%	16.8%	16.8%	11.1%	8.8%
めまい	39.4%	21.3%	33.3%	19.1%	25.0%	14.1%	33.3%	28.2%	50.0%	19.1%	52.1%	25.5%	39.4%	18.4%
中耳炎	15.9%	18.4%	11.1%	23.5%	26.6%	23.5%	14.5%	20.9%	10.6%	20.9%	16.0%	13.1%	10.1%	13.6%
真珠腫性中耳炎	0.7%	1.1%	0.0%	0.0%	0.8%	0.0%	0.8%	0.8%	0.0%	0.9%	1.7%	3.6%	0.0%	0.0%
鼻	26.0%	12.2%	27.6%	29.4%	30.6%	17.6%	29.9%	10.9%	34.6%	8.7%	17.6%	6.5%	16.2%	9.6%
アレルギー性鼻炎	18.1%	5.9%	11.1%	4.4%	8.9%	1.2%	11.1%	4.5%	25.0%	3.5%	22.7%	8.0%	32.3%	11.2%
慢性鼻炎	9.1%	8.6%	5.6%	13.2%	10.5%	11.8%	11.1%	11.8%	12.5%	9.6%	6.7%	5.8%	5.1%	3.2%
鼻血がよく出る	11.4%	2.5%	22.2%	4.4%	13.7%	2.4%	13.7%	1.8%	10.6%	1.7%	8.4%	5.1%	8.1%	0.0%
鼻血が止まりにくい	2.9%	0.8%	5.6%	1.5%	3.2%	0.0%	1.7%	0.0%	3.8%	0.0%	2.5%	2.2%	3.0%	0.6%

表 13 疾患割合の比較 (甲状腺の病気)

疾患	30代				40代				50代				60代				70代				80代以上			
	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群	患者群	対照群		
甲状腺がん	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
甲状腺腫	14	11	7	0.7%	1.2%	0.7%	1.0%	0.5%	0.4%	0.5%	0.4%	0.5%	0.4%	0.5%	0.4%	0.5%	0.4%	0.5%	0.4%	0.5%	0.4%	0.5%		
慢性甲状腺炎	10	1	2	0.9%	0.1%	0.5%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%		
バセドウ病	22	6	7	1.9%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%		
甲状腺機能低下症	30	13	14	3.2%	1.1%	1.2%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		

P<0.05\*\*\* : P<0.05\*\*

〈男女別年齢層別〉

疾患	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群	患者群	対照群										
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
甲状腺がん	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.4%	0.5%	1.0%	0.5%	0.9%	0.0%	1.8%	
甲状腺腫	1.2%	0.9%	0.0%	0.8%	0.8%	1.6%	0.4%	0.9%	1.5%	1.0%	1.8%	0.4%	2.4%	
慢性甲状腺炎	0.9%	0.2%	2.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.5%	0.0%	0.0%	1.8%	0.5%	
バセドウ病	1.8%	0.6%	0.0%	0.8%	1.5%	0.0%	2.8%	0.9%	3.1%	1.0%	1.8%	0.4%	0.8%	
甲状腺機能低下症	3.2%	1.2%	0.0%	0.0%	1.1%	0.5%	2.5%	1.9%	5.1%	1.0%	6.9%	0.4%	3.0%	
男性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
甲状腺がん	0.4%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
甲状腺腫	0.2%	0.5%	0.0%	0.0%	0.7%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.5%	
慢性甲状腺炎	0.7%	0.2%	4.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	2.0%	0.0%	0.0%	
バセドウ病	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	1.0%	0.0%	1.1%	0.0%	0.0%	0.0%	
甲状腺機能低下症	1.3%	0.3%	0.0%	0.0%	1.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	4.9%	0.0%	0.0%	1.3%	
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
甲状腺がん	1.0%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	1.2%	0.9%	0.0%	1.9%	0.9%	0.0%	2.0%	1.6%	
甲状腺腫	2.2%	1.3%	0.0%	1.5%	0.8%	2.4%	0.8%	1.8%	2.8%	1.7%	3.4%	0.7%	4.0%	
慢性甲状腺炎	1.0%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.0%	0.0%	0.0%	1.7%	0.0%	0.0%	
バセドウ病	3.6%	0.6%	0.0%	1.5%	3.2%	0.0%	5.1%	0.9%	5.8%	0.8%	3.4%	0.7%	1.0%	
甲状腺機能低下症	5.0%	1.8%	0.0%	0.0%	1.2%	0.8%	5.1%	3.6%	9.6%	1.7%	7.6%	0.0%	4.0%	

表 14 疾患割合の比較 (のど・気管支・肺の病気)

疾患	患者群		対照群													
	人数	割合 (%)														
のど	14	0.4%	5	0.4%	3	0.1%	1	0.0%	3	1.0%	0	0.0%	3	0.9%	0	0.0%
気管支炎	1	0.0%	1	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.0%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
肺がん	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
肺水腫	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
肺気腫	23	0.7%	20	1.5%	16	1.2%	13	0.9%	17	5.1%	7	0.5%	11	3.1%	7	2.0%
肺動脈硬化	100	3.0%	88	6.5%	100	7.5%	85	6.2%	100	3.0%	85	6.2%	100	3.0%	85	6.2%
慢性気管支炎	111	3.3%	85	6.3%	111	8.3%	85	6.2%	111	3.3%	85	6.2%	111	3.3%	85	6.2%
呼吸器腫瘍	130	3.9%	87	6.5%	130	9.8%	87	6.5%	130	3.9%	87	6.5%	130	3.9%	87	6.5%
肺がん	200	6.0%	86	6.4%	200	15.0%	86	6.4%	200	6.0%	86	6.4%	200	6.0%	86	6.4%
慢性気管支炎	447	13.5%	176	13.0%	447	33.8%	176	13.0%	447	13.5%	176	13.0%	447	13.5%	176	13.0%
呼吸器腫瘍	352	10.5%	112	8.4%	352	26.7%	112	8.4%	352	10.5%	112	8.4%	352	10.5%	112	8.4%
肺がん	484	14.5%	416	31.1%	484	36.5%	416	31.1%	484	14.5%	416	31.1%	484	14.5%	416	31.1%
慢性気管支炎	851	25.5%	328	24.5%	851	64.1%	328	24.5%	851	25.5%	328	24.5%	851	25.5%	328	24.5%

(男女別年齢層別)

疾患	患者群		対照群																					
	人数	割合 (%)																						
のど	14	0.4%	5	0.4%	3	0.1%	1	0.0%	3	1.0%	0	0.0%	3	0.9%	0	0.0%	3	0.9%	0	0.0%	3	0.9%	0	0.0%
気管支炎	1	0.0%	1	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.0%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
肺がん	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
肺水腫	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
肺気腫	23	0.7%	20	1.5%	16	1.2%	13	0.9%	17	5.1%	7	0.5%	11	3.1%	7	2.0%	11	3.1%	7	2.0%	11	3.1%	7	2.0%
肺動脈硬化	100	3.0%	88	6.5%	100	7.5%	85	6.2%	100	3.0%	85	6.2%	100	3.0%	85	6.2%	100	3.0%	85	6.2%	100	3.0%	85	6.2%
慢性気管支炎	111	3.3%	85	6.3%	111	8.3%	85	6.2%	111	3.3%	85	6.2%	111	3.3%	85	6.2%	111	3.3%	85	6.2%	111	3.3%	85	6.2%
呼吸器腫瘍	130	3.9%	87	6.5%	130	9.8%	87	6.5%	130	3.9%	87	6.5%	130	3.9%	87	6.5%	130	3.9%	87	6.5%	130	3.9%	87	6.5%
肺がん	200	6.0%	86	6.4%	200	15.0%	86	6.4%	200	6.0%	86	6.4%	200	6.0%	86	6.4%	200	6.0%	86	6.4%	200	6.0%	86	6.4%
慢性気管支炎	447	13.5%	176	13.0%	447	33.8%	176	13.0%	447	13.5%	176	13.0%	447	13.5%	176	13.0%	447	13.5%	176	13.0%	447	13.5%	176	13.0%
呼吸器腫瘍	352	10.5%	112	8.4%	352	26.7%	112	8.4%	352	10.5%	112	8.4%	352	10.5%	112	8.4%	352	10.5%	112	8.4%	352	10.5%	112	8.4%
肺がん	484	14.5%	416	31.1%	484	36.5%	416	31.1%	484	14.5%	416	31.1%	484	14.5%	416	31.1%	484	14.5%	416	31.1%	484	14.5%	416	31.1%
慢性気管支炎	851	25.5%	328	24.5%	851	64.1%	328	24.5%	851	25.5%	328	24.5%	851	25.5%	328	24.5%	851	25.5%	328	24.5%	851	25.5%	328	24.5%

	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
文盲	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.9%	2.5%	0.7%	1.0%	0.0%
肺がん	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%
肺線維症	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
悪性肺	0.0%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
肺水腫	1.2%	1.1%	0.0%	0.0%	2.4%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.8%	1.7%	0.7%	1.0%	4.0%
肺炎	8.8%	7.7%	11.1%	5.8%	8.9%	7.1%	7.7%	8.2%	10.6%	5.2%	14.3%	8.0%	7.1%	10.4%
慢性気管支炎	9.9%	4.2%	5.6%	2.9%	10.5%	2.4%	3.4%	5.5%	13.5%	4.3%	13.4%	5.8%	8.1%	3.2%
喘息(悪化される)	12.0%	3.6%	0.0%	8.8%	5.6%	2.4%	11.1%	2.7%	19.2%	4.3%	16.8%	2.2%	13.1%	3.2%
呼吸困難	8.1%	2.5%	0.0%	1.5%	4.0%	2.4%	4.3%	4.5%	11.5%	0.9%	14.3%	2.2%	8.1%	3.2%
鼻切開	20.0%	8.1%	0.0%	2.9%	6.1%	4.7%	13.7%	7.3%	28.8%	5.2%	33.6%	12.4%	20.2%	12.0%
風邪を引くやまい	42.3%	15.5%	33.3%	22.1%	42.7%	18.8%	31.6%	10.0%	59.6%	14.8%	48.7%	16.1%	30.3%	14.4%
風邪が治りにくい	33.2%	11.1%	22.2%	11.8%	35.5%	17.0%	30.8%	10.0%	40.4%	12.2%	42.0%	9.5%	17.2%	8.0%
せき	41.7%	35.5%	33.3%	39.7%	29.0%	49.4%	32.5%	35.5%	52.8%	37.4%	56.3%	32.1%	40.4%	25.6%
たん	39.1%	24.8%	33.3%	33.8%	29.0%	25.8%	30.8%	21.8%	60.8%	29.1%	47.1%	23.4%	30.3%	22.4%

表 15 疾患割合の比較 (心臓の病気)

病名	計						男性						女性											
	30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群 対照群																							
心臓病	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%
心臓病	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%
心不全	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
心臓大	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%
不整脈	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%
動悸	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%

※ P<0.05\*\*\*, P<0.01\*\*

(男女別年齢層別)

病名	計																							
	30代				40代				50代				60代				70代				80歳以上			
	患者群 対照群																							
心臓病	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%
心臓病	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%	2.0%
心不全	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%	0.5%
心臓大	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%
不整脈	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%
動悸	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%

表 16 疾患割合の比較 (高血圧や血管の病気)

疾患	30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)								
高血圧	319	13.3%	352	14.1%	502	19.7%	562	22.1%	342	13.3%	199	7.7%
脳動脈硬化	143	5.7%	82	3.2%	36	1.4%	20	0.8%	21	0.8%	104	4.0%
脳静脈硬化	64	2.5%	31	1.2%	36	1.4%	24	0.9%	28	1.1%	32	1.2%
静脈炎	18	0.7%	11	0.4%	14	0.5%	11	0.4%	12	0.5%	4	0.1%
静脈瘤	3	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	3	0.1%
合計	537	21.3%	523	20.5%	628	24.6%	617	23.9%	423	16.3%	272	10.4%

\* P<0.05, \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001

(男女別年齢層別)

疾患	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)
高血圧	34.1%	100.0%	29.0%	0.0%	5.3%	9.8%	10.5%	26.1%	20.9%	45.1%	34.1%	50.2%	41.2%	59.0%
脳動脈硬化	1.26%	3.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
脳静脈硬化	0.57%	1.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
静脈炎	0.3%	0.9%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
静脈瘤	0.34%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
男性	34.0%	100.0%	30.4%	0.0%	7.8%	14.2%	1.0%	28.2%	0.0%	42.9%	0.0%	50.0%	0.0%	
女性	0.7%	2.1%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
高血圧	34.3%	100.0%	27.8%	0.0%	4.8%	5.9%	23.9%	16.4%	47.1%	37.4%	50.4%	38.0%	56.6%	
脳動脈硬化	1.79%	5.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
脳静脈硬化	0.6%	1.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
静脈炎	0.5%	1.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
静脈瘤	0.45%	1.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	

表 17 疾患割合の比較 (肝臓・胆のう・脾臓の病気)

疾患	30代			40代			50代			60代			70代			80代以上		
	患者群 1,821	対照群 1,821	割合 100.0%															
肝臓がん	13	9	1.1%	11	11	0.6%	7	4	0.4%	2	1	0.1%	4	2	0.2%	6	5	0.3%
胆のうがん	7	4	0.4%	9	10	0.5%	2	1	0.1%	1	1	0.0%	1	1	0.0%	2	1	0.1%
胆嚢炎	29	11	1.6%	12	23	0.7%	15	6	0.7%	5	2	0.3%	18	3	0.2%	18	3	0.1%
C型肝炎	24	16	1.3%	19	21	1.1%	9	7	0.5%	10	13	0.8%	10	10	0.7%	10	10	0.7%
肝臓病変	134	85	9.0%	117	121	6.4%	71	20	3.9%	21	20	1.4%	38	14	1.0%	91	15	0.6%
胆のう炎	20	23	1.6%	24	21	1.3%	13	14	0.9%	15	15	1.0%	15	13	0.9%	15	13	1.0%
胆石症	56	62	3.6%	68	84	4.8%	43	30	3.2%	30	32	2.2%	28	32	2.3%	32	36	2.6%
膵臓	17	19	1.2%	20	20	1.1%	14	14	1.0%	10	10	0.7%	10	10	0.7%	10	10	0.7%
脾臓	3	3	0.2%	3	3	0.2%	2	2	0.1%	2	2	0.1%	2	2	0.1%	2	2	0.1%

P<0.0001

(男女別年齢層別)

疾患	30代			40代			50代			60代			70代			80代以上		
	患者群 1,821	対照群 1,821	割合 100.0%															
全般	1.1%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%	2.6%	1.5%	1.4%	1.8%	2.4%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%
肝臓がん	0.2%	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%	0.5%	0.5%	0.5%	0.0%	0.4%	0.6%	1.0%	0.6%	1.0%	1.0%
胆のうがん	2.8%	1.0%	7.0%	0.8%	1.5%	0.0%	3.3%	1.4%	3.6%	1.0%	4.5%	1.5%	1.5%	0.6%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%
C型肝炎	2.1%	1.5%	0.0%	0.0%	1.1%	0.5%	1.7%	0.0%	3.1%	2.0%	3.7%	2.0%	3.7%	1.8%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%
肝臓病変	11.7%	2.8%	7.0%	6.8%	2.1%	1.1%	4.7%	10.8%	2.4%	14.5%	2.4%	14.5%	3.7%	11.4%	2.5%	2.5%	2.5%	2.5%
胆のう炎	2.5%	2.1%	2.3%	0.8%	0.4%	1.6%	2.5%	1.9%	2.6%	2.6%	2.9%	5.0%	1.5%	2.4%	3.4%	3.4%	3.4%	3.4%
胆石症	8.4%	5.6%	4.7%	3.1%	3.0%	2.1%	5.8%	5.2%	5.1%	8.6%	12.7%	7.4%	19.9%	3.4%	3.4%	3.4%	3.4%	3.4%
膵臓	2.0%	1.6%	0.0%	0.8%	0.8%	0.5%	1.7%	0.9%	4.1%	2.9%	5.0%	2.2%	2.4%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%
脾臓	0.6%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%	0.5%	0.5%	1.8%	0.7%	0.6%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
男性	1.3%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%	2.2%	2.2%	2.9%	1.5%	3.0%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%
肝臓がん	0.4%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.1%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%
胆のうがん	2.7%	1.0%	0.0%	1.6%	1.4%	0.0%	2.4%	3.0%	4.4%	1.1%	4.8%	0.7%	1.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
C型肝炎	1.5%	1.4%	0.0%	0.0%	1.0%	1.6%	1.6%	0.0%	3.3%	2.2%	2.8%	3.0%	3.0%	0.0%	1.3%	1.3%	1.3%	1.3%
肝臓病変	12.9%	3.5%	8.0%	1.6%	10.6%	3.8%	10.5%	6.9%	14.3%	2.2%	19.0%	3.0%	11.9%	3.0%	3.8%	3.8%	3.8%	3.8%
胆のう炎	2.4%	2.4%	0.0%	0.7%	2.8%	2.4%	2.4%	2.0%	2.2%	2.2%	5.3%	3.0%	1.5%	3.8%	3.8%	3.8%	3.8%	3.8%
胆石症	7.8%	5.6%	0.0%	1.8%	4.3%	1.9%	8.1%	5.0%	4.4%	10.0%	11.8%	8.1%	16.4%	5.1%	5.1%	5.1%	5.1%	5.1%
膵臓	2.2%	1.7%	0.0%	1.4%	0.0%	1.6%	0.8%	0.0%	3.5%	3.3%	2.8%	2.2%	3.0%	3.8%	3.8%	3.8%	3.8%	3.8%
脾臓	0.4%	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	1.1%	1.1%	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
女性	1.0%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.0%	2.9%	0.9%	0.9%	2.2%	2.0%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%	0.8%
肝臓がん	0.0%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.9%	0.0%	0.7%	0.0%	0.6%	0.6%	0.6%	0.6%
胆のうがん	3.1%	0.9%	16.7%	0.0%	1.6%	0.0%	0.0%	0.0%	2.9%	0.9%	4.3%	2.2%	3.0%	1.6%	1.6%	1.6%	1.6%	1.6%
C型肝炎	2.8%	1.5%	0.0%	0.0%	2.4%	0.0%	1.7%	0.0%	1.7%	1.7%	4.2%	4.4%	3.0%	1.6%	1.6%	1.6%	1.6%	1.6%
肝臓病変	10.5%	2.3%	5.6%	0.0%	2.4%	0.0%	12.0%	2.7%	19.2%	3.5%	10.1%	4.4%	11.1%	1.6%	1.6%	1.6%	1.6%	1.6%
胆のう炎	2.6%	1.7%	5.6%	0.0%	1.5%	0.0%	2.6%	1.6%	2.8%	4.2%	3.5%	3.2%	3.0%	3.2%	3.2%	3.2%	3.2%	3.2%
胆石症	9.0%	5.6%	11.1%	4.4%	1.6%	2.4%	3.4%	5.5%	5.8%	7.8%	19.4%	6.6%	22.2%	5.6%	5.6%	5.6%	5.6%	5.6%
膵臓	2.6%	1.4%	0.0%	0.0%	1.2%	0.0%	1.7%	1.8%	2.8%	2.6%	2.6%	2.2%	2.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
脾臓	0.9%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	2.5%	0.7%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%



表 19 疾患割合の比較 (腎臓・膀胱の病気)

疾患	一般		油症		腎臓		膀胱		合計	
	患者数	対照群 (%)								
腎臓がん	4	0.4%	3	0.4%	3	0.4%	3	0.4%	3	0.4%
膀胱がん	0	0%	3	0.4%	3	0.4%	3	0.4%	3	0.4%
腎炎	60	6.0%	42	5.0%	38	4.6%	38	4.6%	38	4.6%
尿酸炎	307	30.7%	170	17.0%	152	15.2%	152	15.2%	152	15.2%
腎臓結石	80	8.0%	53	5.3%	33	3.3%	33	3.3%	33	3.3%
尿管結石	86	8.6%	32	3.2%	53	5.3%	53	5.3%	53	5.3%
膀胱結石	14	1.4%	10	1.0%	12	1.2%	12	1.2%	12	1.2%
血尿	152	15.2%	70	7.0%	137	13.7%	92	9.2%	92	9.2%
蛋白尿	80	8.0%	54	5.4%	50	5.0%	48	4.8%	48	4.8%

(男女別年齢層別)

疾患	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)										
腎臓がん	4	0.4%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
膀胱がん	3	0.3%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
腎炎	60	6.0%	7	0.7%	15	1.5%	58	5.8%	7	0.7%	7	0.7%	0	0%
尿酸炎	307	30.7%	163	16.3%	130	13.0%	178	17.8%	185	18.5%	262	26.2%	120	12.0%
腎臓結石	80	8.0%	3	0.3%	2	0.2%	3	0.3%	4	0.4%	4	0.4%	0	0%
尿管結石	86	8.6%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
膀胱結石	14	1.4%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
血尿	152	15.2%	62	6.2%	61	6.1%	98	9.8%	11	1.1%	18	1.8%	2	0.2%
蛋白尿	80	8.0%	23	2.3%	6	0.6%	10	1.0%	3	0.3%	7	0.7%	0	0%

疾患	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)										
腎臓がん	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
膀胱がん	3	0.3%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
腎炎	60	6.0%	4	0.4%	10	1.0%	48	4.8%	11	1.1%	11	1.1%	0	0%
尿酸炎	307	30.7%	150	15.0%	125	12.5%	185	18.5%	200	20.0%	262	26.2%	120	12.0%
腎臓結石	80	8.0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
尿管結石	86	8.6%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
膀胱結石	14	1.4%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
血尿	152	15.2%	70	7.0%	68	6.8%	98	9.8%	11	1.1%	18	1.8%	2	0.2%
蛋白尿	80	8.0%	24	2.4%	6	0.6%	10	1.0%	3	0.3%	7	0.7%	0	0%

表20 疾患割合の比較 (食道・胃・腸・肛門の病気)

疾患	30代				40代				50代				60代				70代				80代以上			
	患者群 対照群																							
食道がん	1.9%	0.3%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
胃がん	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
大腸がん	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
大腸ポリープ	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
慢性胃炎	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
胃潰瘍	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
十二指腸潰瘍	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
肝臓	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
膵臓	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
胆嚢腫瘍(ななかみ球)	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		
膵臓がん	1.9%	1.1%	1.9%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%	1.1%		

〈男女別年齢層別〉

疾患	30代				40代				50代				60代				70代				80代以上			
	患者群 対照群																							
食道がん	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
胃がん	1.7%	1.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	1.5%	1.5%	1.5%	2.7%	2.2%	4.8%	1.5%	1.5%	2.2%	4.8%	1.5%	1.5%	2.2%	4.8%	
大腸がん	1.8%	1.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.8%	0.9%	3.1%	3.4%	3.6%	2.2%	1.8%	3.0%	1.5%	1.5%	2.2%	4.8%	1.5%	1.5%	2.2%	4.8%	
大腸ポリープ	12.3%	7.5%	4.7%	0.8%	3.4%	2.8%	9.5%	5.2%	15.4%	8.9%	20.8%	14.3%	17.5%	7.8%	17.5%	8.9%	20.8%	14.3%	17.5%	8.9%	20.8%	14.3%	17.5%	
慢性胃炎	11.2%	6.7%	11.6%	6.1%	4.2%	3.7%	12.9%	7.1%	17.6%	5.9%	14.0%	9.2%	8.4%	6.9%	17.6%	5.9%	14.0%	9.2%	8.4%	6.9%	17.6%	5.9%	14.0%	
胃潰瘍	13.1%	8.5%	4.7%	3.8%	10.6%	8.9%	13.3%	10.0%	15.9%	8.6%	17.2%	8.8%	10.2%	8.8%	17.2%	8.8%	17.2%	8.8%	10.2%	8.8%	17.2%	8.8%	10.2%	
十二指腸潰瘍	10.0%	5.5%	4.7%	2.3%	8.3%	4.2%	9.5%	6.2%	13.8%	7.8%	12.7%	7.0%	6.6%	3.9%	13.8%	7.8%	12.7%	7.0%	6.6%	3.9%	13.8%	7.8%	12.7%	
胆嚢腫	2.3%	0.8%	2.3%	0.8%	3.0%	1.7%	0.9%	1.5%	0.0%	3.6%	1.1%	1.2%	2.0%	1.1%	3.6%	1.1%	1.2%	2.0%	1.1%	1.2%	2.0%	1.1%	1.2%	
下痢	34.3%	34.4%	37.2%	45.0%	30.6%	46.3%	36.9%	39.3%	42.1%	32.2%	35.9%	28.3%	27.1%	21.7%	34.3%	34.4%	37.2%	45.0%	30.6%	46.3%	36.9%	39.3%	42.1%	
便秘	40.3%	31.8%	37.2%	33.6%	26.4%	28.4%	34.4%	31.8%	44.6%	25.4%	50.7%	35.7%	53.0%	36.0%	40.3%	31.8%	37.2%	33.6%	26.4%	28.4%	34.4%	31.8%	44.6%	
胆嚢腫瘍(ななかみ球)	24.0%	10.4%	16.3%	11.5%	18.5%	13.7%	27.0%	11.4%	32.3%	8.8%	28.5%	9.9%	18.7%	7.9%	24.0%	10.4%	16.3%	11.5%	18.5%	13.7%	27.0%	11.4%	32.3%	
痔瘻(痔)	27.5%	22.8%	9.3%	16.8%	18.1%	17.4%	32.4%	24.6%	32.8%	24.9%	33.9%	26.1%	23.0%	27.5%	22.8%	9.3%	16.8%	18.1%	17.4%	32.4%	24.6%	32.8%	24.9%	
男性																								
食道がん	0.4%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
胃がん	2.5%	1.7%	0.0%	0.0%	0.7%	0.0%	0.8%	0.6%	0.0%	2.2%	2.2%	3.9%	3.7%	3.0%	3.5%	2.5%	2.5%	3.9%	3.7%	3.0%	3.5%	3.7%	3.0%	
大腸がん	2.4%	1.7%	0.0%	0.0%	0.7%	0.0%	0.8%	1.0%	3.3%	4.4%	5.9%	2.2%	2.6%	2.6%	2.4%	2.4%	2.2%	3.0%	2.2%	3.0%	2.2%	2.6%	2.6%	
大腸ポリープ	18.2%	10.5%	0.0%	1.8%	5.7%	3.9%	12.1%	5.9%	17.6%	14.4%	31.4%	22.2%	24.9%	7.7%	18.2%	10.5%	0.0%	1.8%	5.7%	3.9%	12.1%	5.9%	17.6%	
慢性胃炎	11.9%	6.0%	12.0%	3.2%	3.5%	1.9%	13.7%	6.9%	17.6%	6.7%	11.9%	11.9%	11.9%	6.4%	11.9%	6.0%	12.0%	3.2%	3.5%	1.9%	13.7%	6.9%	17.6%	
胃潰瘍	17.3%	10.7%	8.0%	6.3%	16.3%	8.6%	18.5%	11.9%	22.0%	11.1%	22.5%	11.1%	6.0%	14.1%	17.3%	10.7%	8.0%	6.3%	16.3%	8.6%	18.5%	11.9%	22.0%	
十二指腸潰瘍	14.9%	8.2%	8.0%	3.2%	12.8%	4.8%	16.9%	6.9%	20.9%	10.0%	15.7%	12.6%	9.0%	9.0%	14.9%	8.2%	8.0%	3.2%	12.8%	4.8%	16.9%	6.9%	20.9%	
胆嚢腫	1.8%	1.2%	4.0%	0.0%	3.5%	0.0%	0.8%	2.0%	0.0%	0.0%	2.2%	2.2%	1.5%	2.6%	1.8%	1.2%	4.0%	0.0%	3.5%	0.0%	0.8%	2.0%	0.0%	
下痢	36.9%	37.6%	44.0%	49.2%	31.9%	47.6%	37.9%	41.6%	41.6%	33.3%	40.2%	31.9%	31.3%	24.4%	36.9%	37.6%	44.0%	49.2%	31.9%	47.6%	37.9%	41.6%	41.6%	
便秘	29.1%	20.3%	16.0%	17.5%	14.9%	14.3%	25.0%	19.8%	29.7%	15.6%	42.2%	28.9%	50.7%	21.8%	29.1%	20.3%	16.0%	17.5%	14.9%	14.3%	25.0%	19.8%	29.7%	
胆嚢腫瘍(ななかみ球)	19.2%	7.2%	8.0%	6.3%	13.5%	10.5%	23.4%	4.0%	27.5%	8.9%	17.0%	9.6%	20.9%	1.3%	19.2%	7.2%	8.0%	6.3%	13.5%	10.5%	23.4%	4.0%	27.5%	
痔瘻(痔)	29.8%	26.9%	8.0%	14.3%	19.1%	16.1%	31.5%	24.8%	35.2%	30.0%	39.2%	34.1%	35.8%	29.8%	26.9%	8.0%	14.3%	19.1%	16.1%	31.5%	24.8%	35.2%	34.1%	
女性																								
食道がん	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
胃がん	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
大腸がん	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
大腸ポリープ	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
慢性胃炎	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
胃潰瘍	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
十二指腸潰瘍	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
肝臓	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
膵臓	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
胆嚢腫瘍(ななかみ球)	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
痔瘻(痔)	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	

病名	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
食道がん	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
胃がん	0.9%	0.6%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.9%	1.7%	0.7%	2.0%	0.0%
大腸がん	1.2%	1.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.9%	2.9%	2.6%	1.7%	2.2%	1.0%	3.2%
大腸ポリープ	8.6%	4.8%	11.1%	0.0%	0.8%	1.2%	6.8%	4.5%	13.5%	5.2%	11.8%	6.6%	11.1%	8.0%
慢性胃炎	10.7%	6.7%	11.1%	8.8%	4.8%	5.9%	12.0%	7.3%	18.3%	5.2%	12.6%	6.6%	6.1%	7.2%
胃潰瘍	9.1%	6.8%	0.0%	1.5%	4.0%	8.4%	7.7%	8.2%	10.6%	7.0%	12.6%	6.6%	13.1%	5.6%
十二指腸潰瘍	5.3%	3.1%	0.0%	1.5%	3.2%	3.5%	1.7%	5.2%	7.7%	6.1%	10.1%	1.5%	5.1%	0.8%
腸憩室	2.8%	0.5%	0.0%	1.5%	2.4%	0.0%	2.5%	0.0%	2.9%	0.0%	5.0%	0.0%	1.0%	1.6%
下痢	31.8%	31.6%	27.8%	41.2%	29.0%	44.7%	35.9%	37.3%	42.3%	31.3%	28.6%	24.6%	20.0%	20.0%
便秘	50.8%	42.3%	66.7%	48.5%	39.5%	45.9%	44.4%	47.7%	57.7%	53.0%	58.0%	42.3%	54.5%	44.8%
腹部膨満感(なつかや球感)	29.4%	13.3%	27.6%	16.2%	24.2%	17.6%	30.8%	18.2%	36.5%	8.7%	37.8%	10.2%	17.2%	12.0%
痔瘻(痔)	23.3%	19.2%	11.1%	19.1%	16.9%	16.5%	23.3%	24.5%	30.8%	20.9%	20.4%	18.2%	18.2%	16.0%

表 21 疾患割合の比較 (血液・リンパの病気)

病名	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群	患者群	対照群										
リンパ節の腫大(リンパの腫れ)	1.9%	1.2%	1.2%	1.2%	1.0%	1.0%	0.1%	0.1%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%	1.0%
白血球	1.1%	1.1%	1.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
中性リンパ球	1.1%	1.1%	1.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
高血小板	1.1%	1.1%	1.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
真血	1.1%	1.1%	1.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%

(男女別年齢層別)

病名	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
男性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
白血球	0.1%	0.1%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%
中性リンパ球	0.2%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%	0.9%	1.0%	0.5%	1.1%	0.0%	1.5%	0.0%
高血小板	13.5%	8.4%	4.7%	3.8%	5.7%	4.2%	11.0%	8.1%	22.6%	9.3%	22.2%	13.2%	9.0%	8.4%
真血	18.5%	12.4%	14.0%	18.3%	18.5%	15.8%	22.8%	19.4%	18.5%	10.2%	13.1%	7.4%	20.8%	6.8%
リンパ節の腫大(リンパの腫れ)	2.7%	0.9%	0.0%	2.8%	1.9%	1.1%	3.8%	0.9%	5.1%	0.0%	2.3%	1.5%	1.6%	0.0%
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
白血球	0.2%	0.7%	0.0%	0.0%	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.7%	0.0%	0.0%
中性リンパ球	0.2%	0.7%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.7%	0.0%	2.6%
高血小板	12.0%	9.1%	8.0%	7.8%	5.0%	7.6%	12.9%	6.9%	19.8%	10.0%	14.7%	13.3%	11.9%	6.4%
真血	10.2%	3.8%	4.0%	3.2%	7.8%	3.8%	9.7%	4.0%	9.8%	3.3%	10.8%	5.8%	17.9%	1.3%
リンパ節の腫大(リンパの腫れ)	2.5%	0.8%	0.0%	1.6%	0.7%	1.0%	4.0%	0.0%	5.5%	0.0%	1.0%	0.0%	9.0%	0.0%
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
白血球	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
中性リンパ球	0.2%	1.1%	0.0%	0.0%	1.2%	0.9%	1.0%	0.9%	1.0%	1.7%	0.0%	1.5%	0.0%	0.8%
高血小板	15.0%	7.6%	0.0%	6.5%	0.0%	10.3%	0.0%	6.7%	25.0%	6.7%	28.0%	13.1%	7.1%	9.6%
真血	26.3%	20.0%	27.6%	32.4%	30.6%	30.8%	36.8%	33.6%	26.0%	15.7%	15.1%	8.8%	22.2%	10.4%
リンパ節の腫大(リンパの腫れ)	2.9%	1.4%	0.0%	2.9%	3.2%	1.2%	2.0%	4.8%	0.0%	3.4%	2.9%	1.0%	0.0%	0.0%

表 22 疾患割合の比較 (子宮・卵巣・婦人科系の病気)

疾患名	PCO症候群との関連が強い項目		PCO症候群との関連が弱い項目		合計	
	患者数	対照群(補正)	患者数	対照群(補正)	患者数	対照群(補正)
	割合	割合	割合	割合	割合	割合
N	591	640	591	640	100.0%	100.0%
子宮がん	9	11	12	15	1.5%	1.9%
卵巣がん	2	1	1	0	0.3%	0.1%
乳がん	13	8	10	2	2.2%	1.4%
子宮内腫瘍	33	32	34	5	5.7%	5.5%
子宮筋腫	90	95	102	15	15.5%	16.4%
卵巣のう腫	22	19	21	3	3.8%	3.2%
月経困難症(生理痛)	97	73	73	16	16.7%	12.6%*
不正出血	52	40	44	9	9.0%	6.9%
月経不順	81	81	82	13	13.9%	13.9%
過多月経(月経が多い)	82	34	35	14	14.1%	5.8%**
過少月経(月経が少ない)	29	6	7	5	5.0%	1.1%***

PCO症候群\* - PCO100%  
\*\* - PCO100%  
\*\*\* - PCO100%

(男女別年齢層別)

疾患名	総数		20代		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群														
	割合															
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
子宮がん	1.5%	1.9%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.2%	0.9%	0.8%	0.9%	1.9%	0.9%	2.5%	2.2%	3.0%	4.8%
卵巣がん	0.3%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	0.8%	0.0%	0.0%	0.8%
乳がん	2.2%	1.6%	0.0%	1.5%	1.9%	0.0%	0.0%	0.0%	2.6%	1.8%	3.8%	2.6%	0.8%	0.7%	3.0%	2.4%
子宮内腫瘍	5.7%	5.3%	0.0%	7.4%	6.5%	4.7%	10.3%	14.5%	10.3%	14.5%	5.6%	4.3%	4.2%	1.5%	2.0%	1.6%
子宮筋腫	15.5%	15.9%	0.0%	5.9%	12.1%	11.9%	11.9%	17.3%	22.2%	17.3%	17.3%	16.5%	16.0%	24.8%	12.1%	12.6%
卵巣のう腫	3.8%	3.3%	0.0%	2.9%	8.1%	1.2%	5.1%	4.5%	5.1%	2.9%	2.9%	6.1%	2.5%	2.2%	0.0%	2.4%
月経困難症(生理痛)	16.7%	11.4%	33.3%	14.7%	22.6%	23.5%	23.5%	18.2%	23.9%	18.2%	18.3%	8.7%	9.3%	6.6%	5.1%	3.2%
不正出血	9.0%	6.9%	16.7%	16.2%	7.3%	11.8%	8.2%	10.9%	9.4%	10.9%	17.5%	7.0%	5.0%	0.7%	5.1%	1.6%
月経不順	13.9%	12.8%	16.7%	16.2%	19.4%	24.7%	17.9%	20.9%	16.3%	10.4%	11.6%	10.4%	11.6%	2.2%	2.0%	9.6%
過多月経(月経が多い)	14.1%	5.8%	16.7%	8.8%	15.3%	9.4%	18.8%	10.0%	17.3%	5.2%	12.6%	2.9%	12.6%	2.9%	5.1%	0.0%
過少月経(月経が少ない)	5.0%	1.1%	5.6%	4.4%	4.0%	3.5%	3.5%	7.7%	7.7%	0.0%	7.7%	0.0%	5.0%	0.0%	0.0%	0.0%

表 23 疾患割合の比較 (前立腺・男性機能に関する病気)

疾患	患者群				対照群			
	患者群		対照群		患者群		対照群	
	人数	割合	人数	割合	人数	割合	人数	割合
前立腺がん	12	2.2%	17	2.2%	572	100.0%	100.0%	100.0%
前立腺肥大	62	11.3%	78	11.3%	11.3%	12.2%	12.2%	12.2%
男性不妊(手術ができない)	6	1.1%	1	1.1%	1	0.2%	0.2%	0.2%
インポテンツ	24	4.4%	14	4.4%	4.4%	2.5%	2.5%	2.5%

P<0.05⇒\*、P<0.01⇒\*\*、P<0.001⇒\*\*\*

(年齢層別)

疾患	年齢層別											
	30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群										
男性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
前立腺がん	2.2%	3.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.1%	5.9%	8.1%	6.4%
前立腺肥大	11.3%	13.8%	0.0%	2.1%	2.9%	2.0%	12.1%	8.9%	24.5%	25.2%	25.4%	39.7%
男性不妊(手術ができない)	1.1%	0.2%	0.0%	2.1%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
インポテンツ	4.4%	2.4%	0.0%	0.7%	1.9%	2.0%	5.5%	5.6%	1.0%	3.7%	4.5%	0.0%

表 24 疾患割合の比較 (骨・関節の病気)

疾患	20代		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)										
骨関節炎	1	0.1%	2	0.1%	0	0.0%	0	0.0%	1	0.1%	0	0.0%	1	0.1%
骨粗鬆症	183	10.0%	180	10.0%	152	10.0%	85	5.0%	84	5.0%	150	9.0%	90	5.5%
骨質減少	130	7.5%	123	7.5%	123	7.5%	88	5.3%	57	3.5%	103	6.4%	49	3.1%
骨の密度低下	128	7.4%	120	7.2%	123	7.5%	88	5.3%	57	3.5%	103	6.4%	49	3.1%
骨の密度低下	155	9.0%	150	9.0%	137	8.6%	85	5.0%	84	5.0%	150	9.0%	90	5.5%
骨の密度低下	40	2.3%	30	1.8%	23	1.4%	10	0.6%	4	0.2%	18	1.1%	3	0.2%
骨質減少	55	3.2%	50	3.0%	43	2.6%	19	1.2%	10	0.6%	47	2.9%	10	0.6%
骨質減少	466	27.5%	450	27.5%	412	25.8%	194	12.0%	95	6.0%	283	17.5%	111	7.0%
骨質減少	99	5.9%	93	5.7%	83	5.2%	39	2.4%	20	1.2%	66	4.1%	22	1.4%
骨質減少	500	30.0%	494	30.0%	460	28.8%	278	17.0%	138	8.6%	405	25.3%	161	10.1%
骨質減少	785	48.2%	784	48.1%	725	45.0%	374	23.4%	267	16.7%	680	42.8%	285	17.8%

(年齢層別)

疾患	20代		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)												
骨質減少	0.1%	0.2%	2.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%	0.4%	0.0%	
骨質減少	16.3%	16.3%	19.6%	21.4%	12.8%	15.3%	12.9%	15.6%	14.4%	16.6%	22.5%	15.1%	18.3%	
骨質減少	12.2%	6.2%	7.0%	5.3%	8.3%	7.4%	11.6%	6.6%	14.9%	3.4%	15.4%	9.2%	15.3%	
骨質減少	11.3%	5.8%	0.0%	0.8%	0.8%	0.5%	2.5%	0.5%	12.6%	4.9%	25.8%	10.7%	22.8%	
骨質減少	1.37%	5.0%	2.3%	0.0%	5.3%	1.1%	8.3%	1.9%	18.5%	2.4%	20.4%	7.7%	23.5%	
骨質減少	4.2%	2.5%	4.7%	3.8%	4.5%	1.6%	4.6%	1.9%	4.1%	2.9%	4.5%	2.6%	3.0%	
骨質減少	5.7%	4.1%	4.7%	0.8%	3.0%	3.7%	5.0%	4.7%	6.2%	5.4%	10.0%	5.5%	5.4%	
骨質減少	41.2%	15.7%	25.6%	11.5%	26.4%	12.3%	36.1%	13.3%	46.7%	15.6%	61.1%	19.9%	43.4%	
骨質減少	8.8%	0.9%	2.3%	1.5%	2.6%	1.1%	5.8%	0.0%	10.9%	1.5%	17.2%	0.4%	10.8%	
骨質減少	45.7%	45.7%	48.6%	48.6%	51.6%	51.6%	60.6%	46.4%	66.2%	45.9%	61.1%	44.5%	42.8%	
骨質減少	48.4%	48.2%	45.1%	45.0%	41.9%	51.6%	49.3%	49.3%	73.8%	48.8%	81.9%	45.6%	45.3%	

女性	年齢													
	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
合計	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
女丹	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
骨肉腫	16.9%	15.3%	5.6%	14.7%	8.1%	12.9%	13.7%	10.9%	14.4%	18.3%	27.7%	16.8%	23.2%	16.8%
骨折	8.4%	2.5%	5.6%	2.9%	4.0%	1.2%	9.4%	4.5%	10.0%	0.9%	10.1%	2.9%	9.1%	2.4%
椎間板ヘルニア	19.8%	9.2%	0.0%	0.0%	1.0%	1.2%	5.1%	0.9%	23.1%	7.8%	42.8%	17.5%	32.3%	19.2%
骨髄心臓症	18.9%	6.6%	5.6%	0.0%	8.1%	1.2%	8.5%	2.7%	26.9%	1.7%	26.9%	10.2%	29.3%	17.6%
骨の変形	5.2%	4.1%	11.1%	7.4%	6.5%	3.5%	5.1%	2.7%	4.8%	5.2%	5.9%	2.9%	2.0%	4.0%
がん/リオン	2.9%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.0%	1.0%	0.9%	7.6%	1.5%	5.1%	0.0%
痛風	46.8%	18.9%	38.9%	8.8%	30.6%	15.3%	40.2%	15.5%	48.1%	16.5%	67.2%	26.3%	50.5%	24.0%
関節痛	12.2%	1.7%	5.6%	2.9%	4.0%	2.4%	9.4%	0.0%	12.5%	2.6%	23.5%	0.7%	13.1%	2.4%
骨痛	69.4%	53.4%	81.1%	54.4%	71.0%	65.3%	68.4%	57.3%	75.0%	52.2%	70.9%	51.8%	45.5%	44.0%
肩こり	70.7%	48.0%	72.2%	41.2%	65.3%	54.1%	65.8%	49.1%	77.5%	49.7%	85.7%	43.8%	57.6%	50.4%

表 25 疾患割合の比較 (皮膚・爪の病変)

疾患	10代			20代			30代			40代			50代			60代			70代			80代以上		
	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)
皮膚がん	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
皮膚(にきび)	462	14.6	16.5	313	34.0	24.7	43.6	13.3	39.5	9.8	21.1	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
毛穴の開大・面皰(毛穴が広がる・黒に変わる)	270	8.8	4.7	7.8	21.9	8.9	31.1	2.4	33.8	1.5	21.7	1.1	15.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
色素沈着(肌が黒くなる)	342	11.3	27.9	1.5	22.3	3.7	34.9	1.9	39.5	0.5	37.0	0.7	26.5	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
爪の変形	417	14.0	27.9	7.6	27.9	6.3	36.7	10.4	44.1	10.2	46.2	40.4	14.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
粉瘤(皮膚のぶくれ)	212	7.1	4.7	3.1	12.5	2.8	18.7	2.8	25.1	2.9	24.9	1.5	16.9	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
粘着着腫(関節のぶくれ)	34	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
掌跖腫瘍症	28	0.9	0.0	1.5	1.1	1.1	4.1	0.9	1.0	1.0	1.0	1.1	2.4	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
皮膚がでせやれい	440	14.6	30.2	10.7	37.0	13.2	36.5	7.6	46.7	9.3	45.7	14.7	33.1	8.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
皮膚の腫厚(かゆみ)	541	18.1	23.3	22.9	36.6	25.8	43.2	21.3	60.0	19.0	60.0	44.6	22.7	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
乾燥肌(さめ肌)	235	7.8	23.3	10.7	23.4	8.4	21.2	7.6	19.5	6.8	20.4	8.8	17.5	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
脱毛	190	6.3	7.0	3.1	6.8	5.6	17.0	3.8	20.5	3.9	10.3	3.7	13.3	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
白癬	45	1.5	0.0	0.8	2.3	2.1	3.3	2.8	4.1	3.9	6.3	1.1	5.4	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
帯状(円)虫疹	88	2.9	0.0	11.5	13.7	10.0	10.0	5.2	15.4	5.9	19.9	7.4	15.1	3.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

(男女別年齢層別)

疾患	総数			30代			40代			50代			60代			70代			80歳以上		
	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)												
皮膚がん	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0	0.0	0.0
皮膚(にきび)	344	12.1	12.0	23.8	34.0	18.1	43.5	10.9	30.8	10.0	41.2	8.1	20.9	5.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
毛穴の開大・面皰(毛穴が広がる・黒に変わる)	244	8.4	0.0	4.8	18.4	4.8	33.9	1.0	34.1	2.2	23.5	2.2	16.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
色素沈着(肌が黒くなる)	378	11.2	28.0	6.3	31.2	4.8	37.9	7.9	39.3	13.3	49.0	19.3	40.3	11.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
爪の変形	200	7.0	4.0	0.0	12.8	2.8	21.8	1.0	23.1	3.3	26.5	3.0	23.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
粉瘤(皮膚のぶくれ)	29	1.0	0.0	0.0	1.4	0.0	2.4	0.0	4.4	0.0	4.8	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
粘着着腫(関節のぶくれ)	25	0.9	0.0	1.6	0.7	0.0	5.6	0.0	0.0	0.0	2.2	3.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
掌跖腫瘍症	34.5	10.1	20.0	6.3	34.0	14.3	31.5	6.9	40.7	6.7	37.3	14.8	34.3	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
皮膚がでせやれい	451	15.4	24.7	20.0	14.3	31.2	44.4	18.8	60.4	26.7	56.8	31.1	43.3	28.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
皮膚の腫厚(かゆみ)	164	6.3	20.0	6.3	17.0	3.8	18.5	5.0	13.2	7.8	17.8	7.4	11.8	7.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
乾燥肌(さめ肌)	149	5.3	4.0	0.0	7.8	7.6	19.4	6.9	22.0	6.7	16.7	4.4	13.4	12.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
脱毛	27	0.9	0.0	0.0	0.7	1.9	0.8	5.0	2.2	3.3	6.9	0.7	6.0	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
白癬	8.9	0.3	0.0	11.1	3.5	5.7	5.0	1.0	9.8	5.6	18.0	7.4	13.4	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
帯状(円)虫疹	88	2.9	0.0	11.5	13.7	10.0	10.0	5.2	15.4	5.9	19.9	7.4	15.1	3.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
支持...	1.2%	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.7%	1.7%	0.7%	0.6%
皮膚がん	36.7%	13.9%	22.2%	36.2%	33.9%	32.9%	43.6%	15.5%	47.1%	9.6%	36.7%	4.4%	21.2%	0.8%
皮膚(にきび)	24.3%	3.5%	11.1%	10.3%	25.8%	14.1%	29.2%	3.6%	33.7%	0.9%	20.2%	0.0%	15.2%	0.0%
鼻孔の開口面(赤穴)が広がる(黒にきび)	34.6%	2.3%	27.6%	2.9%	23.4%	7.1%	35.9%	3.6%	43.3%	0.0%	44.5%	0.7%	27.3%	1.6%
色素沈着(肌が黒くなる)	37.7%	14.5%	27.8%	8.8%	24.2%	8.2%	33.3%	12.7%	51.0%	7.8%	43.7%	27.0%	40.4%	16.0%
粉瘤(皮膚のぶくれ)	17.6%	2.3%	5.6%	5.9%	12.1%	2.4%	15.4%	4.5%	26.9%	2.6%	23.5%	0.0%	12.1%	0.6%
枯草熱(鼻のかゆみ)	3.1%	0.3%	0.0%	0.0%	1.6%	1.2%	2.6%	0.0%	2.9%	0.0%	5.3%	0.0%	3.0%	0.6%
アレルギー	2.4%	0.9%	0.0%	1.5%	1.6%	2.4%	2.6%	1.8%	1.5%	0.0%	4.2%	0.0%	2.0%	0.6%
涙腺がでやすい	44.1%	11.4%	44.4%	14.7%	40.3%	11.6%	41.9%	41.9%	51.9%	8.2%	51.9%	52.3%	14.6%	8.6%
皮膚の痒み(かゆみ)	50.4%	22.0%	44.4%	30.9%	42.7%	29.4%	41.9%	23.6%	59.6%	13.0%	63.9%	22.6%	45.5%	18.4%
乾燥肌(さめ肌)	25.0%	9.1%	27.8%	14.7%	30.6%	14.1%	23.9%	10.0%	25.0%	6.1%	22.7%	10.2%	21.2%	3.2%
眼毛	13.4%	2.2%	11.1%	5.9%	5.6%	3.5%	14.5%	0.9%	19.2%	1.7%	10.0%	2.8%	13.1%	0.0%
白髪	5.2%	2.2%	0.0%	1.8%	4.0%	2.4%	6.0%	0.9%	5.8%	4.3%	5.9%	1.5%	5.1%	2.4%
髪質(円皮脂)	14.8%	9.4%	0.0%	11.8%	5.6%	23.2%	14.5%	9.1%	20.2%	4.1%	21.0%	7.3%	19.2%	4.0%

表 26 疾患割合の比較 (アレルギー疾患)

疾患	計			男			女		
	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)
アレルギー性鼻炎	1,829	8.1%	1.1%	83	3.1%	1.1%	1,746	8.1%	1.1%
アトピー性皮膚炎	43	0.2%	0.1%	21	0.1%	0.1%	22	0.1%	0.1%
アレルギー性気管支炎	238	1.0%	0.6%	117	0.5%	0.4%	121	0.6%	0.4%
花粉症	240	1.0%	0.6%	101	0.4%	0.3%	139	0.6%	0.3%
喘息	122	0.5%	0.3%	65	0.2%	0.2%	57	0.3%	0.2%
蕁麻疹	191	0.8%	0.5%	113	0.5%	0.4%	78	0.4%	0.3%
食物アレルギー	89	0.4%	0.2%	62	0.2%	0.2%	27	0.1%	0.1%
薬物アレルギー	87	0.4%	0.2%	53	0.2%	0.2%	34	0.2%	0.2%

\* P<0.05 \*\* P<0.01 \*\*\* P<0.001

(男女別年齢層別)

疾患	年齢層別 (%)											
	30代	40代	50代	60代	70代	80歳以上	30代	40代	50代	60代	70代	80歳以上
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
アレルギー性鼻炎	5.6%	4.1%	11.6%	11.5%	9.4%	7.4%	3.3%	4.7%	6.7%	1.5%	4.1%	1.8%
アトピー性皮膚炎	21.0%	17.3%	25.6%	30.5%	27.2%	27.4%	20.3%	17.5%	21.0%	13.7%	18.6%	14.5%
アレルギー性気管支炎	21.2%	22.2%	25.6%	32.1%	26.4%	31.6%	22.8%	30.6%	27.4%	19.0%	16.3%	15.1%
花粉症	10.8%	5.8%	9.3%	7.9%	13.6%	6.3%	6.2%	7.1%	11.3%	3.9%	12.2%	3.7%
喘息	10.9%	14.9%	9.3%	16.8%	18.9%	18.4%	17.4%	20.4%	16.9%	16.1%	19.0%	8.9%
食物アレルギー	7.9%	5.4%	4.7%	8.4%	7.2%	7.9%	7.9%	4.7%	10.3%	5.4%	8.1%	4.0%
薬物アレルギー	8.6%	4.5%	2.3%	3.8%	4.8%	5.9%	7.5%	5.2%	12.6%	5.9%	12.7%	3.3%
男性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
アレルギー性鼻炎	3.8%	4.0%	4.0%	9.5%	5.7%	10.5%	3.2%	3.0%	5.5%	0.0%	2.0%	1.5%
アトピー性皮膚炎	17.1%	16.8%	24.0%	22.2%	19.9%	26.7%	15.3%	15.8%	15.4%	13.3%	16.7%	14.9%
アレルギー性気管支炎	19.0%	21.3%	28.0%	36.5%	20.6%	25.7%	20.2%	33.7%	28.6%	15.6%	15.7%	12.6%
花粉症	10.0%	6.5%	8.0%	9.5%	14.9%	4.8%	5.6%	6.9%	9.9%	3.3%	9.8%	9.0%
喘息	12.0%	10.5%	8.0%	7.9%	17.0%	12.4%	8.9%	14.9%	7.7%	10.0%	13.7%	8.9%
食物アレルギー	4.9%	4.4%	4.0%	6.3%	5.0%	6.7%	4.8%	5.0%	7.7%	4.4%	4.9%	2.2%
薬物アレルギー	5.3%	2.1%	4.0%	1.6%	1.4%	2.9%	3.2%	3.0%	11.0%	5.6%	7.8%	0.0%
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
アレルギー性鼻炎	7.2%	4.2%	22.2%	13.2%	13.7%	3.5%	3.4%	6.4%	7.7%	2.6%	5.9%	2.0%
アトピー性皮膚炎	24.8%	17.8%	27.8%	36.2%	35.5%	28.4%	25.6%	19.1%	26.0%	13.9%	20.2%	11.7%
アレルギー性気管支炎	22.7%	23.0%	22.2%	27.9%	33.1%	38.5%	25.6%	29.2%	26.9%	20.0%	16.8%	17.5%
花粉症	11.5%	5.2%	11.1%	5.9%	12.1%	8.2%	6.8%	7.3%	12.5%	4.3%	14.3%	1.5%
喘息	21.5%	18.9%	11.1%	25.0%	21.0%	25.9%	26.5%	26.5%	25.0%	20.8%	23.5%	10.9%
食物アレルギー	10.7%	6.4%	5.6%	10.3%	9.7%	9.4%	11.1%	4.5%	12.5%	6.1%	10.9%	5.8%
薬物アレルギー	11.7%	6.6%	0.0%	5.8%	8.9%	9.4%	12.0%	7.3%	14.4%	6.1%	16.8%	6.6%

表 27 疾患割合の比較 (膠原病)

疾患	若年				青年				中年				老年			
	患者群		対照群		患者群		対照群		患者群		対照群		患者群		対照群	
	人数	割合 (%)														
関節リウマチ	44	1.7%	19	3.9%	1	1.5%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
全身性エリテマトーデス	2	0.2%	2	0.4%	2	0.2%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
強皮症	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
皮膚筋炎	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
シェーグレン症候群	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
ベーセチエット病	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%

P<0.05\*\*\*, P<0.05\*\*\*\*

(男女別年齢層別)

疾患	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者群	対照群												
	割合 (%)													
総数	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
患者群	3.9%	1.6%	2.3%	2.3%	1.5%	1.4%	3.7%	1.4%	3.6%	0.0%	5.4%	2.2%	6.6%	2.0%
関節リウマチ	0.2%	0.2%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.4%	0.0%	0.0%
全身性エリテマトーデス	0.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.5%	0.0%	0.5%	0.0%	1.2%	0.0%
強皮症	0.4%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.7%	1.8%	0.0%
皮膚筋炎	0.4%	0.1%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.5%	0.0%	0.5%	0.0%	0.0%	0.5%
シェーグレン症候群	0.2%	0.1%	0.0%	0.0%	0.4%	0.0%	0.4%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
ベーセチエット病														
男性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
患者群	1.6%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	2.4%	1.0%	2.2%	0.0%	2.9%	1.5%	1.3%	
関節リウマチ	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
全身性エリテマトーデス	0.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	1.5%	
強皮症	0.4%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.7%	3.0%	
皮膚筋炎	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
シェーグレン症候群	0.2%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	1.0%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
ベーセチエット病														
女性	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	
患者群	6.0%	2.2%	5.6%	4.4%	3.2%	2.4%	5.1%	1.8%	4.8%	0.0%	7.8%	2.9%	10.1%	
関節リウマチ	0.3%	0.3%	0.0%	0.0%	0.8%	0.0%	0.9%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.7%	0.0%	
全身性エリテマトーデス	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	1.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
強皮症	0.3%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	0.7%	1.0%	
皮膚筋炎	0.7%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.9%	0.0%	1.0%	0.0%	0.8%	0.0%	1.0%	
シェーグレン症候群	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.8%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	
ベーセチエット病														

表 28 疾患割合の比較 (その他の病気)

病名	若年				中年				老年			
	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	対照群 (%)	患者数	対照群 (%)	患者群 (%)	対照群 (%)
全身倦怠感(体がだるい)	137	13.3%	41.3%	10.3%	220	22.0%	57.7%	100.0%	311	31.1%	78.7%	100.0%
手足のしびれ	92	9.2%	29.7%	10.3%	41	4.1%	30.7%	7.3%	75	7.5%	23.8%	12.2%
体がつかる	642	64.2%	170	17.0%	36.0%	15.0%	10.0%	14.7%	78	7.8%	53.5%	14.1%
おどがつかる	40	4.0%	87	8.7%	30.7%	8.5%	8.8%	8.8%	49	4.9%	31.3%	8.8%
筋力の痛み	297	29.7%	153	15.3%	20.3%	11.1%	11.1%	10.8%	90	9.0%	24.5%	10.8%
体がくらく	337	33.7%	50	5.0%	13.8%	5.0%	5.0%	2.6%	14	1.4%	22.5%	2.6%

100.0%未満は、P<0.05未満

(男女別年齢層別)

病名	総数		30代		40代		50代		60代		70代		80歳以上	
	患者数	対照群 (%)												
全身倦怠感(体がだるい)	59.7%	100.0%	9.9%	48.8%	9.2%	56.2%	14.7%	60.2%	6.7%	67.7%	9.3%	66.5%	11.4%	48.8%
手足のしびれ	56.8%	100.0%	14.9%	30.2%	10.7%	36.6%	14.7%	57.7%	14.2%	71.8%	12.2%	71.5%	16.9%	57.2%
体がつかる	36.7%	100.0%	8.2%	18.6%	8.4%	24.5%	10.0%	34.4%	10.4%	54.9%	6.3%	38.9%	7.7%	33.1%
おどがつかる	4.2%	100.0%	0.7%	4.7%	0.8%	2.3%	2.9%	5.1%	2.3%	0.9%	0.0%	8.1%	1.1%	3.0%
筋力の痛み	26.3%	100.0%	10.6%	23.9%	8.4%	13.6%	12.6%	19.1%	11.4%	34.4%	11.7%	40.7%	12.5%	28.9%
体がくらく	29.8%	100.0%	5.0%	25.6%	6.9%	23.0%	6.6%	28.2%	4.3%	31.8%	4.9%	35.7%	4.0%	33.7%
男性	患者数	対照群 (%)												
全身倦怠感(体がだるい)	59.5%	100.0%	7.3%	48.0%	7.9%	53.2%	10.5%	60.5%	5.0%	62.6%	8.9%	61.8%	8.1%	59.7%
手足のしびれ	53.5%	100.0%	14.7%	20.0%	11.1%	34.8%	9.5%	54.8%	10.9%	71.4%	18.9%	65.7%	18.5%	59.7%
体がつかる	31.3%	100.0%	8.4%	16.0%	9.5%	23.4%	9.5%	30.6%	12.8%	50.5%	8.9%	29.4%	6.7%	31.3%
おどがつかる	2.5%	100.0%	0.7%	0.0%	1.0%	2.1%	1.0%	2.4%	2.0%	4.4%	0.0%	2.9%	0.0%	1.5%
筋力の痛み	24.5%	100.0%	10.5%	24.0%	7.8%	14.9%	10.5%	19.4%	12.8%	31.8%	12.2%	37.9%	11.9%	25.4%
体がくらく	22.2%	100.0%	2.6%	12.0%	3.2%	16.3%	2.9%	24.2%	2.0%	23.1%	3.9%	23.5%	2.2%	31.3%
女性	患者数	対照群 (%)												
全身倦怠感(体がだるい)	60.8%	100.0%	12.2%	50.0%	10.3%	59.7%	20.0%	59.8%	10.0%	72.1%	9.6%	70.6%	14.6%	41.4%
手足のしびれ	59.9%	100.0%	15.0%	44.4%	10.3%	36.7%	21.2%	60.7%	17.3%	72.1%	7.0%	76.5%	15.3%	55.6%
体がつかる	39.9%	100.0%	8.0%	22.2%	7.4%	25.8%	10.6%	38.5%	8.2%	58.7%	7.8%	47.1%	8.8%	34.3%
おどがつかる	5.9%	100.0%	0.8%	11.1%	0.0%	2.4%	3.4%	0.0%	5.8%	0.0%	12.6%	2.2%	4.0%	0.0%
筋力の痛み	27.9%	100.0%	10.8%	22.2%	8.8%	12.1%	15.3%	18.8%	10.0%	39.5%	11.3%	43.7%	13.1%	31.3%
体がくらく	37.0%	100.0%	7.0%	44.4%	10.3%	30.6%	11.8%	32.5%	6.4%	38.4%	6.1%	46.2%	5.8%	35.4%

## 油症における抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討

北九州津屋崎病院 内科

辻 博

### Anti-SSA/Ro and Anti-SSB/La Antibodies 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), anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies were studied in serum of 213 patients with Yusho and 63 control subjects in 2013. Anti-SSA/Ro antibodies were found in 4.2% (9/213) of patients with Yusho and 1.6% (1/63) of control subjects. The prevalence rates of anti-SSA/Ro antibodies in Yusho patients were not associated with blood PCB concentration or blood 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) concentration. Anti-SSB/La antibodies were found in 1.4% (3/213) of patients of Yusho, but none of controls. Furthermore, high concentrations of PCB and 2,3,4,7,8-PeCDF were present in Yusho patients with anti-SSB/La antibodies. We conclude that anti-SSB/La antibody is present in patients with Yusho, and it may be associated with PCB and 2,3,4,7,8-PeCDF in the blood.

**Key words** : Yusho · Anti-SSA/Ro antibody · Anti-SSB/La antibody · PCB · PCDF

#### はじめに

1968年4月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライソオイル摂取により北部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<sup>1)2)</sup>。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<sup>3)</sup>。しかし、その機構の詳細は未だ不明である。油症発生以来40年以上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<sup>4)~6)</sup>。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<sup>7)</sup>。

近年、PCBあるいは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、生殖機能の阻害、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<sup>8)9)</sup>。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 immunoglobulin (Ig) A, IgG, IgM のいずれか1分画以上の上昇を40.0%に、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<sup>10)</sup>。そして、

Correspondence author : Hiroshi Tsuji  
Department of Internal Medicine, Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital, Fukuoka 811-3307, Japan  
Tel : +81-940-52-0034 Fax : +81-940-52-2779  
E-mail : htsuji@kitakyu-hp.or.jp

2007年度福岡県油症一斉検診において、血中PCB低濃度群に比べ高濃度群に抗核抗体の出現を有意に高頻度に認めた。そして、血中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 低濃度群に比べ高濃度群に抗核抗体の出現を有意に高頻度に認め、油症における抗核抗体の出現にPCBおよびPCDFの関与が示唆された。抗核抗体は細胞の核に対する自己抗体であり、抗核抗体を構成する特異自己抗体である抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体は可溶性核抗原を対応抗原とする自己抗体である<sup>11)12)</sup>。

今回、2013年度福岡県油症一斉検診において油症に認められる抗核抗体の性状を明らかにするために抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体を測定し、油症原因物質であるPCBおよび2,3,4,7,8-PeCDFの抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体に対する慢性的影響について検討した。

### 対象および方法

2013年度福岡県油症一斉検診の受診者276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、免疫機能検査に同意が得られた276例を対象者とした。採血は午前中の空腹時に行なった。抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体はenzyme linked immunosorbent assay (ELISA)法(抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体、ティーエフビー)で測定した。

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-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2013年度福岡県油症一斉検診において測定した276例の測定値を用い、血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度は2013年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した2010年度72例、2011年度24例、2012年度14例、2013年度166例の計276例の測定値を用い、抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体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検定で、異常値の出現頻度の比較は $\chi^2$ 検定で行なった。

### 結 果

2013年度福岡県油症一斉検診を受診し、抗

SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体の測定に同意が得られた276例の内訳は女性151例、男性125例、平均年齢は $61.3 \pm 16.1$  (10~96)歳であり、油症患者192例、油症発生当時に油症患者と同居し、カネミ倉庫製のPCB等が混入していた当時の米ぬか油を摂取した油症患者(同居家族)21例、未認定患者61例、観察者2例であった。血中PCB濃度と年齢の間に有意の正の相関( $r=0.5525$ ,  $P < 0.001$ )を、血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度と年齢の間に有意の正の相関( $r=0.3729$ ,  $P < 0.001$ )を認めた。

2013年度福岡県油症一斉検診の受診者276例中、抗SS-A/Ro抗体が測定下限値7.0 U/mlを超える上昇を認めたものは12例であった。その内訳は女性9例、男性3例で、平均年齢は $63.5 \pm 14.2$  (40~89)歳であり、油症患者9例、油症患者(同居家族)2例、未認定患者1例であった。そして、抗SS-A/Ro抗体が基準値10.0 U/mlを超える上昇を認めるものは10例であり、その内訳は女性7例、男性3例で、平均年齢は $62.5 \pm 15.4$  (40~89)歳であり、油症患者7例、油症患者(同居家族)2例、未認定患者1例であった。抗SS-B/La抗体が測定下限値7.0 U/mlを超える上昇を認めたものは、80歳女性、72歳女性、65歳男性の油症患者3例(1.1%)であり、高齢であった。そして、全例において基準値10.0 U/mlを超える上昇を認めた。抗SS-B/La抗体の上昇を認めた油症患者3例全例において抗SS-A/Ro抗体の基準値10.0 U/mlを超える上昇を認めた。

同居家族を含む油症患者213例について観察者を含む未認定患者63例を対照者として抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体が基準値10.0 U/mlを超える上昇の出現頻度について検討した(Table 1)。抗SS-A/Ro抗体の上昇を対照者1例(1.6%)に比べ油症患者において9例(4.2%)と多い傾向を認めたが、出現率に有意差をみなかった。抗SS-B/La抗体の上昇は油症患者に3例(1.4%)を認めたが、対照者にはみられなかった。

油症患者213例について血中PCB濃度1.0 ppb以上の106例を血中PCB高濃度油症患者、血中PCB濃度1.0 ppb未満の107例を血中PCB低濃度油症患者として、両群間の抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体の出現頻度について検

**Table 1** Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies in patients with Yusho and controls

No.	Yusho 213	Controls 63
anti-SSA/Ro antibody	9 (4.2%)	1 (1.6%)
anti-SSB/La antibody	3 (1.4%)	0

**Table 2** Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies in Yusho patients with high PCB concentration and subjects with low PCB concentration

No.	PCB concentration	
	$\geq 1.0$ ppb 106	$< 1.0$ ppb 107
anti-SSA/Ro antibody	4 (3.8%)	5 (4.7%)
anti-SSB/La antibody	3 (2.8%)	0

**Table 3** Anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies in Yusho patients with high 2,3,4,7,8-PeCDF concentration and subjects with low 2,3,4,7,8-PeCDF concentration

No.	2,3,4,7,8-PeCDF concentration	
	$\geq 30$ pg/g lipids 103	$< 30$ pg/g lipids 110
anti-SSA/Ro antibody	4 (3.9%)	5 (4.5%)
anti-SSB/La antibody	3 (2.9%)	0

討した (Table 2). 血中 PCB 低濃度油症患者の平均血中 PCB 濃度は  $0.56 \pm 0.23$  ppb, PCB 高濃度油症患者の平均血中 PCB 濃度は  $1.87 \pm 1.04$  ppb であった. 抗 SS-A/Ro 抗体を血中 PCB 高濃度油症患者に 4 例 (3.8%), PCB 低濃度患者に 5 例 (4.7%) 認め, 両群間に差をみなかった. 抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者に 3 例 (2.8%) 全例を認め, 血中 PCB 低濃度患者にはみられなかった.

油症患者 213 例について血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度  $30$  pg/g lipids 以上の 103 例を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度油症患者,  $30$  pg/g lipids 未満の 110 例を低濃度患者として両群間の抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の出現頻度について検討した (Table 3). 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度患者の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は  $206.0 \pm 220.9$  pg/g lipids, 低濃度患者の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は  $13.9 \pm 6.8$  pg/g lipids であった. 抗 SS-A/Ro 抗体を血中 2,

3,4,7,8-PeCDF 高濃度油症患者に 4 例 (3.9%), 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度患者に 5 例 (4.5%) 認め, 両群間に差をみなかった. 抗 SS-B/La 抗体は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度油症患者に 3 例 (2.9%) 全例を認め, 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度患者にはみられなかった.

## 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. 油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において, 甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度  $3.0$  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 PCB 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<sup>13)</sup>. 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、油症において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<sup>10)</sup>。そして、2007年度福岡県油症一斉検診において、血中PCB濃度と免疫グロブリンIgA, リウマチ因子との間に有意の相関を認め、血中PCB低濃度群に比べ高濃度群に抗核抗体の出現を有意に高頻度に認めた。さらに、血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度と免疫グロブリンIgA, リウマチ因子との間に有意の相関を認め、血中2,3,4,7,8-PeCDF低濃度群に比べ高濃度群に抗核抗体の出現を有意に高頻度に認めた。油症における免疫グロブリンIgAおよびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現にPCBおよびPCDFの関与が示唆された。2012年度福岡県油症一斉検診において抗Sm抗体、抗RNP抗体、抗セントロメア抗体および抗dsDNA抗体等の特異抗核抗体を測定し、抗Sm抗体を0.6%に、抗セントロメア抗体を2.4%に、抗dsDNA抗体の上昇を6.5%に認めたが、いずれの抗体の上昇も未認定患者にはみられなかった<sup>14)</sup>。そして、抗セントロメア抗体の出現頻度は血中PCB低濃度群に比べ血中PCB高濃度群において有意に高頻度であり、油症において抗セントロメア抗体の出現にPCBが関与している可能性が考えられた。

油症において認められる抗核抗体の性状を明らかにするため抗核抗体を構成する特異自己抗体として抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体を検討した。2013年度福岡県油症一斉検診の受診者276例中、抗SS-A/Ro抗体を10例に認めた。その内訳は油症患者の4.2%、対照者の1.6%であり、対照者に比べ油症患者において多い傾向を認めたが、出現率に差をみなかった。そして、抗SS-A/Ro抗体は血中PCB高濃度群の3.8%に、PCB低濃度群の4.7%に認め、出現率に差をみなかった。また、血中2,3,4,7,8-PeCDF高濃度油症患者の3.9%に、2,3,4,7,8-PeCDF低濃度患者の4.5%に認め、出現率に差をみなかった。抗SS-B/La抗体は油症患者の1.4%に認め、対照者にはみられなかった。全例が高齢者であった。抗SS-B/La抗体は血中PCB高濃度群にのみ認めら

れ、血中PCB低濃度患者にはみられなかった。また、抗SS-B/La抗体は血中2,3,4,7,8-PeCDF高濃度患者にのみ認め、2,3,4,7,8-PeCDF低濃度患者にはみられなかった。抗SS-B/La抗体は血中PCB濃度および血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が高濃度の油症患者に認められることより、油症において抗SS-B/La抗体の出現にPCBおよび2,3,4,7,8-PeCDFが関与している可能性も考えられる。油症患者における抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体の検討については、穂山ら<sup>15)</sup>が2006年度および2007年度の長崎県油症検診受診者において抗SS-A/Ro抗体を油症患者57例中2例(3.5%)に、抗SS-B/La抗体を油症患者56例中1例(1.8%)に認め、健常人21例には認めなかったと報告している。今回の検討とほぼ同様な結果であった。抗SS-B/La抗体は蛍光染色型が斑紋型を示し、RNA polymerase III転写終結因子を対応抗原とする自己抗体であり、眼および口腔の乾燥を症状とするシェーグレン症候群、全身性エリテマトーデスに高率に出現することが知られている。抗SS-B/La抗体は抗SS-A/Ro抗体とともに検出されることが多く、シェーグレン症候群に特異的に出現すると考えられている<sup>12)16)</sup>。抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体を認めた油症患者では経過観察が必要と考えられる。

2013年度福岡県油症一斉検診の受診者において抗SS-A/Ro抗体の上昇を対照者に比べ油症患者において多い傾向を認めたが、出現率に差はなかった。血中PCB高濃度油症患者およびPCB低濃度患者の出現率に差はみられず、血中2,3,4,7,8-PeCDF高濃度油症患者および2,3,4,7,8-PeCDF低濃度患者の出現率に差はみられなかった。抗SS-B/La抗体は高齢の油症患者のみに認められ、全例において血中PCB濃度および血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が高濃度であった。油症において抗SS-B/La抗体の出現にPCBおよび2,3,4,7,8-PeCDFが関与している可能性が考えられ、抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体を認めた油症患者では経過観察が必要と考えられた。

## 総 括

2013年度福岡県油症一斉検診の受診者276例(油症患者192例、油症患者(同居家族)21例、未

認定患者 61 例, 観察者 2 例) において抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定した. 抗 SS-A/Ro 抗体は同居家族を含む油症患者に 9 例, 未認定患者に 1 例認め, 抗 SS-B/La 抗体は油症患者に 3 例認めた. 抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者において血中 PCB 低濃度患者と出現頻度に差をみなかったが, 抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者のみに認められ, 低濃度患者にみられなかった. また, 抗 SS-A/Ro 抗体は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度油症患者および 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度患者に出現率に差をみなかったが, 抗 SS-B/La 抗体は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度患者のみに認められ, 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度患者にはみられなかった. 抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 濃度および血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い油症患者のみに認められた.

### 参 考 文 献

- 1) Masuda Y and Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzo-furans 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). *福岡医誌* 94 : 126-135, 2003.
- 8) Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP and Becker JL : Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam. Appl. Toxicol.* 21 : 433-441, 1993.
- 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) Ben-Chetrit E, Gandy BJ, Tan EM and Sullivan KF : Isolation and characterization of a cDNA clone encoding the 60-kD component of the human SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen. *J. Clin. Invest.* 83 : 1284-1292, 1989.
- 12) Teplova M, Yuan YR, Phan AT, Malinina L, Ilin S, Teplov A and Patel DJ : Structural basis for recognition and sequestration of UUU(OH) 3' termini of nascent RNA polymerase III transcripts by La, a rheumatic disease autoantigen. *Mol. Cell* 21 : 75-85, 2006.
- 13) 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.
- 14) 辻博 : 油症患者における特異抗核抗体の検討. *福岡医誌* 104 : 73-77, 2013.
- 15) 穂山雄一郎, 小川文秀, 清水和宏, 佐藤伸一 : 油症認定患者血清中抗 SS-A 抗体, 抗 SS-B 抗体の検討. *福岡医誌* 100 : 124-126, 2009.
- 16) Peene I, Meheus L, Veys EM and De Keyser F : Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SSA and/or anti-SSB : the range of associated diseases differs according to the detailed serotype. *Ann. Rheum. Dis.* 61 : 1090-1094, 2002.

(Received for publication March 17, 2015)

## 長崎県油症患者における制御性 T 細胞 (Treg 細胞) の検討

<sup>1)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

<sup>2)</sup>長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚病態学

峯 嘉子<sup>1)</sup>, 鎌塚 大<sup>2)</sup>, 宇谷厚志<sup>2)</sup>

## Serum Levels of Regulatory T Cell in the Yusho Patients

Yoshiko MINE<sup>1)</sup>, Yutaka KUWATSUKA<sup>2)</sup> and Atsushi UTANI<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital

<sup>2)</sup>Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Nagasaki University

### Abstract

Dioxin and dioxin-like compounds receptor (Ahr) mainly expressed on the surface of regulatory T (Treg) cell and Th17 cell could regulate immunological functions in the Yusho patients. We prospectively analyzed data obtained in a total of 56 cases of Yusho, which include patients identified (‘Nintei’) or non-identified (‘Minintei’) or identified as a family member, at the annual health check in 2014. The number of Treg cell showed lower among identified patients compared with non-identified group or family identified group ( $p = 0.4184$  and  $p = 0.291$ , respectively). There was also a strong correlation between serum levels of neutral fat and the number of Treg cells ( $p = 0.0313$ ). These results suggest that Treg cell plays a principal role in the immune response among Yusho patients.

**Key words** : Yusho · Treg · Neutral fat

### はじめに

油症発生から 40 年以上が経過し、激しい皮膚症状、眼症状を呈する患者は減少傾向にあるが、依然として油症患者血中には高濃度のダイオキシンが残留している状態である。油症の原因であるカネミオイルには polychlorinated biphenyls (PCBs), polychlorinated quarterphenyls (PCQs) 及び polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) を含む dioxin 類が混在している事がわかっている<sup>1)</sup>。

ダイオキシンレセプターとして知られる Aryl hydrocarbon receptor (Ahr) は 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) や PCB などのダイオキシン類のレセプターとして、肺や肝臓をはじめとして幅広く発現が報告され<sup>2)</sup>、T 細胞においては Th17 細胞、Treg 細胞 (制御性 T 細胞)

に多く発現しているが、Th1 細胞、Th2 細胞にはほとんど発現が見られないことが明らかにされた<sup>3)4)</sup>。我々のグループは油症患者において、Treg 細胞から産生されるサイトカインである CTLA4, IL-10, IL-35 が血清中で上昇していることを示してきた。(しかしながら、これらの免疫異常があるものの、油症患者の炎症性疾患、アレルギー疾患の罹患率は健常人と同程度である。)

Treg 細胞 (制御性 T 細胞) は免疫応答の抑制的制御を司る T 細胞の一種であり、免疫応答機構の過剰な免疫応答を抑制するためのブレーキの役割を果たす。油症患者の免疫機能についてさらに検討を進めるべく、今回我々は、血清中の Treg 細胞に注目し、油症患者における血清 Treg 細胞数や、血清中の各種項目との関連について検討を行った。

Correspondence author : Atsushi UTANI, MD, PhD  
Professor and Chairman, Department of Dermatology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-12-4 Sakamoto, Nagasaki 852-8523, Japan.

## 実験方法

①サンプル：2014年7月に施行された長崎県油症検診五島玉之浦地区受診者のうち、同意を得られた受診者56名を対象とした。油症患者中、認定患者45名、家族認定8名、未認定患者3名であった。検診時に採血し、分離した後血球を取り出した。

②Treg細胞数の測定：分離した血球からフローサイトメトリーを用いてTreg細胞数を測定した。

③各種採血数値との相関：それぞれの採血各種項目（血算、生化学）とTreg細胞数の相関を測定した。

④統計的処理：測定したTreg値の統計的処理に、年齢や性別との関連についてはMann-WhitneyのU検定を、各種項目とTreg細胞数の相関にはSpearmanの順位相関係数の検定を使用した。

## 実験結果

長崎県の油症検診受診者56名において、認定患者45名、未認定患者3名および家族認定8名の平均年齢は各々  $67.84 \pm 12.44$  歳、 $73.00 \pm 4.359$  歳および  $63.63 \pm 11.24$  歳で有意差はなかった。それぞれの群における血清中Treg細胞数は認定患者(N)  $51.93 \pm 25.4/\mu\text{l}$ 、未認定患者(Mi)  $58.89 \pm 19.48/\mu\text{l}$ 、家族認定(Family)  $62.49 \pm 25.79/\mu\text{l}$ であった(図1)。性別とTreg細胞数の相関をみたところTreg数は男性で  $57.55 \pm 25.21/\mu\text{l}$ 、女性で  $48.65 \pm 23.72/\mu\text{l}$ であり、やや男性で高値であったが、有意差はなかった(図2)。年齢とTreg細胞値の相関は認めなかった。中性脂肪値とTreg細胞間の関係は、中性脂肪値が高い人ほど、Treg細胞数が高い傾向がみられ、統計上の有意差を認めた( $r=0.2881$ ,  $p=0.0313$ ) (図3)。総コレステロール値とTreg細胞数の相関はみられなかった。つづいて赤血球、ヘマトクリット、総蛋白、腎機能(クレアチニン値)、尿酸、HbA1cとTreg細胞値に関し検討を行ったが相関は認められなかった。

## 考察

ダイオキシンレセプターであるAhrは免疫系において重要な役割を担っている。AhrがTh17

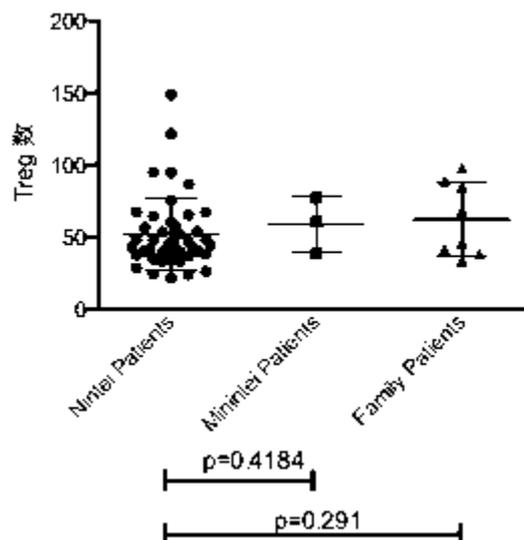


図1 油症患者血清中のTreg細胞数(認定患者(Nintai), 未認定患者(Minintai), 家族認定(Family))

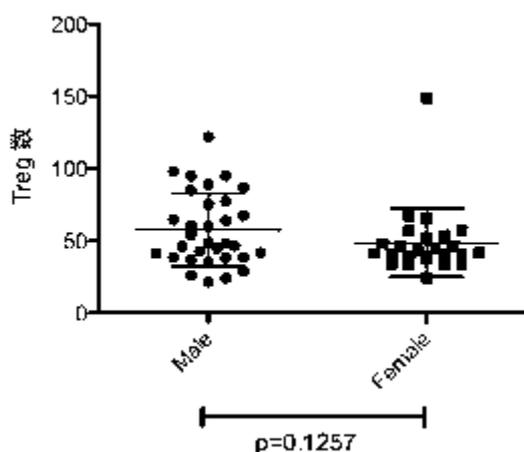


図2 性別によるTreg細胞数の比較

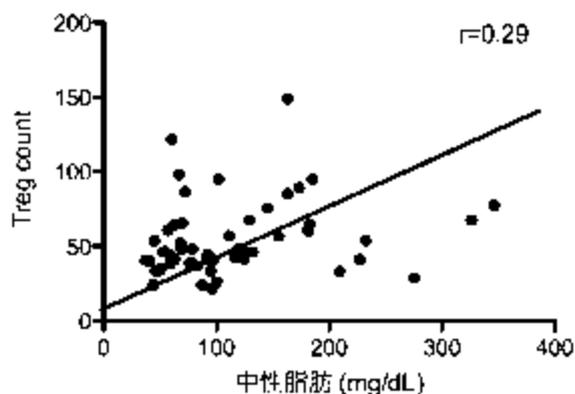


図3 中性脂肪とTreg細胞の関係

細胞や Treg 細胞の分化, Th1/Th2 細胞の分化バランスを調整していることが以下のように報告されている。In vitro で TCDD は Treg と Th17 細胞の分化を促進している<sup>3)</sup>。Ahr はダイオキシンと結合したのち, 免疫抑制をおこすことが知られており, とくに Treg や Th17 細胞の分化に重要である<sup>5)6)</sup>。

今回の研究で, 油症患者は非認定患者と比較し, 有意ではないものの Treg 細胞数が低値であった。これまで当科で行った実験で Treg 細胞由来サイトカインである CTLA4, IL-10, IL-35 が高値であったことから考えると矛盾した結果と言える。その理由として, ①油症認定患者に比べ, 非認定患者のサンプル数が少なかったこと, ②非認定患者も認定はされていないものの, カネミ油症事件当時にカネミオイルを摂取していた可能性のある人である, ことが考えられる。

一方, 血清中性脂肪値が高い人ほど Treg 細胞数が有意に高いという結果から, 中性脂肪が高い人ほど Ahr を介した Treg 細胞への分化が誘導されている可能性が示された。血清中性脂肪の高値が脂肪肝の発症リスクであることを考慮すると, 脂肪肝による肝臓での Ahr の発現上昇や, 血清中性脂肪が Ahr による Treg 細胞の分化を直接誘導している可能性がある。

免疫応答は様々な疾患の発症リスクと関連するものであり, 今後も油症患者における Treg 細胞や Th17 細胞の働きについてさらなる検討が必要であると考ええる。

## 結 論

油症患者は現在でもダイオキシン類の血中濃度が高く, 様々な症状を有しているのが現状である。油症患者における Treg 細胞に関する更なる検討が, 油症患者の QOL 向上, 病態解明に繋がるよう役立てていきたい。

尚, 当研究は長崎大学病院倫理審査委員会にて承認を受けて実施した(承認番号 14062379, 2014/6/30 承認)。

## 謝 辞

血算, 生化学データを提供して頂いた長崎県環境保健研究センターの方々, ならびにフローサイトメトリー解析を行って頂いた長崎大学病院検査部の方々にこの場をかりて御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Aoki Y : Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters--what we have learned from Yusho disease. *Environ Res.* 86 : 2-11, 2001.
- 2) Dolwick KM, Schmidt JV, Carver LA, Swanson HI, Bradfield CA : Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. *Mol Pharmacol* 44 : 911-917, 1993.
- 3) Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T : Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 105 : 9721-9726, 2008.
- 4) Kramer JM, Gaffen SL : Interleukin-17 : a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. *J Periodontol* 78 : 1083-1093, 2007.
- 5) Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, Korn T, Farez MF, Bettelli E : Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. *Nature* 453 : 65-71, 2008.
- 6) Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Buringham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cell. *J Immunol* 185(6) : 3190-3198, 2010.

(Received for publication March 13, 2015)

## ダイオキシン母体曝露による発達児の甲状腺ホルモンへの影響

<sup>1)</sup>九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学分野

<sup>2)</sup>第一薬科大学薬学部 環境化学教室

服部友紀子<sup>1)</sup>, 武田知起<sup>1)</sup>, 田浦順樹<sup>1)</sup>, 黒木広明<sup>2)</sup>, 石井祐次<sup>1)</sup>, 山田英之<sup>1)</sup>

### The Effect of Maternal Exposure to Dioxins on the Level of Thyroid Hormone in Developing Pups

Yukiko HATTORI<sup>1)</sup>, Tomoki TAKEDA<sup>1)</sup>, Junki TAURA<sup>1)</sup>, Hiroaki KUROKI<sup>2)</sup>, Yuji ISHII<sup>1)</sup> and Hideyuki YAMADA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

<sup>2)</sup>Daiichi College of Pharmaceutical Sciences

#### Abstract

Maternal exposure to dioxins causes a number of developmental disorders in the offspring. Previous studies have suggested that lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) reduces the pup level of thyroid hormone after weaning, leading to the damage to their development including neural maturation. However, the specificity for age and dioxin congeners as well as dose dependency in terms of a reduction in pup thyroid hormone remains to be clarified. To address this issue, we investigated whether TCDD or 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF), one of the dioxins which caused 'Yusho' incident, affects the status of thyroid hormone during the fetal and neonatal periods. Treating pregnant rats at gestational day (GD)15 with 1 $\mu$ g/kg TCDD scarcely affected the serum concentration of thyroxine, although a significant reduction by TCDD was detected at limited endpoints [GD21 and postnatal day (PND)21]. In addition, maternal exposure to TCDD (0.05-30 $\mu$ g/kg) or PenCDF (1-1,000 $\mu$ g/kg) did not have any change in the serum level of thyroxine in GD20 fetuses even at the maximum dose. Neither the expression of pituitary thyroid-stimulating hormone  $\beta$  (TSH $\beta$ ) nor hypothalamic thyrotropin-releasing hormone was sensitive to TCDD treatment. In pregnant dams, TCDD decreased the serum level of thyroxine at GD20 and 21, while the pituitary expression of TSH $\beta$  was induced. These results suggest that a single administration of dioxins to pregnant rats at GD15 have little effect on the level of thyroxine in the fetuses and infants, while a reduced level of this hormone observed in the offspring at GD21 and PND21 and pregnant dams at GD20 and 21.

**Key words** : Dioxin · Thyroid hormone · Development · Rat

#### はじめに

ダイオキシン類は、現在も環境中に広く分布する環境汚染物質であり、生体に対して多岐にわたる毒性を惹起する<sup>1)</sup>。中でも、妊娠期や授乳期の母体への曝露により出生児に出現する発育障害は、障害発現に要する用量が小さく、成長後にまで障

害形質が残ることから問題が大きい<sup>2)</sup>。具体的には、妊娠ラットがダイオキシンの曝露を受けることにより、出生児に低身長・低体重<sup>3)4)</sup>、学習記憶能力障害<sup>5)6)</sup>並びに社会行動の低下<sup>7)</sup>などに代表される成長遅延や、生殖器官の委縮<sup>8)</sup>および交尾行動障害<sup>8)9)</sup>などの性未成熟が生じる。九州北部および台湾で発生した油症事件の追跡調査により、

Corresponding author : Hideyuki YAMADA  
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University  
Tel : +81-92-642-6585 Fax : +81-92-642-6588  
E-mail : hyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

被害者から出生した子供において低体重<sup>10)</sup>や認知発達の遅延<sup>11)</sup>等が示唆されている。さらに、ごく最近の健常者を対象とした疫学研究によって、ダイオキシン類による子供の発育への影響は、母親の食事由来の微量なダイオキシン類により引き起こされる可能性が懸念されている<sup>12)13)</sup>。このように、ダイオキシンによる発育障害の機構解明とそれに基づく解決策の構築は、ヒト次世代の健康を衛る上で今なお重要な課題である。

これまでの研究により、最強毒性のダイオキシンである2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)を妊娠 (gestational day; GD) 15日目のラットに投与することにより、離乳児において血中甲状腺ホルモン濃度が低下することが明らかとされている<sup>14)15)</sup>。さらに最近、妊娠期および授乳期の継続的なTCDD処理によって母体の甲状腺ホルモンが低下し、これと付随して児のレベルも減少することが見い出されている<sup>16)</sup>。これらと関連して、ヒト疫学調査においても、母体の血中ダイオキシン類濃度と胎盤あるいは新生児血中の甲状腺ホルモン濃度には負の相関があることが報告されている<sup>17)18)</sup>。甲状腺ホルモンは、神経の発達や骨格形成に重要であることから<sup>19)20)</sup>、ダイオキシンは発達期の本ホルモン低下を起点として発育障害を惹起するとの学説が提唱されている<sup>14)~16)21)</sup>。しかし、上記の実験動物を用いた既存研究の殆どは離乳後の児を対象として行われており、ダイオキシンが胎児や乳児のどの時期から甲状腺ホルモンを抑制するのことは十分に解析されていない。さらに、TCDD以外のダイオキシンによる障害性も検討されていない。これらを明らかにすることは、障害機構における甲状腺ホルモン減少の寄与を明らかにする上で重要と思慮される。そこで本研究では、妊娠ラットへのTCDD単回経口投与が児の血中甲状腺ホルモンに及ぼす影響の出現時期を明らかにすると共に、2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PenCDF)が胎児の血中甲状腺ホルモンに影響を及ぼすか否かを解析した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

TCDDは、AccuStandard社 (New Haven, CT, USA)より購入した。PenCDFは、我々の過去の

報告<sup>22)</sup>に基づいて合成した。Corn oilは、味の素株式会社の市販品を購入した。その他の試薬は、実験に適した純度のものを使用した。

### 2. 動物実験

TCDD (99% > purity) および PenCDF (99% > purity)<sup>22)</sup>は、40 $\mu$ g TCDD/mL acetone あるいは 130 $\mu$ g PenCDF/mL acetone 溶液として使用まで-30 $^{\circ}$ Cに保存した。用時に必要量 corn oil と混和したのち、acetone を窒素ガスで留去して調製した。

Wistar系雌性ラット (7週齢) および雄性ラット (10週齢) は、九動株式会社 (佐賀県鳥栖市)より購入した。雌雄ラットを一晩交配し、翌日膈内に精子が確認された日をGD0とした。GD15に、TCDD (0.05-30 $\mu$ g/kg) および PenCDF (1-1,000 $\mu$ g/kg) 溶液または、コントロールとして corn oil 油を単回経口投与した。GD17~21 および生後 (postnatal day; PND) 0, 4, 7, 10, 14, 21 および 28日目の児より視床下部、脳下垂体および血液を採取した。また、GD16~21の母体より脳下垂体および血液を採取した。採取した血液は、室温にて2時間程度放置したのち、4 $^{\circ}$ C, 3,000 rpmにて15分間遠心分離を行い血清とした。臓器および血清は、使用まで-80 $^{\circ}$ Cに保存した。

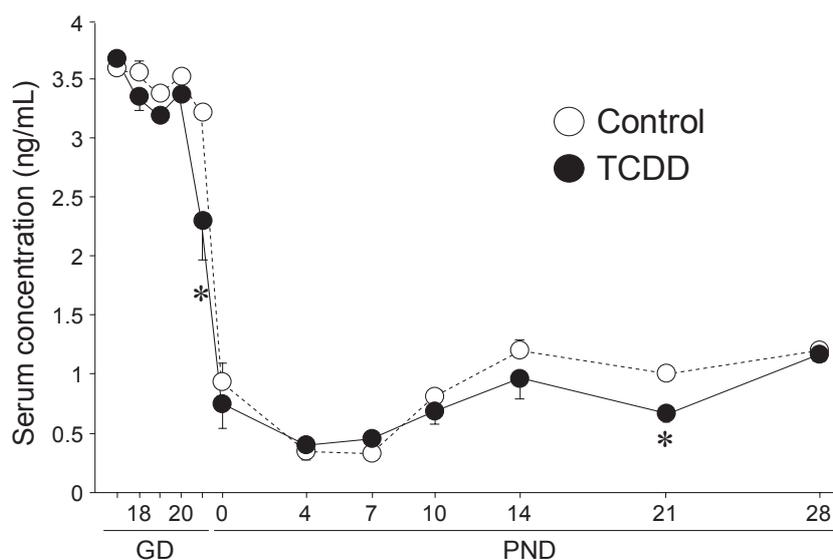
### 3. リアルタイム reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

mRNA発現量は、リアルタイム RT-PCR法を用いて解析した<sup>23)</sup>。摘出した臓器より、RNeasy Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)を用いて total RNA を抽出した。Total RNA は、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ株式会社、滋賀県大津市)を用いて、添付説明書に従って cDNA を合成した。リアルタイム PCRには、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies社、Carlsbad, CA, USA)を使用し、反応条件は [95 $^{\circ}$ C, 20秒-40サイクル (95 $^{\circ}$ C, 3秒-60 $^{\circ}$ C, 30秒)] とした。この反応ののち、増幅産物の特異性を確認するために融解曲線 [95 $^{\circ}$ C, 15秒-60 $^{\circ}$ C, 1分-60 to 95 $^{\circ}$ C (0.3 $^{\circ}$ Cずつ上昇, 各15秒)] を作製した。使用したプライマー配列は Table 1 に示す。目的遺伝子の発現量は、 $\beta$ -actin に対する相対値として解析した。

**Table 1** The primer sequences used for real-time PCR

Target mRNA	Forward (5' → 3') Reverse (5' → 3')	Product size (bp)	Accession No. <sup>a</sup>
TRH	TTGTGAAAGACCTCCAGCG CTCCCCTCTCTCAGCTTCA	127	NM_013046
TSH $\beta$	CAGAACGGTGGAAATACCGG GAATGTCTGTGGCTTGGTGC	157	NM_013116
$\beta$ -actin	CACCATGTACCCAGGCATCGC AGCCACCAATCCACACAGAG	122	V01217

<sup>a</sup>Genbank accession No. is shown.



**Fig. 1** Effect of maternal exposure to TCDD (1 $\mu$ g/kg at GD15) on the serum concentration of thyroxine in male pup. Pregnant rats (GD15) were orally treated with TCDD (1 $\mu$ g/kg). Each plot represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 3-4 pups which were removed (born) from different dams. Significantly different from control : \* $p$  < 0.05.

#### 4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

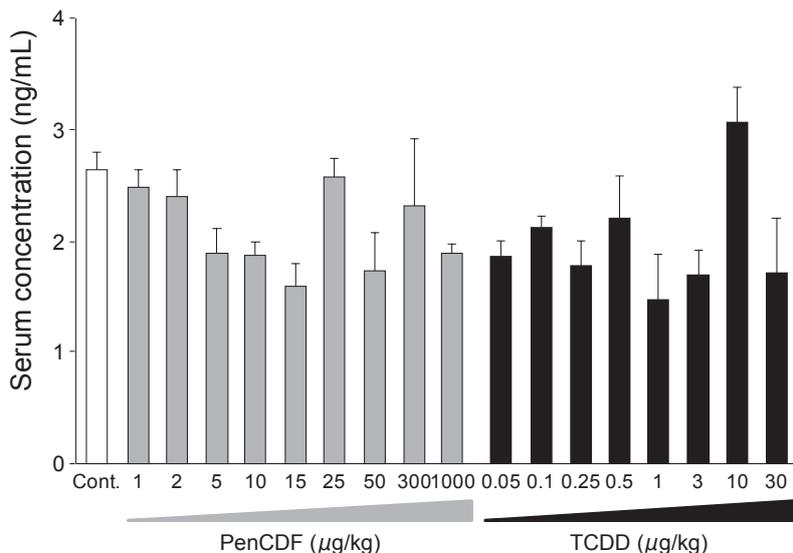
血清 free-thyroxine (T<sub>4</sub>) 濃度は、市販の free-Thyroxine ELISA Microwells (Monobind 社, Lake Forest, CA, USA) を用いて、添付説明書に従って測定した。胎児血清は測定時に滅菌水にて 3 倍希釈して使用した。

#### 結 果

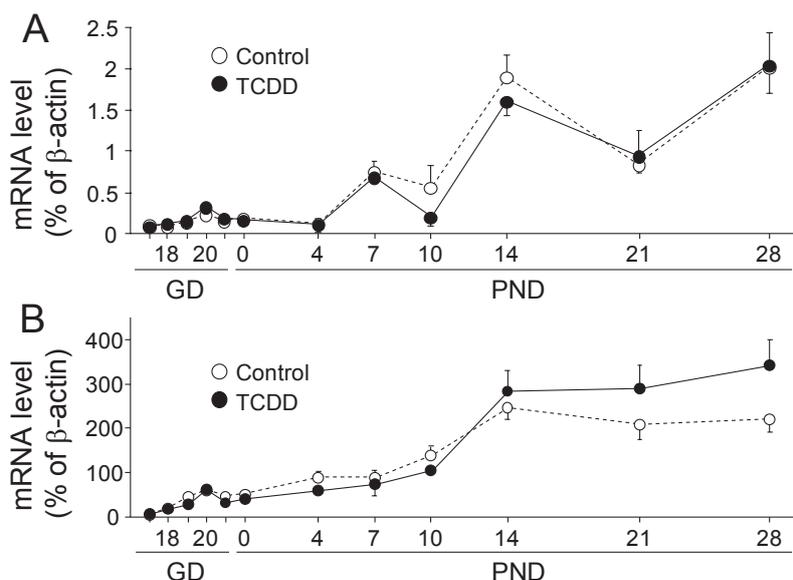
GD15 の妊娠ラットへの TCDD 単回経口投与が胎児および出生児の血中甲状腺ホルモン濃度に与える影響とその出現時期を明らかにするため、胎児から出生後にかけて児の血中 T<sub>4</sub> 濃度を測定した。その結果、TCDD は胎児期や授乳期における児の血中 T<sub>4</sub> 濃度には殆ど影響を与えず、出生

直前 (GD21) および離乳時期 (PND21) における一過性の減少を惹起するに止まった (Fig. 1)。さらに、TCDD および PenCDF 母体曝露が GD20 胎児の T<sub>4</sub> レベルに与える影響とその濃度依存性を解析した結果、両ダイオキシン共にいずれの濃度においても影響は認められなかった (Fig. 2)。これらの結果から、GD15 の妊娠ラットへのダイオキシン単回処理による甲状腺ホルモン減少は、少なくとも GD20 までは生じないこと、並びに授乳期においても影響は生じないことが明らかとなった。しかし、本検討においても 1 $\mu$ g/kg TCDD 母体曝露により離乳児の T<sub>4</sub> レベルの減少が確認され、既報<sup>14)15)</sup> と一致した結果が得られた。

T<sub>4</sub> 低下の機構解析のため、胎児および出生児



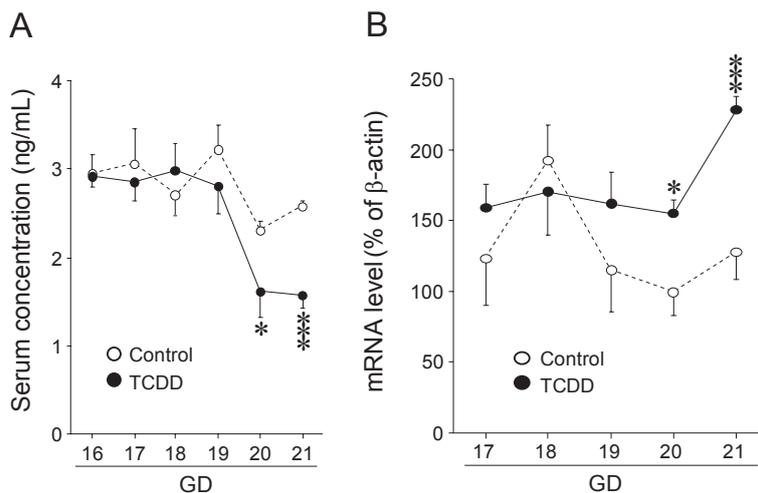
**Fig. 2** Absence of the effect of maternal exposure to TCDD (0.05–30 μg/kg) or PenCDF (1–1,000 μg/kg) on the serum level of thyroxine in male fetuses at GD20. Pregnant rats (GD15) were orally treated with TCDD (0.05–30 μg/kg) or PenCDF (1–1,000 μg/kg). Each bar represents the mean ± S.E.M. of 3–4 fetuses which were removed from different dams.



**Fig. 3** Absence of the effect of maternal exposure to TCDD on the hypothalamic expression of TRH (A) and pituitary expression of TSHβ (B) in male pups. The expression of target mRNAs was normalized by β-actin mRNA. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 4–10 pups which were removed (born) from different dams.

において T<sub>4</sub>合成の上位制御因子である視床下部の甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (thyrotropin-releasing hormone ; TRH) 並びに脳下垂体の甲状腺刺激ホルモン (thyroid-stimulating hormoneβ ; TSHβ) の遺伝子発現に対する影響を解

析した。その結果、両ホルモン発現に対する影響はいずれの時期においても観察されなかった (Fig. 3)。一方、TCDD が母体の血中 T<sub>4</sub>濃度に及ぼす影響を解析した結果、GD20 および GD21 において有意に低下することが明らかとなった



**Fig. 4** Effect of TCDD (1 $\mu$ g/kg at GD15) on the serum concentration of thyroxine (A) and the pituitary expression of TSH $\beta$  (B) in dam rats. Each plot represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 4 rats. Significantly different from control: \* $p$  < 0.05 and \*\*\* $p$  < 0.001.

(Fig. 4A). 母体脳下垂体における TSH $\beta$  mRNA 発現は同時期に TCDD により逆に増加し (Fig. 4B), これは T<sub>4</sub> 減少による脳下垂体へのフィードバックのためと考えられた。

## 考 察

本研究では、ダイオキシン母体曝露が胎児および出生児の血中 T<sub>4</sub> 濃度に及ぼす影響を解析した。その結果、GD15 母体へのダイオキシン曝露は、GD20 までの胎児および乳児の血中 T<sub>4</sub> 濃度には全く影響を及ぼさず、出生直前および離乳期の限定された時期においてのみ T<sub>4</sub> レベルを低下させることが明らかになった。さらに、GD20 胎児の T<sub>4</sub> レベルは TCDD および PenCDF 共に高用量曝露によっても影響を受けないことが確認された。これらの結果から、本検討におけるダイオキシン曝露条件下においては、胎児および新生児の甲状腺ホルモンレベルに対する影響は小さいことが明らかとなった。我々はこれまでに、本研究で用いたダイオキシン処理条件である GD15 母体への 1  $\mu$ g/kg の TCDD 処理により、GD20 以前より胎児において luteinizing hormone (LH) および growth hormone (GH) が減少し、出生児の発育が障害されること<sup>24)~31)</sup>、並びに TCDD と同様に PenCDF によっても用量依存的に胎児 LH/GH の減少が起こることを突き止めている<sup>29)</sup>。従って、

胎児および新生児の T<sub>4</sub> への影響はこれらへの影響と比較して小さく、妊娠後期のダイオキシン単回処理に基づく胎児や新生児の発育障害に対しては甲状腺ホルモン減少の寄与は少ないことが強く示唆された。一方、離乳後においては LH や GH の低下は観察されないことから<sup>27)28)</sup>、離乳期である PND21 の T<sub>4</sub> 低下は無視できないかもしれない。しかし、PND28 には T<sub>4</sub> 減少が消失する事実から、これの一過性の減少が発育障害にどの程度寄与するかはさらなる検討を要する。

TCDD は胎児期および出生後の視床下部 TRH および下垂体 TSH $\beta$  発現には影響を及ぼさず、妊娠期のダイオキシン曝露は児の甲状腺ホルモン合成制御系に影響を及ぼさないこと、並びに一過性の血中 T<sub>4</sub> 濃度の低下はこれらの変動では説明できないことが示唆された。胎生期のラット甲状腺は未熟であり、出生後から生後 3 週齢の間にホルモン分泌が高まる<sup>20)</sup>。すなわち、胎児期においては胎盤を介して移行する母体由来のホルモンが胎児での恒常性を維持し、発育に重要な役割を果たすことが知られている<sup>32)</sup>。本結果もこれをよく支持しており、胎児期の T<sub>4</sub> レベルは母体と同程度であるが、出生直後に顕著に減少し、GD20 および GD21 の母体での T<sub>4</sub> 低下と共に出生直前に胎児でも低下した。さらにこれと関連して、GD1 から離乳期に至るまでの持続的な TCDD 曝露に

よって、GD16より出産後まで継続して母体の甲状腺ホルモンが低下し、これと付随して児のホルモンレベルが減少することが示されている<sup>16)</sup>。本検討とは曝露量や時期が異なるが、より早い段階での曝露によって妊娠母体に影響が生じた場合には、胎児や新生児の甲状腺ホルモン減少を介した発育への影響に注意が必要と思われる。ヒトの場合、母親が日常的に食事から微量のダイオキシンを摂取し続ける問題から、妊娠期の持続的な低用量曝露による母子の甲状腺ホルモンへの影響の有無を明確にすることがヒト次世代へのリスクを考える上で重要である。

TCDDが離乳児の甲状腺ホルモンを減少させる機構には、代謝酵素であるUDP-glucuronosyl-transferase (UGT)の誘導が寄与する可能性が見い出されている<sup>14)15)</sup>。我々は、妊娠後期の母体肝臓においてもUGT発現が増加することを確認しており<sup>30)</sup>、離乳児のみならず母体のT<sub>4</sub>低下も、UGTによる代謝の亢進が一つの要因であると考えられる。さらに本検討では、離乳児で認められるT<sub>4</sub>の減少がPND28には既に消失することも見出した。一般に、授乳を介して児に移行するダイオキシン量は、胎盤から移行する量の約150倍にもものぼるため<sup>33)</sup>、乳児期の進行に従ってダイオキシン濃度は増加し、離乳以降は急激に減少する<sup>34)</sup>。従って、PND21においては、ダイオキシン濃度が高いために肝臓でのUGT発現が誘導されT<sub>4</sub>が低下するが、以降はダイオキシン濃度の低下により影響が消失したと考えられる。ダイオキシンによって高感度に誘導される遺伝子であるCYP1A1のTCDD依存的な発現上昇が、PND14の出生児視床下部では劇的に生じるが、PND28においては数倍程度に止まる事実も<sup>28)</sup>、上記の推定をよく支持する。

## 結 論

GD15の妊娠ラットへのダイオキシン曝露は、GD20までの胎児並びに乳児の甲状腺ホルモンレベルには影響を及ぼさず、本処理条件下においては甲状腺ホルモンへの影響は小さいことが明らかになった。

## 謝 辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金

(食品の安心・安全確保推進研究事業)(課題番号:H 24-食品-指定-014)および九州大学QRECアカデミックチャレンジ2014研究助成によった。

## 引 用 文 献

- 1) Poland A and Knutson JC : 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons : examination of the mechanism of toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22 : 517-554, 1982.
- 2) Peterson RE, Theobald HM and Kimmel GL : Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds : cross-species comparisons. *Crit. Rev. Toxicol.* 23 : 283-335, 1993.
- 3) Thiel R, Koch E, Ulbrich B and Chahoud I : Peri- and postnatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : effects on physiological development, reflexes, locomotor activity and learning behaviour in Wistar rats. *Arch. Toxicol.* 69 : 79-86, 1994.
- 4) Myllymäki SA, Haavisto TE, Brokken LJ, Viluksela M, Toppari J and Paranko J : In utero and lactational exposure to TCDD ; steroidogenic outcomes differ in male and female rat pups. *Toxicol. Sci.* 88 : 534-544, 2005.
- 5) Nishijo M, Kuriwaki J, Hori E, Tawara K, Nakagawa H and Nishijo H : Effects of maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on fetal brain growth and motor and behavioral development in offspring rats. *Toxicol. Lett.* 30 : 41-47, 2007.
- 6) Hojo R, Kakeyama M, Kurokawa Y, Aoki Y, Yonemoto J and Tohyama C : Learning behavior in rat offspring after in utero and lactational exposure to either TCDD or PCB126. *Environ. Health Prev. Med.* 13 : 169-180, 2008.
- 7) Negishi T, Shimomura H, Koyama T, Kawasaki K, Ishii Y, Kyuwa S, Yasuda M, Kuroda Y and Yoshikawa Y : Gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin affects social behaviors between developing rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Toxicol. Lett.* 160 : 233-244, 2006.
- 8) Gray LE Jr and Ostby JS : In utero 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) alters reproductive morphology and function in female rat offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 133 : 285-294, 1995.
- 9) Bjerke DL and Peterson RE : Reproductive toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in male rats : different effects of in utero versus

- lactational exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 127 : 241-249, 1994.
- 10) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N and Furue M : Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environ. Int.* 38 : 79-86, 2012.
  - 11) Chen YC, 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.
  - 12) Stølevik SB, Nygaard UC, Namork E, Haugen M, Meltzer HM, Alexander J, Knutsen HK, Aaberge I, Vainio K, van Loveren H, Løvik M and Granum B : Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins from the maternal diet may be associated with immunosuppressive effects that persist into early childhood. *Food Chem. Toxicol.* 51 : 165-172, 2013.
  - 13) Papadopoulou E, Kogevinas M, Botsivali M, Pedersen M, Besselink H, Mendez MA, Fleming S, Hardie LJ, Knudsen LE, Wright J, Agramunt S, Sunyer J, Granum B, Gutzkow KB, Brunborg G, Alexander J, Meltzer HM, Brantsæter AL, Sarri K, Chatzi L, Merlo DF, Kleinjans JC and Haugen M : Maternal diet, prenatal exposure to dioxin-like compounds and birth outcomes in a European prospective mother-child study (NewGeneris). *Sci. Total Environ.* 484 : 121-128, 2014.
  - 14) Nishimura N, Yonemoto J, Miyabara Y, Sato M and Tohyama C : Rat thyroid hyperplasia induced by gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Endocrinology.* 144 : 2075-2083, 2003.
  - 15) Nishimura N, Yonemoto J, Nishimura H, Ikushiro S and Tohyama C : Disruption of thyroid hormone homeostasis at weaning of Holtzman rats by lactational but not in utero exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Toxicol. Sci.* 85 : 607-614, 2005.
  - 16) Ahmed RG : Perinatal TCDD exposure alters developmental neuroendocrine system. *Food Chem. Toxicol.* 49 : 1276-1284, 2011.
  - 17) Maervoet J, Vermeir 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.
  - 18) Wang SL, Su PH, Jong SB, Guo YL, Chou WL and Pöpke O : In utero exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls and its relations to thyroid function and growth hormone in newborns. *Environ Health Perspect.* 113 : 1645-1650, 2005.
  - 19) Porterfield SP and Hendrich CE : The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development-current perspectives. *Endocr. Rev.* 14 : 94-106, 1993.
  - 20) Forhead AJ and Fowden AL : Thyroid hormones in fetal growth and parturition. *J. Endocrinol.* 221 : 87-103, 2014.
  - 21) Sher ES, Xu XM, Adams PM, Craft CM and Stein SA : The effects of thyroid hormone level and action in developing brain : are these targets for the actions of polychlorinated biphenyls and dioxins? *Toxicol. Ind. Health.* 14 : 121-158, 1998.
  - 22) Kuroki H, Haraguchi K and Masuda Y : Synthesis of polychlorinated dibenzofuran isomers and their gas chromatographic profiles. *Chemosphere.* 13 : 561-573, 1984.
  - 23) Matsumoto Y, Ishida T, Takeda T, Koga T, Fujii M, Ishii Y, Fujimura Y, Miura D, Wariishi H and Yamada H : Maternal exposure to dioxin reduces hypothalamic but not pituitary metabolome in fetal rats : a possible mechanism for a fetus-specific reduction in steroidogenesis. *J. Toxicol. Sci.* 35 : 365-373, 2010.
  - 24) Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, Kagawa T, Ishida T, Ishii Y and Yamada H : Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis in rats. *Endocrinology.* 147 : 927-936, 2006.
  - 25) Taketoh J, Mutoh J, Takeda T, Ogishima T, Takeda S, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Suppression of fetal testicular cytochrome *P450 17* by maternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : a mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. *Life Sci.* 80 : 1259-1267, 2007.
  - 26) Takeda T, Matsumoto Y, Koga T, Mutoh J, Nishimura Y, Shimazoe T, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Maternal exposure to dioxin disrupts gonadotropin production in fetal rats and imprints defects in sexual behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329 : 1091-1099, 2009.
  - 27) Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin silences gonadotropin expression in perinatal pups by inducing histone deacetylases : a new insight into the mechanism for the imprinting of sexual immaturity by dioxin. *J. Biol. Chem.* 287 : 18440-18450, 2012.

- 28) Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Yamamoto M, Shimazoe T, Ishii Y, Himeno M and Yamada H : Maternal exposure to dioxin imprints sexual immaturity of the pups through fixing the status of the reduced expression of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone. *Mol. Pharmacol.* 85 : 74-82, 2014.
- 29) Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M and Yamada H : 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran is far less potent than 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in disrupting the pituitary-gonad axis of the rat fetus. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 281 : 48-57, 2014.
- 30) Hattori Y, Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin-induced fetal growth retardation : the role of a preceding attenuation in the circulating level of glucocorticoid. *Endocrine.* 47 : 572-580, 2014.
- 31) Takeda T, Taura J, Hattori Y, Ishii Y and Yamada H : Dioxin-induced retardation of development through a reduction in the expression of pituitary hormones and possible involvement of an aryl hydrocarbon receptor in this defect : a comparative study using two strains of mice with different sensitivities to dioxin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 278 : 220-229, 2014.
- 32) Loubière LS, Vasilopoulou E, Bulmer JN, Taylor PM, Stieger B, Verrey F, McCabe CJ, Franklyn JA, Kilby MD and Chan SY : Expression of thyroid hormone transporters in the human placenta and changes associated with intrauterine growth restriction. *Placenta.* 31 : 295-304, 2010.
- 33) Van den Berg M, Heeremans C, Veenhoven E and Olie K : Transfer of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans to fetal and neonatal rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 9 : 635-644, 1987.
- 34) Nau H, Bass R and Neubert D : Transfer of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) via placenta and milk, and postnatal toxicity in the mouse. *Arch. Toxicol.* 59 : 36-40, 1986.

(Received for publication March 13, 2015)

## 油症検診における骨密度の解析

九州大学大学院医学研究院 整形外科学分野

福 士 純 一, 岩 本 幸 英

### Bone Mineral Density in Yusho Health Examination

Jun-ichi FUKUSHI and Yukihide IWAMOTO

*Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences,  
Kyushu University Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan*

#### Abstract

We examined the bone mineral density in Yusho patients. 460 subjects underwent dual-energy X-ray absorptiometry bone scans as part of the nationwide Yusho health examination in 2011. Serum levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxin, polychlorinated dibenzofurans, and non-ortho polychlorinated biphenyls were measured using high-resolution gas chromatography and high-resolution mass spectrometry. The average age was 64.0 years in women and 63.4 in men. About one-third (35%) of women ( $n = 89$ ) had low bone mineral density (BMD), defined as a T-score less than -70, while only 4.9% of men ( $n = 10$ ) had low BMD. Serum levels of several congeners were positively associated with Z-scores in simple regression analysis. Further multivariate linear regression analysis should be required in the future.

**Key words :** Yusho · Osteoporosis · Bone mineral density

#### はじめに

骨は、骨形成と骨吸収のバランスによってダイナミックに制御される組織で、そのバランスには性ホルモンや環境因子など、様々な要素が複雑に影響している。PCBに代表される有機塩化物、なかでもダイオキシン類は性ホルモン様の作用を示すことから、骨代謝に及ぼす影響が懸念され、実験室レベルでも、また生体レベルにおいても骨代謝への様々な影響が検討されている。

油症患者へのアンケート結果から、血中ダイオキシン類濃度の増加と、身長縮みとの間に正の関連があることが判明し、2007年度より福岡県および長崎県の油症検診において、2009年度からは全国の検診会場にて骨密度測定が施行されている。

油症における骨粗鬆症の合併頻度、ならびに骨密度とダイオキシン類濃度との関連について評価検討することが本研究の目的である。

#### 対象および方法

2011年度に油症一斉検診に参加した460名のうち、二重X線吸収法(DXA)にて骨密度測定を行った受診者を対象とした。検診においては、骨粗鬆症の治療歴の有無を、油症相談員より聴取、もしくは問診票を用いて確認した。

骨密度は非利き腕の橈骨遠位端をDXA法にて測定した。機材はALOKA DCS-600EX(福岡県、大阪府、高知県)、東洋メディック Discovery Wi(広島県、島根県)、DTX-200(長崎県)、ホロジック Delphi A(埼玉県)を用いた。若年成人(20

Corresponding author : Jun-ichi FUKUSHI  
Department of Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University  
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan  
Tel : +81-92-642-5488  
E-mail : fukushi@med.kyushu-u.ac.jp

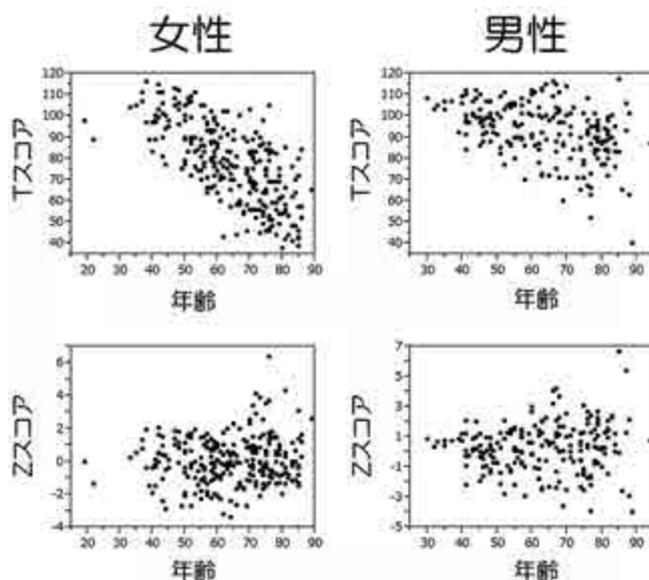


図1 Tスコア、Zスコアと年齢の散布図

～44才)の平均骨密度(YAM)に対する評価としてTスコアを、同一年齢の平均骨密度に対する評価としてZスコアを用いた。

$$Tスコア = (\text{骨密度}/YAM) \times 100$$

$$Zスコア = (\text{骨密度} - \text{同一年齢の平均骨密度}) / \text{同一年齢の平均骨密度の標準偏差}$$

ダイオキシン類濃度については、2006年の一斉検診にて測定された結果を用いて、骨密度Zスコアとの関連を検討した。両側 $p < 0.05$ をもって統計学的に有意と判定した。

データ解析は、匿名化された結果を用いて行われ、個人情報の保護について厳重な配慮がなされた。

## 結 果

解析対象者は男性206名、女性254名で、福岡県193名(男性78名、女性115名)、長崎県192名(男性85名、女性107名)、その他の県75名(男性43名、女性32名)であった。平均年齢は男性63.4才、女性64.0才であった。このうち未認定者は男性69名、女性93名で計162名であった。

YAM 70～80%の骨量低下を、男性19名(9.2%)、女性48名(18.9%)に、YAM 70%未満の低下を男性10名(4.9%)、女性では89名(35.0%)に認めた。認定者と未認定者の間で、骨密度に有意な差はなかった。

解析対象者の年齢とTスコア、Zスコアの散布

図を図1に示す。男女ともに年齢が高いほどTスコアは減少し、強い負の関連を認めた。Zスコアの平均値(SD)は男性0.32(1.60)、女性0.07(1.42)であった。

骨密度とダイオキシン類濃度との関連を検討した結果を、表1に示す。Zスコアは男性においては2,3,7,8-TCDD、3,3',4,4'-TCB(#77)と、女性で3,3',4,4'-TCB(#77)、T Non-ortho PCBs-TEQと正に関連していた。

## 考 察

ダイオキシン類が生体の骨代謝へ及ぼす影響は、マウスからサルに至るまで様々な動物種において、骨密度のほかにも、CTを用いた骨の形態測定や骨強度の測定など用いて検討されている。マウスでは、出生直後に母乳を介してTCDDを投与すると、生後21日目の評価で脛骨の石灰化が低下し、骨芽細胞由来の遺伝子発現レベルが減少すると報告されている<sup>1)</sup>。ラットにおいては、TCDDの成体への投与で髓腔面積の減少と骨強度の低下が<sup>2)</sup>、母体への投与で新生仔大腿骨長の短縮と、骨密度および骨強度の低下が報告されている<sup>3)</sup>。ヤギやヒツジにおいては、CB153投与群では骨密度が増加し、髓腔面積が減少していたが、骨強度の変化はなかったと報告されている<sup>4)5)</sup>。また、アカゲザルに低濃度のTCDDを投与すると、メスでは大腿骨の石灰沈着の増加が、オスでは骨強

表1 末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連

vs. 変数	男 性		女 性	
	相 関	有意確率	相 関	有意確率
2,3,7,8-TCDD	0.2239	<b>0.0237</b>	0.1144	0.2152
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1777	0.074	0.0788	0.3945
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.0943	0.3458	0.1533	0.0959
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.1393	0.1626	-0.0134	0.8847
2,3,7,8-TCDF	0.1618	0.1043	0.1618	0.1043
1,2,3,7,8-PeCDF	0.0678	0.4982	0.0678	0.4982
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.0658	0.5109	0.0658	0.5109
3,3',4,4'-TCB (#77)	0.2384	<b>0.0158</b>	0.1802	<b>0.0499</b>
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.1444	0.1477	0.0615	0.5066
T Non-ortho PCBs-TEQ	0.069	0.4907	0.2008	<b>0.0286</b>

度の増大が報告されている。実験動物を用いた研究からは、動物種や化合物の種類、暴露の時期や性別などによって、骨代謝への影響が大きく異なることが示唆される。

有機塩化物、なかでも PCB とヒトの骨粗鬆症との関連については、北欧を中心に複数の疫学調査が行われているが、一定の結論は得られていない。Hodgson らによるスウェーデン住人 325 名の調査では、ダイオキシン様異性体である CB118 が男性では骨密度と負に関連する一方で、女性においては骨密度と正に関連していた。もっとも濃度の高い非ダイオキシン様 PCB 異性体 3 種 (CBs-138, 153, 180) を合計した値は、男性において骨密度と正に関連していた<sup>6)</sup>。また Glynn らの調査では、スウェーデン人男性 115 名において、ダイオキシン様異性体である CB167 と骨密度が、交絡因子を調整した後に正に関連していた<sup>7)</sup>。Cote らはグリーンランドの閉経前後のイヌイット女性 153 名において、超音波法を用いて骨密度を測定し、血中の有機塩化物濃度との関連を検討した。有機塩化物暴露の指標となる CB153 と骨密度は負に関連したが、体重や治療の既往などを考慮した多変量解析を行うと関連を認めなかった。ダイオキシン様 PCB の中では、CB105 と CB118 は骨密度と関連しないが、CB156 は有意に正に関連したと報告している<sup>8)</sup>。また Rignell-Hydbom らは、閉経後のスウェーデン女性 908 名において、血清中の CB153 と骨密度との関連を認めなかったと報告している<sup>9)</sup>。ごく最近 Eskenazi らは、イ

タリア・セボンでの TCDD 曝露の調査を行い、閉経の有無に関係なく、血清 TCDD 濃度と骨密度の間には有意な関連を認めなかったと報告した。一方、大腿骨近位部の構造力学的解析 (hip structure analysis) において、骨強度の指標とされる断面 2 次モーメントが、TCDD 濃度と正に関連し、骨代謝への明らかな負の作用を認めなかったと結論している<sup>10)</sup>。

2005 年に油症認定患者 1,257 名を対象として、骨粗鬆症に関するアンケート調査が行われ、身長縮みの有無、背中の曲がりや痛みなどの有無が調査された。有訴割合とダイオキシン類レベルの関連を解析したところ、身長縮みや背中の痛み、背中の曲がりやダイオキシン類レベルとの間に関連を認めた。このように骨粗鬆症に関連した愁訴が多いことを背景に、2009 年から全国の油症検診にて骨密度が測定されている。我々は以前、福岡県と長崎県の検診結果を解析し、複数のダイオキシン類異性体と骨密度との間に、単回帰分析において正の関連があることを報告した<sup>11)</sup>。今回の検討では福岡・長崎以外の約 80 名を加えて解析したが、単回帰分析ではこれまでと同様の傾向であった。骨密度は BMI や喫煙歴、甲状腺疾患や糖尿病といった既往歴など、さまざまな要因に影響される。なかでも BMI が骨密度に与える影響は大きく、また、ダイオキシン類濃度と BMI との関連も報告がされている<sup>12)</sup>。今後はこれらの交絡因子を考慮した重回帰分析を行うとともに、新たな骨粗鬆症性骨折の発生も調査に加えた検討を

計画している。

## 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) Nishimura N, Nishimura H, Ito T, Miyata C, Izumi K, Fujimaki H and Matsumura F : Dioxin-induced up-regulation of the active form of vitamin D is the main cause for its inhibitory action on osteoblast activities, leading to developmental bone toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 236 : 301-309, 2009.
- 2) Jämsä T, Viluksela M, Tuomisto JT, Tuomisto J and Tuukkanen J : Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on bone in two rat strains with different aryl hydrocarbon receptor structures. *J Bone Miner Res*. 16 : 1812-1820, 2001.
- 3) Miettinen HM, Pulkkinen P, Jamsa T, Koistinen J, Simanainen U, Tuomisto J, Tuukkanen J and Viluksela M : Effects of in utero and lactational TCDD exposure on bone development in differentially sensitive rat lines. *Toxicol Sci*. 85 : 1003-1012, 2005.
- 4) Gutleb AC, Arvidsson D, Orberg J, Larsson S, Skaare JU, Aleksandersen M, Ropstad E and Lind PM : Effects on bone tissue in ewes (Ovies aries) and their foetuses exposed to PCB 118 and PCB 153. *Toxicol Lett*. 192 : 126-133, 2010.
- 5) Lundberg R, Lyche JL, Ropstad E, Aleksandersen M, Ronn M, Skaare JU, Larsson S, Orberg J and Lind PM : Perinatal exposure to PCB 153, but not PCB 126, alters bone tissue composition in female goat offspring. *Toxicology*. 228 : 33-40, 2006.
- 6) Hodgson S, Thomas L, Fattore E, Lind PM, Alfven T, Hellstrom L, Hakansson H, Carubelli G, Fanelli R and Jarup L : Bone mineral density changes in relation to environmental PCB exposure. *Environ Health Perspect*. 116 : 1162-1166, 2008.
- 7) Glynn AW, Michaelsson K, Lind PM, Wolk A, Aune M, Atuma S, Darnerud PO and Mallmin H : Organochlorines and bone mineral density in Swedish men from the general population. *Osteoporos Int*. 11 : 1036-1042, 2000.
- 8) Cote S, Ayotte P, Dodin S, Blanchet C, Mulvad G, Petersen HS, Gingras S and Dewailly E : Plasma organochlorine concentrations and bone ultrasound measurements : a cross-sectional study in peri- and postmenopausal Inuit women from Greenland. *Environ Health*. 5 : 33, 2006.
- 9) Rignell-Hydbom A, Skerfving S, Lundh T, Lindh CH, Elmstahl S, Bjellerup P, Junsson BA, Strumberg U and Akesson A : Exposure to cadmium and persistent organochlorine pollutants and its association with bone mineral density and markers of bone metabolism on postmenopausal women. *Environ Res*. 109 : 991-996, 2009.
- 10) Eskenazi B, Warner M, Sirtori M, Fuerst T, Rauch SA, Brambilla P, Mocarelli P and Rubinacci A : Serum dioxin concentrations and bone density and structure in the Seveso Women's Health Study. *Environ Health Perspect*. 122 : 51-57, 2014.
- 11) 岩本幸英, 福士純一, 徳永章二 : 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握とその治療法の開発等に関する研究 平成 21 年度総括・分担研究報告書 39-43, 2010.
- 12) Kim MJ, Marchand P, Henegar C, Antignac JP, Alili R, Poitou C, Bouillot JL, Basdevant A, Le Bizec B, Barouki R and Clement K : Fate and complex pathogenic effects of dioxins and polychlorinated biphenyls in obese subjects before and after drastic weight loss. *Environ Health Perspect*. 119 : 377-383, 2011.

(Received for publication March 13, 2015)

## カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期と 芳香族炭化水素受容体 (AhR) の SNP の関係

<sup>1)</sup> 奈良県立医科大学 健康政策医学講座

<sup>2)</sup> 福岡県保健環境研究所

<sup>3)</sup> 福岡市立こども病院

<sup>4)</sup> 九州大学 環境発達医学研究センター

<sup>5)</sup> 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>6)</sup> 九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

松本伸哉<sup>1)</sup>, 赤羽 学<sup>1)</sup>, 神奈川芳行<sup>1)</sup>, 梶原淳睦<sup>2)</sup>, 月森清巳<sup>3)</sup>,  
和氣徳夫<sup>4)</sup>, 三苫千景<sup>6)</sup>, 内 博史<sup>5)</sup>, 古江増隆<sup>5)6)</sup>, 今村知明<sup>1)</sup>

## Relationships between Half-Lives of Dioxins and SNPs in AhR among Yusho Patients

Shinya MATSUMOTO<sup>1)</sup>, Manabu AKAHANE<sup>1)</sup>, Yoshiyuki KANAGAWA<sup>1)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>2)</sup>,  
Kiyomi TSUKIMORI<sup>3)</sup>, Norio WAKE<sup>4)</sup>, Chikage MITOMA<sup>6)</sup>, Hiroshi UCHI<sup>5)</sup>,  
Masutaka FURUE<sup>5)6)</sup> and Tomoaki IMAMURA<sup>1)</sup>

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

<sup>2)</sup> *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*

<sup>3)</sup> *Fukuoka Children's Hospital*

<sup>4)</sup> *Research Center for Environment and Developmental Medical Sciences*

<sup>5)</sup> *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University*

<sup>6)</sup> *Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital*

### Abstract

Half-lives of blood levels of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF) are varied in Yusho patients. The objective was to evaluate a relationship between half-lives of PeCDF levels and types of SNP rs10249788 of aryl hydrocarbon receptor (AHR) gene in 93 Yusho patients. Based on physical symptoms, age, sex, body mass index and other factors, we set up suitable calculation formulas to fit the actual PeCDF levels thorough rates of change in PeCDF. We found that patients with C/T SNP had longer half lives than patients with C/C and T/T SNPs. Patients with T/T SNP are known to express higher amount of AHR mRNAs. However, detailed analysis could not be carried out in T/T group due to a limited number of patients (n=11). Further research is warranted to determine the cause of the longer half-lives in C/T patients.

**Key words** : Yusho · Half-life · Dioxin-like compound · AhR · SNPs

## 目 的

油症は、1960年代後半に九州北部で発生したダイオキシン類による中毒事件である。当初は、polychlorinated biphenyl (PCB) が原因と考えられていた。しかし、研究の結果、主たる原因は、ダイオキシン類の一つである、2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF) であることが判明した<sup>1)</sup>。

平成14年度から、油症検診の際にダイオキシン類濃度の計測をしている<sup>1)</sup>。我々はこの測定結果をもとに半減期の算出を行った。油症患者では、これまでの研究で指摘されている半減期で減少しているだけではなく、高濃度であるにも関わらず、ほとんど減少していない患者がいることを指摘した<sup>2)</sup>。さらに、半減期と症状の関係を明らかにした<sup>3)</sup>。

平成23年度に患者の芳香族炭化水素受容体 (Arylhydrocarbon Receptor, AhR) の SNP (一塩基多型) に関する調査が行われている<sup>4)</sup>。ダイオキシン類は、AhR に結合し、チトクローム P450 などの解毒酵素を産生することが知られている。

本研究では、ダイオキシン類の半減期と SNP の関係を確認することを目的とした。

## 方 法

### 1. 対象患者

AhR の SNP 検査を行った患者のうち、2002年～2010年の間に2回以上ダイオキシン類濃度の測定を実施し、最初の測定から最後の測定までの間が4年以上の患者で、平均血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が50 pg/g lipid以上の患者、93名を対象とした。表1に対象患者の分布を示す。

表1 対象患者人数

年 齢	男 性			女 性		
	C/C	C/T	T/T	C/C	C/T	T/T
40-49				1	1	
50-59	1	1		4	4	1
60-69	9	7	2	10	13	1
70-79	8	4	6	9	7	1
80-89	1	1			1	

### 2. 分析手法

最初に、AhR 遺伝子のプロモーター領域の SNP (C ⇒ T の変異) 調査結果を用いて、性別、

年齢階級別 (10歳刻み) に SNP の頻度分析を実施した。

次に、半減期と SNP の間の関係を分析するために、対象患者の症状/状態から、濃度の変化率を導く方程式を次のように仮定する。症状/状態の一つとして、SNP を評価する。

$$a_i = \alpha_0 + \alpha_1 x_{i1} + \dots + \alpha_n x_{in} \quad \text{式 1}$$

$i$ : 患者番号

$x_{ij}$ : 患者  $i$  症状  $j$  に対する症状の強さ

$\alpha_j$ : 半減期を推定する係数

このとき、患者  $i$  の半減期は次の式で与えられる。

$$\text{半減期}_i = -\frac{\ln(2)}{a_i} \quad \text{式 2}$$

各患者の濃度の変化率を用いて、各患者の血液脂質中の PeCDF 濃度の自然対数を推定する式を組み立てる。

$$\ln C_{it} = b_i + a_i t \quad \text{式 3}$$

$t$ : 測定年度

式3に式1を代入し、各患者、各測定年度の測定値を代入することで、連立方程式にして、各係数を求める。

そして、体重の変化が半減期へ影響を及ぼすのではなく、測定時の体重が濃度へ影響を及ぼすモデルを付加する。

$$C(t) = \frac{C_0}{Q_0^r} \cdot Q(t)^r \cdot e^{at} \quad \text{式 4}$$

$C_0$ : 基準年度における濃度

$Q_0$ : 基準年度における体重

$r$ : 体脂肪量が濃度に与える影響係数

これを対数化し、線形結合で表現できるとする。

$$\ln C_{it} = b_i + \ln \frac{C_{i0}}{Q_{i0}^r} + r \cdot \ln Q_{it} + a_i t \quad \text{式 5}$$

半減期係数を求める係数と、各患者の濃度の半減期を未知数とする過剰な連立方程式を組み立てた。

$$\begin{bmatrix} \log_2 C_{11} \\ \vdots \\ \log_2 C_{1l} \\ \log_2 C_{21} \\ \vdots \\ \log_2 C_{ml} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & Q_{11} & 1 \cdot x_{11} & \cdots & 1 \cdot x_{1n} & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & \vdots \\ l & Q_{1l} & l \cdot x_{11} & \cdots & l \cdot x_{1n} & 1 \\ 1 & Q_{21} & 1 \cdot x_{21} & \cdots & 1 \cdot x_{2n} & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & \ddots \\ l & Q_{ml} & l \cdot x_{m1} & \cdots & l \cdot x_{mn} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \alpha_0 \\ \gamma \\ \alpha_1 \\ \vdots \\ \alpha_n \\ b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_m \end{bmatrix}$$

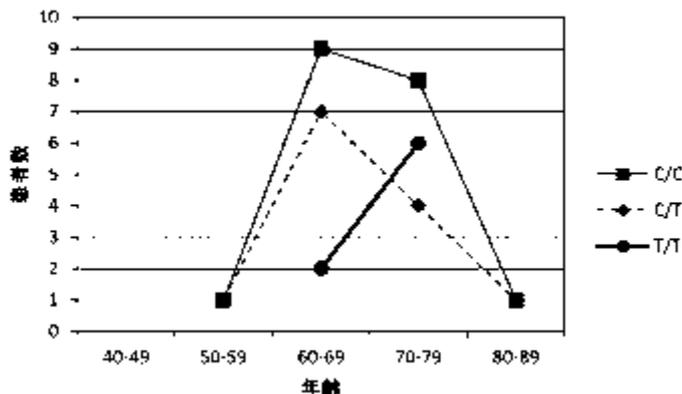


図 1 (a) 男性の遺伝子型ごとの年齢分布

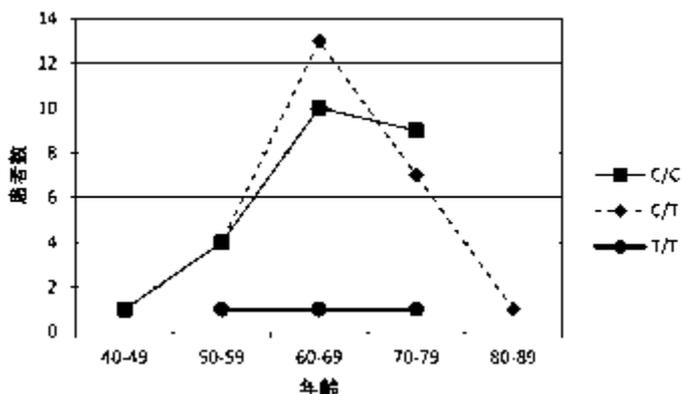


図 1 (b) 女性の遺伝子型ごとの年齢分布

統計ツール R の lm 機能を用いて解くことにより、症状から半減期逆数を求める方程式を作成した。症状の項目のすべてに対して係数を求め、その統計値を比較し、もっともフィットしたと考えられる症状を確定する。順次、症状を増やしていくことで、半減期逆数を求める方程式を作成した。

血中ダイオキシン類濃度は、測定時の種々の影響を受ける。体内の各異性体の総量（体内負荷量）の変化を推定すべきである。Deurenbergらは、性・年齢・BMI から、体脂肪率を推定する式を提案した<sup>5)</sup>。

$$BF\% = 1.20 \times BMI + 0.23 \times age - 10.8 \times sex - 5.4$$

式 6

$age(\text{years})$

$sex : male(0)/female(1)$

この推定体脂肪率と体重を掛け合わせ、体脂肪量を推定することができる。さらに、血中脂質あたりのダイオキシン類濃度をかけることにより、

体内負荷量を推定することができる。この推定体内負荷量を目的変数として、この変化の推定する式を推定した。

## 結 果

### 1. 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を推定する式

図 1 (a)に、男性の遺伝子型ごとの年齢分布を示す。図 1 (b)に女性の遺伝子型ごとの年齢分布を示す。

### 2. 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を推定する式

表 2 に、2,3,4,7,8-PeCDF の血中濃度を推定する式の推定結果を示す。図 2 に、表 2 の中で濃度の変化率を推定する箇所だけをとりだした式を示す。この式に、C/T 型患者の項に「1」を代入すると、 $-0.007715$  となり、C/T 型の患者の半減期が約 90 年で、C/T 型以外の患者は、C/T 型患者の項に「0」を代入すると、 $-0.016865$  となり、半

減期が40年で、C/T型の患者で半減期が長いという結果であった。

表2 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度推定の係数

	係数	t value	p value
測定時血中脂質濃度	-0.426797	-8.029	$1.83 \times 10^{-14}$
測定時体重	0.691457	3.867	0.000133
濃度変化率定数項	-0.016865	-5.914	$8.48 \times 10^{-09}$
濃度変化率C/T患者	0.009150	2.185	0.029597

図2 濃度変化率を推定する式

[濃度の変化率] =  $-0.016865 + 0.009150 \times [C/T患者]$

### 3. 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を推定する式 (T/T型以外)

T/T型の患者の年齢分布が他と異なることから、T/T型を対象外とし、C/C型とC/T型を対象とした。2,3,4,7,8-PeCDFの血中濃度を推定する式の推定結果を示す(表3)。図3に、表3の中で濃度の変化率を推定する箇所だけをとりだした式を示す。この式に、C/T型患者の項に「1」を代入すると、 $-0.007644$ となり、この逆数で、C/T型の患者は半減期が約90年であった。C/C型の患者は、C/T型患者の項に「0」を代入すると、 $-0.01705$ となり、C/C型の患者は、半減期が40年であった。C/T型の患者で、半減期が長いという結果であった。

表3 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度推定の係数 (T/T型以外)

	係数	t value	p value
測定時血中脂質濃度	-0.429120	-7.507	$8.16 \times 10^{-13}$
測定時体重	0.708608	3.690	0.00027
濃度変化率定数項	-0.017050	-5.151	$4.91 \times 10^{-07}$
濃度変化率C/T患者	0.009406	2.120	0.034895

図3 濃度変化率を推定する式

[濃度の変化率] =  $-0.017050 + 0.009406 \times [C/T患者]$

### 4. 2,3,4,7,8-PeCDF体内負荷量推定の係数 (T/T型以外)

表4に、2,3,4,7,8-PeCDFの体内負荷量を推定する式の推定結果を示す。図4に、表4の中で濃度の変化率を推定する箇所だけをとりだした式を示す。半減期が最長となったのは、最近の粉瘤傾向が無の場合(値は1)かつSNP(C/T型)のときで、濃度の変化率は $-0.013238$ で、半減期は52.3年であった。半減期が最短となったのは最

近の粉瘤傾向が有の場合(値は2)かつSNP(C/C型)のときであり、濃度の変化率は $-0.03988$ で、半減期は17.4年であった。

表4 2,3,4,7,8-PeCDF体内負荷量推定の係数 (T/T型以外)

	係数	t value	p value
測定時血中脂質濃度	-0.476070	-8.414	$2.09 \times 10^{-15}$
濃度変化率定数項	-0.004960	-0.563	0.57397
濃度変化率最近の粉瘤傾向	-0.017460	-2.754	0.00627
濃度変化率SNP (C/T=1, C/C=0)	0.009182	2.039	0.04235

図4 濃度変化率を推定する式

[濃度の変化率] =  $-0.004960 - 0.017460 \times [最近の粉瘤傾向] + 0.009182 \times [C/T患者]$

## 考 察

女性のT/T型の患者の年齢分布は、他の変異型の年齢分布と異なっていた。本研究では、分布が異なる原因まで分析することは不可能であるが、注目すべき結果である。異なる分布が発生した要因に関して推測することは可能である。T/T型のSNPでは、CYP1A1発現が増加することが知られている<sup>6)</sup>。本研究では、50 pg/g lipid以上の患者を対象としている。CYP1A1の発現がダイオキシン類の排泄を促す場合には、早期に濃度が低下する。特に、若い患者で発現が大きくなる場合には、対象患者のSNP型ごとの年齢分布が異なることを引き起こす可能性がある。

半減期とSNP型の関係では、表2において、C/T型のSNPが式に採用されたが、T/T型のSNPは式に採用されなかった。対象患者中のT/T型は、他の型に比べて人数が少なく、特に女性では、極端に人数が少なかった。C/C型とC/T型は、男女ともに、似たような分布を示しているのに対して、T/T型の患者は、他の遺伝子型と異なる形状であった。人数が少ないことや、年齢分布が異なることから、T/T型の特徴が式に反映されなかったものと考えられる。

T/T型を除いて分析を行っても(表3)表2に示したのと同様にC/T型が採用された。つまり、C/C型よりもC/T型において半減期が長いという結果になった。我々は半減期の長さは、症状の違いと関係していると報告しており、特に皮膚科的症状が強い患者の半減期が短い<sup>3)</sup>。C/T型の患

者の方が、症状が弱いという可能性が考えられる。しかし、油症発生後 40 年が経過しており、因果関係が逆の可能性もある。つまり、症状が強く出ていた患者が短い半減期で早く排出され、先に症状が弱くなる可能性も考慮する必要がある。今後さらに対象人数を増加し、状況を合わせることでより適切な推定が可能であると考えられる。

## 結 論

ダイオキシン類の半減期と AhR の SNP の間に関係があることが示された。しかし、CYP1A1 の増加が知られている T/T 型は関係が示されず、C/T 型の患者の半減期が長かった。

## 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. *Journal of Dermatological Science Supplement*, 1 : S3-S10, 2005.
- 2) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. *Chemosphere*, 77 : 658-662, 2009.
- 3) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Imamura T : Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood : correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. *Chemosphere*, 92 : 772-777, 2013.
- 4) Liu G, Asanoma K, Takao T, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Kato K and Wake N : Aryl hydrocarbon receptor SNP -130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. *Toxicol Lett.* 232 : 384-392, 2015.
- 5) Deurenberg P, Weststrate JA and Seidell JC : Body mass index as a measure of body fatness : age- and sex-specific prediction formulas. *Br J Nutr.* 65 : 105-114, 1991.
- 6) Harper PA, Wong JM, Lam MS and Okey AB : Polymorphisms in the human AH receptor. *Chem Biol Interact.* 141 (1-2) : 161-187. 2002.

(Received for publication March 13, 2015)

## Metabolomics of Salivary Biomarkers in Yusho Patients

Goro KAWASAKI, Yoko ICHIKAWA, Izumi YOSHITOMI and Masahiro UMEDA

*Department of Clinical Oral Oncology, Unit of Translational Medicine,  
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences*

### Abstract

Yusho patients had many symptoms, and mouth dryness was one of the important oral symptoms. Presently, some Yusho patients complain of mouth dryness. In the present study, we measured mouth dryness by using an oral moisture checking device and examined metabolites of saliva by using metabolome analysis. We found no difference between Yusho patients and controls in terms of mouth dryness. Concerning metabolomes of saliva, there were some metabolites in Yusho patients that were not in controls.

**Key words** : Saliva · Metabolomics · Mouth dryness · Yusho

### Introduction

Toxins, such as polychlorinated biphenyls (PCBs), dramatically affect patients even decades after exposure. Although more than 45 years have passed since the accidental poisoning with PCBs in western Japan in 1968, high concentrations of PCBs are still being detected in the serum of “Yusho” (oil disease) patients. The severity of symptoms in Yusho patients has gradually improved<sup>1)~3)</sup>; however, at the present time, Yusho patients still have high concentrations of PCBs and PCQ in their blood, and some patients still suffer from specific Yusho symptoms<sup>4)~6)</sup>. Mouth dryness was one of the oral symptoms of Yusho patients, and now some of the Yusho patients complain of mouth dryness. Previously, we reported on histological and biological changes of the salivary glands in PCB-poisoned mice<sup>7)8)</sup>, and we suggested that PCBs have a correlation with oral dryness caused by adverse effects on the salivary glands by PCBs. Although in vitro research has been conducted<sup>7)8)</sup>, there has been no clinical research on the correlation between oral dryness and PCBs. Hence, we examined the

oral dryness and saliva of Yusho patients.

Improvements in analytical technologies have made it possible to rapidly determine the concentrations of thousands of metabolites in any biological sample, which has resulted in metabolome analysis being applied to various types of research. The aim of the present study is to investigate oral dryness and to explore salivary metabolomics as a disease diagnostic for Yusho patients.

### Materials and Methods

We recruited 65 Yusho patients and 32 controls in locations where Yusho occurred : Tamanoura Town, Naru Town, and Nagasaki City in Nagasaki Prefecture. Mouth dryness of Yusho patients and controls were measured using the oral moisture checking device ‘Mucas’. The measurement was performed three times by one dentist and the measurement site was the tongue dorsum.

Saliva samples were collected from 3 Yusho patients. The saliva in these patients was analyzed using capillary electrophoresis and time-of-flight mass spectrometry (CE-TOFMS) and a multivariate statistical technique ; principal

---

Correspondence : Goro KAWASAKI, DDS, PhD  
Department of Clinical Oral Oncology, Unit of Translational Medicine, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1, Sakamoto,  
Nagasaki 852-8588, Japan  
E-mail : gkawa@nagasaki-u.ac.jp

component analysis was used to process the data. CE-TOFMS was used to identify 121 metabolites in the saliva of Yusho patients.

## Results and Discussion

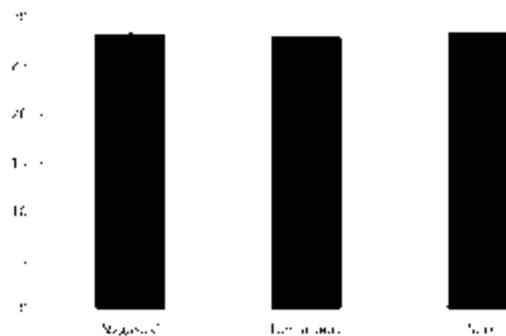
The mean score of moisture in the mouth measured by Mucas was 28.2 (range = 28.2 to 31.2). The mean scores of males and females were 28.6 and 27.9, respectively. There was no difference among patient locations, and there was no difference between males and females (Fig. 1, 2). The mean scores of Yusho patients and controls were 28.1 and 28.3, respectively, showing no significant difference between the two groups (Fig. 3). As for xerostomia, we speculated that PCBs have no present effect on oral dryness.

A significant metabolomic difference was observed between Yusho patients and controls (Table). The levels of identified metabolites in Yusho patients, including N-Acetylspermidine, Sarcosine, XC0001, p-Hydroxyphenylacetic acid, Glucosamine, 3- (4-Hydroxyphenyl) propionic acid, Ala-Ala, and some amino acids, were significantly higher than those of controls.

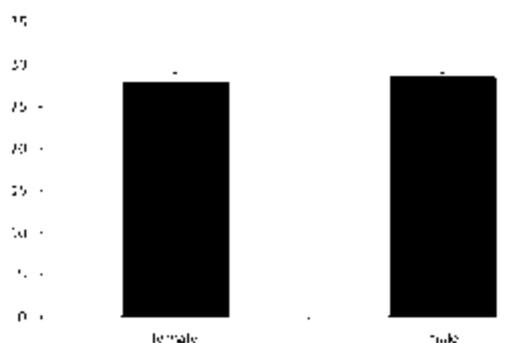
Previously, we reported that PCB poisoned mouse showed vacuolation in parotid acinar cells, and those histological changes had a relation with the increase in lysosomes<sup>8</sup>). Hence, we suggested that PCB induced lysosomal enzymes in the parotid gland cells, and caused the morphological changes.

However, there has been no clinical study concerning dryness of mouth in the Yusho patients. In present study, there was no difference between Yusho patients and controls of dryness of the mouth using the oral moisture checking device, however some salivary metabolites have significantly increased in Yusho patients.

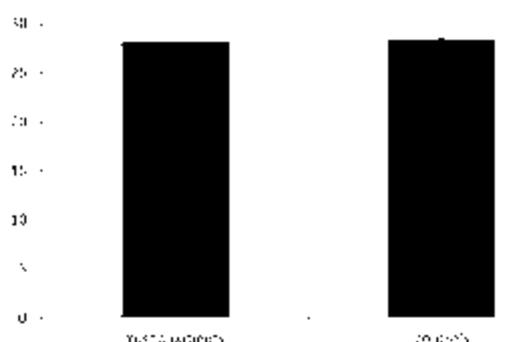
Human saliva is a mixture of secretions from multiple salivary glands<sup>9</sup>). Saliva may contain specific biomarkers associated with certain diseases, it has been used in diagnostics by many traditional medical systems such as traditional Chinese medicine<sup>9</sup>).



**Fig. 1** Scores of moisture in the mouth with patient locations



**Fig. 2** Scores of moisture in the mouth with male and female



**Fig. 3** Scores of moisture in the mouth with Yusho patients and controls

In present study, we speculated that changes in the nature of saliva in Yusho patients may be associated with the complaints of mouth dryness in Yusho patients.

## Conclusions

In the present study, we investigated oral dryness and metabolomics of saliva in Yusho patients.

There was no difference between Yusho patients and controls in terms of mouth dryness,

**Table** Metabolomics of the saliva in Yusho patients NA-1, NR-1, NR-2 ; Yusho patients, C1 ; controls

HMT DB † Compound name	Comparative Analysis Ratio ‡			HMT DB † Compound name	Comparative Analysis Ratio ‡		
	NA-1 vs C-1	NR-1 vs C-1	NR-2 vs C-1		NA-1 vs C-1	NR-1 vs C-1	NR-2 vs C-1
Glyceric acid	1<	1<	1<	Hydroxyproline	1.6	3.2	1.0
Indole-3-acetic acid	1<	1<	1<	Ethanolamine phosphate	1.6	<1	<1
Ethylacetimidate	1<	1<	1<	Citrulline	1.6	2.9	1.0
β-Ala	1<	1<	1<	1H-Imidazole-4-propionic acid	1.6	5.5	3.8
3-Aminoisobutyric acid	1<	1<	1<	Crotonic acid	1.5	<1	2.0
GABA	1<	1<	1<	Hypoxanthine	1.4	2.2	2.9
Uracil	1<	1<	1<	Trp	1.4	6.3	2.8
3-Amino-2-piperidone	1<	1<	1<	2-Aminobutyric acid	1.4	3.6	1.3
Pipecolic acid	1<	1<	1<	Putrescine	1.4	1.7	0.9
N-Acetyllysine	1<	1<	1<	Inosine	1.4	1.8	<1
1,3-Diaminopropane	1<	1<	N.A.	N-Acetylgalactosamine	1.4	1.0	0.2
Gly-Gly	1<	1<	N.A.	Diethanolamine	1.4	<1	3.5
Glu-Glu	1<	1<	N.A.	His	1.4	1.3	1.6
Glutathione (GSSG)_divalent	1<	N.A.	N.A.	Ile	1.4	11	3.8
Pro	13	15	2.5	Creatinine	1.3	1.0	0.6
N <sup>5</sup> -Acetylpermidine	4.3	6.0	2.1	Glycerol	1.3	1.3	0.8
Sarcosine	4.3	11	3.9	Glycerol 3-phosphate	1.3	<1	<1
Theobromine	4.3	<1	1.5	Choline	1.3	2.3	1.3
XC0001	4.0	8.7	4.0	Val	1.2	5.2	2.9
Ser	4.0	3.3	3.1	Asp	1.2	0.6	1.6
Phosphorylcholine	3.3	<1	1.9	2-Hydroxybutyric acid	1.2	<1	<1
3-Hydroxybutyric acid	3.3	1.1	<1	Spermidine	1.2	3.4	1.3
p-Hydroxyphenylacetic acid	3.2	6.5	6.0	Ribulose 5-phosphate	1.2	1.5	0.5
Glucosamine	3.2	7.2	2.0	Ethanolamine	1.2	0.2	1.9
Ala-Ala	3.2	8.6	5.5	Uric acid	1.1	0.8	1.0
Betaine	2.9	3.6	5.0	Guanine	1.1	1.6	1.1
N-Acetylputrescine	2.9	3.4	1.4	Hexanoic acid	1.1	1.7	0.8
Lys	2.7	4.6	3.1	Glucose 6-phosphate	1.1	<1	1.2
Met	2.6	9.8	4.0	3-(2-Hydroxyphenyl)propionic acid	1.0	2.1	0.8
Arg	2.6	0.2	1.0	Tyr	1.0	2.1	2.0
Ala	2.5	3.2	2.9	Paraxanthine	1.0	0.6	1.6
Gly	2.5	6.3	1.8	Dyphylline	0.9	0.8	1.6
Succinic acid	2.5	0.2	0.2	Phe	0.8	1.8	1.3
O-Acetylcarnitine	2.3	0.5	1.1	Guanosine	0.7	1.3	0.5
5-Aminovaleric acid	2.2	2.4	1.1	3-Phenylpropionic acid	0.7	1.4	0.6
Glu	2.2	2.0	2.3	N-Acetylneuraminic acid	0.7	2.5	1.3
Trimethylamine	2.2	3.4	2.4	2-Hydroxy-4-methylvaleric acid	0.7	4.7	1.0
Butyric acid	2.2	2.4	2.1	Cytidine	0.7	0.8	1.0
3-(4-(Hydroxyphenyl)propionic acid	2.1	8.2	3.3	Adenosine	0.6	0.6	0.9
Lactic acid	2.0	0.10	2.5	Citric acid	0.5	<1	0.2
Urocanic acid	1.9	1.5	1.3	Urea	0.5	<1	0.2
Thr	1.9	5.4	4.0	Adenine	0.5	1.4	3.3
Nicotinic acid	1.9	3.5	1.9	Caffeine	0.5	0.6	0.9
Ornithine	1.9	2.7	1.6	Spermine	0.5	0.8	1.5
2-Amino adipic acid	1.9	3.4	1.7	2-Hydroxyvaleric acid	0.5	2.0	0.6
Cadaverine	1.9	1.4	2.9	Piperidine	0.3	0.6	2.8
5-Oxoproline	1.8	1.8	2.2	Xanthine	<1	1.3	3.2
o-Toluic acid	1.8	4.2	2.2	XC0016	<1	1.2	0.8
Carnitine	1.8	2.4	2.3	Nicotine	<1	<1	2.0
Propionic acid	1.8	3.2	1.8	Trigonelline	<1	<1	0.5
Isovaleric acid	1.8	5.9	2.1	4-Methyl-2-oxovaleric acid	N.A.	1<	1<
Dihydroxyacetone phosphate	1.8	<1	1.0	3-Methyl-2-oxovaleric acid	N.A.	1<	1<
Gln	1.8	6.1	1.7	UMP	N.A.	1<	1<
γ-Butyrobetaine	1.7	3.7	4.6	Homoserine	N.A.	1<	1<
1-Methyl-4-imidazoleacetic acid	1.7	1.4	1.2	O-Acetylserine	N.A.	1<	1<
Leu	1.7	7.8	2.9	N <sup>5</sup> -Acetyllysine	N.A.	1<	1<
Creatine	1.7	1.8	1.4	3-Hydroxypropionic acid	N.A.	1<	N.A.
Homovanillic acid	1.7	1.5	0.7	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propanediol	N.A.	1<	N.A.
Taurine	1.6	3.3	3.5	N-Acetylserine	N.A.	1<	N.A.
				β-Ala-Lys	N.A.	1<	N.A.
				Pyruvic acid	N.A.	N.A.	1<
				Tyramine	N.A.	N.A.	1<
				N <sup>5</sup> -Ethylglutamine	N.A.	N.A.	1<

but the present study demonstrated that some salivary metabolites have significantly increased in Yusho patients. We suppose that the detected salivary metabolites may be new markers for the treatment of Yusho patients.

### References

- 1) Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M and Imamura T : Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. *BMC Res Notes* 3 : 129-134, 2010.
- 2) Imamura T, Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Tajima B, Matsuya S, Uchi H, Shibata S and Furue M : Cutaneous symptoms such as acneform eruption and pigmentation are closely associated with blood levels of 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofurans in Yusho patients, using data mining analysis. *BMC Res Notes* 2 : 27-32, 2009.
- 3) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. *Chemosphere* 74 : 902-909, 2009.
- 4) Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S and Furue M : Mortality After Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Polychlorinated Dibenzofurans : A 40-Year Follow-up Study of Yusho Patients. *Am J Epidemiol* 169 : 86-95, 2009.
- 5) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. *Chemosphere* 77 : 658-662, 2009.
- 6) Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S and Furue M : Relationship Between Clinical Features and Blood Levels of Pentachlorodibenzofuran in Patients with Yusho. *Environ Toxicol* 22 : 124-131, 2007.
- 7) Kawasaki G, Mataka S and Takano K : Induction of Drug Metabolizing Enzymes by Polychlorinated Biphenyl in Parotid Gland and Relation to Changes in Vitamin A Content and Morphological Change. *Jpn J Pharmacol* 66 : 347-356, 1994.
- 8) Kawasaki G, Mataka S and Mizuno A : Ultrastructural and Biochemical Studies of the Effect of Polychlorinated Biphenyl on Mouse Parotid Gland Cells. *Arch Oral Biol* 40 : 39-46, 1995.
- 9) Wei J, Xie G, Zhou Z, Shi P, Qiu Y, Zheng X, Chen T, Su M, Zhao A and Jia W : Salivary metabolite signature of oral cancer and leukoplakia. *Int J Cancer* 129 : 2207-2217, 2011.

(Received for publication March 23, 2015)

(和文抄録)

## 油症患者の唾液におけるメタボローム解析

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 展開医療科学講座 口腔腫瘍治療学分野

川崎 五郎, 市川 陽子, 吉富 泉, 梅田 正博

油症患者にみられる症状は多彩であるが、特に口腔にみられる症状のひとつに口腔乾燥症があげられる。現在でも、検診時口腔乾燥を訴える油症患者はしばしばみられる。しかしながら、口腔乾燥が実際に起きているかどうか客観的に調査した研究はみられない。そこで本研究では、油症検診における歯科検診の際に口腔水分計を用いて、油症認定患者における口腔乾燥症を調べた。さらに、口腔乾燥を訴える認定患者の唾液を採取し、メタボローム解析を行った。口腔水分計を用いて口腔内の湿潤状態を調べた結果では、地域別、性差、認定患者と未認定患者との間に有意な差はみられなかった。メタボローム解析の結果では、油症患者において、対照群と比較して有意に多くみられるいくつかの代謝産物が確認された。口腔乾燥感を訴える油症患者において唾液の分泌量というよりも、唾液の性状に変化がおきている可能性が示唆された。

## 油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布

<sup>1)</sup>福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>3)</sup>北九州生活科学センター

<sup>4)</sup>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<sup>1)</sup>, 戸高 尊<sup>2)</sup>, 平川 博仙<sup>1)</sup>, 堀 就英<sup>1)</sup>,  
平田 輝昭<sup>1)</sup>, 飯田 隆雄<sup>3)</sup>, 内 博史<sup>2)</sup>, 古江 増隆<sup>2)4)</sup>

## The Distribution of Dioxin Concentrations in the Blood of Yusho Patients

Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Takashi TODAKA<sup>2)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>1)</sup>, Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>,  
Teruaki HIRATA<sup>1)</sup>, Takao IIDA<sup>3)</sup>, Hiroshi UCHI<sup>2)</sup> and Masutaka FURUE<sup>2)4)</sup>

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

<sup>2)</sup>*Department of Dermatology, Graduate school of medical science, Kyushu University  
Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582*

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

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

### Abstract

In 1968, the contamination of cooking oil by heat-degraded polychlorinated biphenyls (PCBs) caused a case of mass poisoning, the so-called Yusho incident. The cause of Yusho disease is thought to be ingested toxic substances, including not only PCBs but also polychlorinated dibenzofuran (PCDFs) in Kanemi rice oil. We previously measured dioxins concentrations in the blood of 854 Yusho patients by annual medical examination from 2001 to 2013. We determined the concentrations of 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF and 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169) in the blood of Yusho patients were more than double those of normal controls. In 2012, a new Yusho criteria was established. Family members living with a Yusho patient were also certified as Yusho patients and called Yusho family cohabitant patients.

In this study, we compared the distribution of 2,3,4,7,8-PeCDF concentration in the blood of Yusho patients and Yusho family cohabitant patients. It was suspected that the distribution of 2,3,4,7,8-PeCDF concentration in Yusho family cohabitant patients would be lower than that of Yusho patients.

**Key words** : Yusho · Dioxin · Blood

### はじめに

1968年に発生した油症事件はポリ塩化ビフェニール (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年以上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。全国油症追跡研究班では油症認定患者を対象に治療と追跡調査のため

に毎年全国で油症一斉検診を行っており、毎年72~300名の油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。油症一斉検診で2001年から2013年までの13年間に血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の実数は854名であり、油症認定患者2,251名（平成25年12月末現在）の約37.9%であった。この854名の油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を2004年に対照群として採取した福岡県内の60歳以上の127名の一般人の血液中ダイオキシン類濃度と比較し、油症認定患者の血液中ダイオキシン類濃度の分布を解析した。また、2012年12月に油症認定基準に同居家族条項が追加され認定された同居家族認定患者の血液中ダイオキシン類濃度分布の傾向を解析した。

## 実 験 方 法

### 1. 分析試料

全国油症一斉検診で血液中ダイオキシン類分析希望者からヘパリン入り真空採血管を用い血液を採取し、ダイオキシン類濃度測定まで冷蔵保存した。2001年から2013年までの13年間に血液中ダイオキシン類濃度を分析した油症認定患者の検体総数は2,343名分であるが複数回受診した油症認定患者が存在するため実数は854名であった。内訳は男性403名、女性451名であり、採血時点での平均年齢は65.2歳（31-97歳）であった。また、2012年12月に油症認定基準に追加された同居家族条項により認定された同居家族認定患者で2013年の検診から油症検診を受診した51名の内訳は男性21名、女性30名であり、平均年齢は58.0歳（45-89歳）であった。血液中ダイオキシン類濃度は、経年変化を解析したところ短期間ではほとんど変化しなかった<sup>1)</sup>ので、1度しか測定していない場合はその濃度を、複数回測定している場合は最後に測定した濃度（最新の濃度）をその油症認定患者の血液中ダイオキシン濃度として解析した。

### 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種の21異性体について測定した。分析方法は既報の血液中ダイ

オキシン類分析法<sup>2)-4)</sup>に準じて行った。すなわち、血液5gを凍結乾燥した後、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。

### （倫理面への配慮）

血液中ダイオキシン類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。また、本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである（受付番号第21-3号(1)平成22年5月10日承認）。

## 実験結果と考察

2001年から毎年、全国油症一斉検診で希望者の血液中ダイオキシン類濃度を測定し報告してきた<sup>5)-8)</sup>。今回解析した2001年から2013年に油症一斉検診を受診した油症認定患者854名のTotal TEQ（WHO-05）の平均値は69 pg-TEQ/g lipidであった。表1に油症一斉検診を受診した油症認定患者、同居家族認定患者及び一般住民の血液中ダイオキシン類濃度を示した。油症認定患者、同居家族認定患者及び一般住民の血液中平均Total TEQ（WHO-05）はそれぞれ69、34、37 pg/g lipidであり、油症認定患者のTotal TEQ（WHO-05）は一般住民より約1.9倍高く、同居家族認定患者は一般住民とほぼ同レベルであった。血液中ダイオキシン類化合物の種類別に見ると一般住民と比べ油症認定患者の血液中濃度が2倍以上高い化合物は、2,3,4,7,8-PeCDF、1,2,3,4,7,8-HxCDF、1,2,3,6,7,8-HxCDF、3,3',4,4',5,5'-HxCB（#169）の4化合物であった。この内、一般住民と比較して最も濃度が高い血液中

表1 油症認定患者及び一般人の血中 PCDDs, PCDFs 及びノンオルソ PCB 濃度測定結果 (2001-2013 年) (pg/g lipid)

Congeners	油症患者 (N=854)					同居家族認定者 (N=51, 2013 年)					一般人 (N=127, 2004 年)				
	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median	Mean	SD	Min	Max	Median
2,3,7,8-TCDD	1.6	1.0	ND	8.6	1.5	1.5	ND	7.4	1.2	1.9	0.84	ND	4.3	1.8	
1,2,3,7,8-PeCDD	9.4	5.7	1.2	48	8.1	6.9	4.3	1.8	28	5.8	9.0	3.4	3.2	20	8.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	1.8	ND	15	2.2	1.9	1.5	ND	9.4	ND	3.6	1.9	ND	13	3.2
1,2,3,6,7,8-HxCDD	38	36	2.5	310	27	22	14	5.3	91	18	28	11	7.3	70	25
1,2,3,7,8,9-HxCDD	3.8	3.4	ND	36	3.0	3.1	2.7	ND	15	2.2	4.5	2.8	ND	16	3.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	42	53	ND	1200	34	40	26	10	170	33	78	55	18	470	62
OCDD	630	570	72	7900	520	360	250	81	1500	290	1200	640	180	7600	940
Total PCDDs	730	630	100	9200	600	440	280	110	1700	360	1300	1000	210	8200	1000
2,3,7,8-TCDF	1.7	1.8	ND	14	1.2	1.0	1.1	ND	7.5	ND	1.0	0.72	ND	4.5	ND
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	1.0	ND	8.3	ND	0.87	1.2	ND	8.3	ND	0.67	0.55	ND	4.6	ND
2,3,4,7,8-PeCDF	120	194	2.7	1800	41	31	50	4.4	320	15	17	7.7	6.0	36	16
1,2,3,4,7,8-HxCDF	29	59	ND	600	7.6	5.7	11	ND	78	3.3	5.0	2.7	ND	20	4.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	13	20	ND	200	6.2	5.0	6.1	ND	35	3.7	5.7	2.6	ND	16	5.2
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.2	0.88	ND	9.6	ND	1.2	0.7	ND	5.6	ND	1.2	0.8	ND	5.2	ND
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND					ND					ND				
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.4	3.9	ND	74	ND	1.7	2.0	ND	11.3	ND	2.2	2.1	ND	14	ND
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	1.0	0.1	ND	3.3	ND	ND					ND				
OCDF	2.0	1.2	ND	38	ND	ND					2.1	1.4	ND	18	ND
Total PCDFs	180	270	12	2600	66	50	68	13	450	29	37	14	15	86	35
3,4,4',5'-TCB(#81)	5.6	3.0	ND	37	ND	5.4	2.1	ND	18	ND	5.6	2.3	ND	24	ND
3,3',4,4'-TCB(#77)	7.4	8.1	ND	150	ND	5.8	2.5	ND	18	ND	8.4	4.8	ND	31	ND
3,3',4,4',5'-PenCB(#126)	99	85	ND	680	77	85	83	ND	390	61	110	80	17	520	90
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	170	140	10	1300	130	94	71	15	340	66	64	27	16	190	58
Total Non-ortho PCBs	280	200	30	1500	240	190	140	49	730	140	190	110	59	740	160
Total	1200	820	170	9700	1000	680	450	240	2400	540	1600	1000	290	8500	1300
◆ 【WHO-05】 ◆															
T PCDDs-TEQ	16	9.9	2.8	79	13	12	7.2	3.3	48	10	16	5.9	5.1	35	11
T PCDFs-TEQ	38.6	61	1.3	519	14	11	17	1.8	110	5.4	6.6	2.5	2.3	14	10
T Non-ortho PCBs-TEQ	15	11	1.0	94	13	11	9.9	2.5	48	8.5	13	8.6	2.6	58	9.5
Total-TEQ	69	74	6.3	634	44	34	31	8.8	210	26	37	16	12	100	31
Lipid(%)	0.30	0.06	0.16	0.64	0.30	0.26	0.04	0.20	0.40	0.25	0.33	0.05	0.22	0.49	0.31
Age(years)	65.2	13.5	31	97	66	58.0	10.2	45	89	55	68.1	5.4	60	86	67

CB : chlorinated biphenyl, CDD : chlorinated dibenzo-p-dioxins, CDF : chlorinated dibenzofurans, Hx : hexa, Hp : hepta, ND : less than the determination limit, OCDD : octachlorodibenzo-p-dioxin, OCDF : octachlorodibenzofurans, PCB : polychlorinated biphenyl, PCDD : polychlorinated dibenzo-p-dioxin, PCDF : polychlorinated dibenzofuran, Pe : penta, TCB : tetrachlorobiphenyl, TCDD : tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDF : tetrachlorodibenzofuran, TEQ : toxic equivalent quantity.

2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は油症診定基準<sup>9)</sup> の 1 つに採用されている。

油症診定基準<sup>9)</sup> では参照 2 で血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 30 pg/g lipid 未満を通常みられ

る濃度, 30 pg/g lipid 以上, 50 pg/g lipid 未満をやや高い濃度, 50 pg/g lipid 以上を高い濃度としている。一般人の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は全て 50 pg/g lipid 未満であるが, 油症認定患者

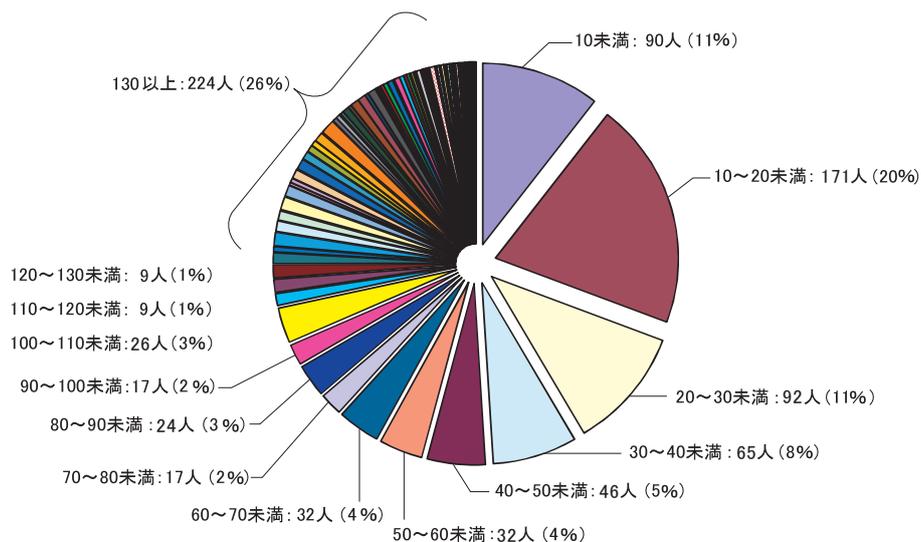


図1 油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度分布 (n=854) (pg/g lipid)

は46% (390/854) が、同居家族認定患者は14% (7/51) が50 pg/g lipid 以上であった。油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は120 pg/g lipid で、2.7 pg/g lipid から1800 pg/g lipid の幅広い濃度分布を示している。10 pg/g lipid 毎の濃度分布を見ると(図1)最も人数が多い濃度区分は10 pg/g lipid 以上20 pg/g lipid 未満で20% (171/854) を占め、50 pg/g lipid 以上が46% (390/854)、100 pg/g lipid 以上が31% (268/854)、1000 pg/g lipid 以上が0.7% (6/854) 存在した。油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度分布は非常に幅広いことが特徴で、2,3,4,7,8-PeCDF が高濃度に汚染したライス油を摂食したが摂食量や体内への吸収、代謝能等の個人差が大きいため、現在の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が幅広い濃度分布になったと考えられる。

油症診定は事件発生当初(1968年)は汚染油を摂食し、皮膚症状等の臨床所見を中心に診断されていたが、原因化学物質の究明が進み1972年に血液PCBの性状及び濃度の異常、1981年に血液PCQの濃度の異常が追加された。さらに、油症事件発生後30年以上が経過し、初期の特徴的な臨床所見が軽快・消失してきたため、2004年に血液2,3,4,7,8-PeCDFの濃度の異常が所見に追加された。ところが2013年12月に油症認定基準に「油症発生当時の同居家族で、一定の基準を満たし、認定申請のあった未認定者の診定を諮問す

る。」との条項が追加され、多くの患者同居家族が患者に認定された。このため油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度分布がどのように変化するか注目し、同居家族認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度分布の解析を試みた。2013年の油症検診を受診した51名の同居家族認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は31 pg/g lipid で、4.4 pg/g lipid から320 pg/g lipid の濃度分布を示している(図2)。最も多い濃度区分は10 pg/g lipid 以上20 pg/g lipid 未満が47% (24/51) を占め、86% (44/51) は50 pg/g lipid 未満であった。従って、同居家族認定者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は50 pg/g lipid 未満が多数を占め、従来の診定基準による油症認定患者より低濃度側に偏った濃度分布になると推察された。

## 総 括

油症一斉検診で2001年から2013年までの13年間に血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者は854名であった。油症認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は120 pg/g lipid で、2.7 pg/g lipid から1800 pg/g lipid の幅広い濃度分布を示している。油症認定患者は油症事件で高濃度に汚染したライス油を摂食したが摂食量や体内への吸収・代謝能等の個人差が大きいため、現在の血液中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が幅広い濃度分布になったと考えられる。一方、2013

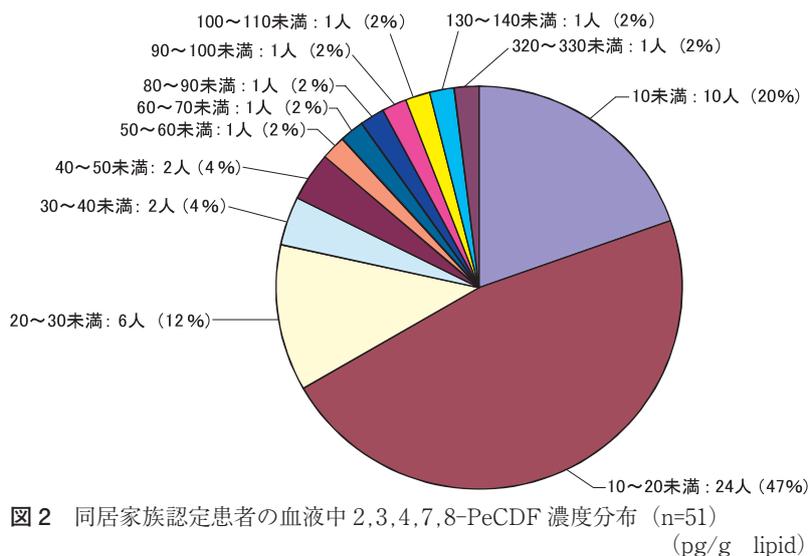


図2 同居家族認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度分布 (n=51)  
(pg/g lipid)

年の油症検診を受診した51名の同居家族認定患者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の平均は31 pg/g lipidで、4.4 pg/g lipidから320 pg/g lipidの濃度分布を示している。一般人の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度は全て50 pg/g lipid未満であるが、油症認定患者は46% (390/854)が、同居家族認定患者は14% (7/51)が50 pg/g lipid以上であった。同居家族認定者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度は50 pg/g lipid未満が多数を占め、従来の診定基準による油症認定患者より低濃度側に偏った濃度分布になると推察された。

## 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) Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori H, Inoue S, Tobiishi K, Nakagawa R, Onozuka D, Takao Y, Yoshimura T and Furue M : Time trend of concentrations of dioxin like PCBs, PCDFs, and PCDDs in blood of Yusho patients. *Organohalogen Compounds*, 69, 91-93, 2007.
- 2) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New Protocol of Dioxin Analysis in Human Blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 94 : 148-157, 2003.
- 3) 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 飛石和夫, 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.
- 4) 堀就英, 飛石和夫, 芦塚由紀, 中川礼子, 戸高尊, 平川博仙, 飯田隆雄 : ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 及び高分解能ガスクロマトグラフィー/高分解能質量分析計 (HRGC/HRMS) による血中PCB異性体別分析, *福岡医誌* 96 : 220-226, 2005.
- 5) 飯田隆雄, 戸高尊, 平川博仙 : 油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001年), *福岡医学雑誌* 94(5), 126-135, 2003.
- 6) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K and Iida T : Follow-up Survey of Dioxins Concentrations in the Blood of Yusho Patients in 2002-2003. *Fukuoka Igaku Zasshi* 96, 249-258, 2005.
- 7) Todaka T, Hirakawa H, Hori H, Tobiishi K, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofuran, and non-ortho and mono-ortho polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. *Chemosphere* 66, 1983-1989, 2007.
- 8) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Dioxin Concentration in Blood of Patients Collected during Medical Check-up for Yusho in 2004-2005. *Fukuoka Acta Med.* 98, 222-230, 2007.
- 9) 古江増隆, 上ノ土武 : 油症診断基準 (2004年9月29日補遺) の策定. *福岡医誌* 96 : 124-134, 2005.

(Received for publication March 18, 2015)

## 福岡県油症検診（2011-2014年度）受診者における 血液中 PCB 濃度と傾向

<sup>1)</sup>福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup>公益財団法人北九州生活科学センター

<sup>3)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>4)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

安武大輔<sup>1)</sup>, 小木曾俊孝<sup>1)</sup>, 堀 就英<sup>1)</sup>, 宮脇 崇<sup>1)</sup>, 山本貴光<sup>2)</sup>,  
梶原淳睦<sup>1)</sup>, 平田輝昭<sup>1)</sup>, 内 博史<sup>3)</sup>, 古江増隆<sup>3)4)</sup>

## Blood PCB Concentrations and their Tendencies Examined in Fukuoka 2011-2014 Annual Inspections for Yusho

Daisuke YASUTAKE<sup>1)</sup>, Toshitaka KOGISO<sup>1)</sup>, Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>, Takashi MIYAWAKI<sup>1)</sup>,  
Takamitsu YAMAMOTO<sup>2)</sup>, Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Teruaki HIRATA<sup>1)</sup>,  
Hiroshi UCHI<sup>3)</sup> and Masutaka FURUE<sup>3)4)</sup>

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

<sup>2)</sup>*Kitakyushu Life Science Center, Kitakyushu, Japan*

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

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

### Abstract

We measured PCBs of blood of 154 people in the Yusho medical check-up from January 2011 through December 2014 and analyzed their PCB blood patterns. Eleven examinees were newly certified as Yusho patients during these 4 years. Of these 11, we identified three Yusho patients with the A pattern, five with the B pattern, and three with the BC pattern. We found no Yusho patients with the C pattern. The B pattern was found in 27 of the 154 examinees, such that the probability that an examinee with the B pattern would be certified as a Yusho patient was about 20%. Since 2012, any family members living with a Yusho patient have also been certified as Yusho patients. The number of such family cohabitants was 16, among whom the PCB pattern was uniformly the C pattern. There were 20 examinees born after 1989, and all those examinees were Yusho-suspected persons. The total PCB concentrations of this younger-age group was less than 0.5 ng/g on average and was low compared with the normal controls.

**Key words** : Yusho · PCB · Blood

### はじめに

1968年に発生した油症はポリ塩化ビフェニル (PCB) およびダイオキシン類による複合中毒事

件である。事件から40年以上経過した近年でも、2012年9月に「カネミ油症患者に関する施策の総合的な推進に関する法律」が施行され、同年12月に油症診断基準に「同居家族の油症患者に関する

条件」が追補され、油症を取り巻く環境も大きく変遷している。

PCB 等の油症関連化合物の高い親油性、蓄積性により、現在も油症患者の体内には高濃度の PCB およびダイオキシン類が残留している。我々は、食品から日常的に微量の PCB を摂取しているため、一般健常人でも PCB が蓄積されているが<sup>1)</sup>、油症患者の血液中 PCB は、一般健常人と異なり、特異的な PCB パターンを示す<sup>2)</sup>。油症患者に特有な PCB パターンによる分類は、1972 年に油症診断基準の検査成績に「血液 PCB の性状および濃度の異常」として採用され<sup>3)</sup>、その後、1976 年の油症診断基準の改定では重要な所見の一つとされた<sup>4)</sup>。これまで、測定技術の進歩により、2004 年度からキャピラリーカラムを装着した高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計を用いて、血液中 PCB の異性体別の精密定量分析を行い、診断結果として報告してきた<sup>5)-7)</sup>。我々は、2011-2014 年度までの福岡県油症検診において、油症認定患者と未認定者、のべ 283 名の PCB 測定結果をもとに油症検診受診者の血液中 PCB 濃度の現状と傾向をまとめたので報告する。また、新たに導入された同居家族認定における患者の検診受診者の血液中 PCB 濃度や若年層の検診受診者の血液中 PCB 濃度の検討結果から、油症診断基準の一つである PCB パターン判定の現状について考察した。

## 実 験 方 法

### 1. 分析試料

福岡県油症検診では、2011 年度は 212 名、2012 年度は 254 名、2013 年度は 276 名、2014 年度は 255 名、のべ 997 名が受診した。平均年齢は、52.4 歳（6-92 歳）であった。そのうち同意が得られた 154 名の血液中 PCB 測定を実施した。2014 年度検診終了時点における 154 名の内訳は、認定患者が 11 名（4 年間で 10 名が新規認定患者）、同居家族認定患者（以下、同居認定）が 16 名、未認定患者が 127 名であった。血液中 PCB の性状の解析では、福岡県内に在住する一般成人 10 名から提供された血液を等量ずつ混合したものをネガティブコントロール血液とした。パターン解析では、油症患者において相対的に低濃度である 2,3',4,4',5-PentaCB (PCB118) と油症患者にお

いて相対的に高濃度である 2,3,3',4,4',5-HexaCB (PCB156) をそれぞれ 2,2',4,4',5,5'-HexaCB (PCB153) 濃度を基準として比を算出し、それらの比が、ネガティブコントロール血液と明らかに異なる場合を「A」、ネガティブコントロール血液と区別できない場合を「C」、その中間タイプとして「B」または「BC」というパターンに分類した<sup>8)</sup>。

### 2. 分析方法

血液中 PCB 測定は、既報に準じて行った<sup>9)</sup>。<sup>13</sup>C でラベル化された PCB（3 から 10 塩素化物、21 種類、ノナン溶液）をクリーンアップスパイクとして約 1.5 g の血液にそれぞれ 200 pg を添加した。血液に 1.5N 水酸化カリウム/エタノール溶液を加え、攪拌後、30℃ の恒温槽内で 12 時間アルカリ分解を行った。アルカリ分解後、ヘキサンを加え、攪拌、遠心分離により、ヘキサン層に PCB を抽出した。そのヘキサン層を無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮し、フロリジルカートリッジ (Waters 製 Sep-Pak Vac RC (500mg)) で精製した。溶出液を濃縮し、<sup>13</sup>C-2,3,3',5,5'-PentaCB (<sup>13</sup>C-PCB111, ノナン溶液) をシリンジスパイクとして、100 pg を添加し、最終液量を約 40 μL とした。最終検液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, Agilent 6890/AutoSpec Ultima) に注入し、3~10 塩素化 PCB のうち 68 種類の異性体を定量した。なお、Total PCB 濃度は、68 種類の異性体の合計濃度を示す。

## 結果および考察

### 1. 福岡県油症検診受診者（2011-2014 年度）の血液 PCB 濃度と性状

2011-2014 年度の福岡県油症検診受診者、154 名の血液中 PCB を測定し、パターン解析を行った。解析結果の概要を Table 1 に示す。Table 1 に示すように、認定患者と同居認定患者を区別して分類した。認定患者は 11 名であり、そのうち 3 名が A パターン、5 名が B パターン、3 名が BC パターンに分類された。同居認定患者は 16 名であり、すべてが C パターンに分類された。未認定者は 127 名であり、そのうち 22 名が B パターン、13 名が BC パターン、92 名が C パターンに分類

**Table 1** Blood PCB pattern of examinees in Yusho medical check-up of Fukuoka Prefecture

Blood PCB Pattern	A	B	BC	C	Total
Yusho Patients	3	5	3		11
Yusho Patients (Family Living together)				16	16
Yusho-suspected Persons		22	13	92	127
Total	3	27	16	108	154

**Table 2** PCB pattern and concentration of PCB in blood of Yusho patients  
(ng/g, whole blood weight basis)

No.	Gender	Blood PCB Pattern	PCB118	PCB153	PCB156	Total PCB
1	M	A	0.0070	0.081	0.022	0.41
2	F	A	0.010	0.091	0.029	0.49
3	F	B	0.0069	0.038	0.0053	0.19
4	M	B	0.015	0.16	0.026	0.82
5	F	B	0.043	0.24	0.031	1.1
6	M	B	0.020	0.14	0.034	0.75
7	F	B	0.045	0.21	0.057	1.2
8	M	BC	0.019	0.10	0.011	0.51
9	M	BC	0.053	0.28	0.030	1.4
10	F	BC	0.046	0.35	0.036	1.7
	Mean		0.0265	0.169	0.0281	0.857
	Min.		0.0069	0.038	0.0053	0.19
	Max.		0.053	0.35	0.057	1.7
PC*	F	A	0.030	1.1	0.73	6.8

\*PC: Positive Control

された。なお、油症検診を複数年受診し、パターンが年度で異なる場合は、最新の検診結果におけるパターンを採用した。この結果、Bパターンに分類された受診者数は、27名であり、このうち認定患者は5名でBパターンに占められる割合は約20%であった。また、認定患者(11名)には健康者に近いBCパターンが3名含まれており、このことは、油症患者の血液中PCB濃度が経年的に低下し、一般健康人の性状に近づいているためと考えられる。

## 2. 福岡県油症検診(2011-2014年度)における油症患者と同居認定患者との比較

新規に認定された患者(10名)のPCB118(平均0.0265 ng/g)、PCB153(平均0.169 ng/g)、

PCB156(平均0.0281 ng/g)の各異性体濃度およびTotal PCB濃度(平均0.857 ng/g)、ならびにポジティブコントロール血液として典型的な認定患者の血液中のPCB濃度とPCBパターンをTable 2に示す。「血液PCBの性状および濃度の異常」は油症診断基準の一つであり、No. 8-10の認定患者は、未認定者でも多く存在するBCパターンである。この3名については他の診断項目が考慮されたと考えられる。また、No. 1と2の認定患者はAパターン、No. 3はBパターンであるが、Total PCB濃度が0.5 ng/g以下と低かった。

2012年12月から油症発生時に油症認定患者と同居していた家族が新たに認定の対象となった。この改定により、2011-2014年度の福岡県油症検診受診者のうち、16名の同居家族が油症患者とし

**Table 3** PCB pattern and concentration of PCB in blood of family examinees living with a Yusho patient (ng/g, whole blood weight basis)

No.	Gender	Blood PCB Pattern	PCB118	PCB153	PCB156	Total PCB
1	M	C	0.0062	0.042	0.0042	0.19
2	F	C	0.014	0.075	0.0074	0.40
3	M	C	0.015	0.10	0.0085	0.48
4	F	C	0.018	0.15	0.011	0.64
5	M	C	0.020	0.10	0.012	0.53
6	M	C	0.020	0.14	0.014	0.60
7	F	C	0.037	0.18	0.016	0.79
8	F	C	0.069	0.27	0.016	1.2
9	F	C	0.026	0.18	0.019	0.79
10	M	C	0.054	0.18	0.018	0.81
11	F	C	0.075	0.20	0.019	1.0
12	M	C	0.035	0.24	0.021	0.97
13	F	C	0.052	0.21	0.021	0.95
14	F	C	0.15	0.35	0.035	1.7
15	M	C	0.058	0.35	0.037	1.6
16	F	C	0.079	0.40	0.043	1.8
	Mean		0.0454	0.197	0.0189	0.899
	Min.		0.0062	0.042	0.0042	0.19
	Max.		0.15	0.40	0.043	1.8

て認定された。すべての同居認定患者（16名）における血液中の PCB118（平均 0.0454 ng/g）、PCB153（平均 0.197 ng/g）、PCB156（平均 0.0189 ng/g）の各異性体濃度および Total PCB 濃度（平均 0.899 ng/g）を Table 3 に示す。認定患者と同居認定患者の Total PCB 濃度の平均はほぼ同一であるが、同居認定患者の PCB はすべて C パターンであった。したがって、新規認定患者（10名）と同居認定患者（16名）では、血液中の PCB パターンに明確な違いが認められた。

### 3. 1989 年度以降に出生した福岡県油症検診受診者（2011-2014 年度）の血液 PCB 濃度と性状

1989 年度（平成）以降に出生した福岡県油症検診（2011-2014 年度）の受診者（以下、若年層受診者）、20 名（平均 15.1 歳）の血液中 PCB を測定し、パターン解析を行った。受診者の PCB パターン解析結果、認定区分、性別と世代および親（平均

47.8 歳）の PCB パターン解析結果、認定区分と性別を Table 4 に示す。なお、世代の表現は、PCB 等の混入した原因ライソイルを直接摂取している世代を第一世代とし、1968 年 10 月以降に出生した世代を二世もしくは三世とした。Table 4 に示すように、二世の受診者が 7 名であり、そのうち、親が認定患者の受診者は 6 名、親が同居認定患者の受診者は 1 名、親が未認定者の受診者は存在しなかった。また、三世の受診者が 13 名であり、親が認定患者の受診者は 8 名、親が未認定者の受診者は 5 名であった。また、若年層受診者（20 名）は、すべて未認定者であった。当該受診者の Total PCB 濃度は平均で 0.157 ng/g（0.036-0.46 ng/g）で、親の Total PCB 濃度（平均 0.416 ng/g（0.060-0.92 ng/g））と比較して低い値を示した。さらに、若年層およびその親の受診者の Total PCB 濃度は、2014 年度に福岡県内に在住する一般成人（平均年齢 55.4 歳）の血液を等量混合して調整したネガティブコントロール血

**Table 4** Analysis result of PCB in younger age group's blood (ng/g, whole blood weight basis)

No.	Gender	Blood PCB Pattern	Classification*	Generation**	PCB118	PCB153	PCB156	Total PCB	Parent (Mean age 47.8)				
									Classification*	Gender	Blood PCB Pattern	Total PCB	
1	M	B	S	II	0.0063	0.047	0.0059	0.21	Y	M	C	0.50	
2	F	B	S	III	0.0089	0.047	0.0078	0.21	Y	F	A	0.75	
3	M	B	S	III	0.0080	0.057	0.0078	0.24	Y	F	A	0.75	
4	F	BC	S	III	0.0021	0.017	0.0021	0.068	Y	F	A	0.26	
5	M	BC	S	III	0.0067	0.026	0.0027	0.13	S	F	C	0.44	
6	M	C	S	III	0.017	0.065	0.0067	0.27	Y	M	C	0.50	
7	M	C	S	III	0.019	0.098	0.0082	0.41	Y	M	C	0.50	
8	F	C	S	III	0.0040	0.013	0.00092	0.066	Y	F	A	0.36	
9	F	C	S	III	0.0026	0.0066	0.00046	0.036	Y	F	A	0.36	
10	F	C	S	II	0.0038	0.012	0.00081	0.052	Y	M	B	0.92	
11	F	C	S	II	0.018	0.12	0.0096	0.46	Y	F	C	0.38	
12	F	C	S	II	0.0086	0.031	0.0015	0.13	Y	M	BC	0.42	
13	M	C	S	II	0.0057	0.025	0.0012	0.12	Y	M	BC	0.64	
14	F	C	S	II	0.0054	0.016	0.00091	0.087	Y	M	BC	0.42	
15	M	C	S	III	0.0023	0.011	0.0011	0.057	Y	F	A	0.36	
16	M	C	S	II	0.0033	0.015	0.00088	0.063	FY	F	C	0.45	
17	F	C	S	III	0.0037	0.010	0.00076	0.056	S	F	C	0.090	
18	M	C	S	III	0.0057	0.033	0.0032	0.13	S	F	C	0.090	
19	F	C	S	III	0.0059	0.029	0.0022	0.11	S	F	C	0.060	
20	M	C	S	III	0.012	0.061	0.0036	0.24	S	F	C	0.060	
Mean					0.00745	0.0370	0.00342	0.157	Mean				0.416
Min.					0.0021	0.0066	0.00046	0.036	Min.				0.060
Max.					0.019	0.12	0.0096	0.46	Max.				0.92
Normal Control (n=10, Mean age 55.4)					0.027	0.13	0.012	0.58					

\*Y : Yusho patient, S : Yusho-suspected person, FY : Yusho patient (Family living together)

\*\*The generation when rice oil was taken was defined as the first generation. The generation born after October, 1968 was expressed with second generation (II) or the Third (III).

液 (0.58 ng/g) と比較して低かった。堀らは C パターンと判定された受診者の血液中 PCB 濃度は、年齢とともに指数関数的に増大傾向を示し、その原因は食事に由来する日常的な PCB の摂取・蓄積によると考察している<sup>7)</sup>。これによると 15 歳 (若年層受診者の平均年齢) と 55 歳 (ネガティブコントロール血液の提供者の平均年齢) の血液中 PCB 濃度の差は約 0.5 ng/g と推定される。したがって、若年層受診者の血液中 PCB とネガティブコントロール血液中の PCB の差は、年齢的な差で生じる PCB 摂取量・蓄積量によるものだと考えられる。

油症関連物質の次世代影響は、胎内暴露と母乳による移行が主な暴露経路であり、母親からの影響が強いと考えられる。PCB の次世代影響は、血液中の PCB 濃度と性状 (PCB パターン) の観点から評価する必要がある。血液中 PCB 濃度の観点では、若年層受診者の血液中の平均 Total PCB 濃度は、その親の平均 Total PCB 濃度に比べて低い傾向にあるが、親子ともネガティブコントロール血液中の Total PCB と比較して低濃度であり、個別評価でも高濃度事例がないため、世代間での暴露事例は認められなかった。B パターンであった若年層受診者は 3 名で、受診者 No. 1 の親は C

パターンの認定患者の父親であり、No. 2, 3 の親は A パターンの認定患者の母親であった。BC パターンの若年層受診者は 2 名、C パターンは 15 名であり、認定区分、性差や PCB パターンが異なる親が混在していた。血液中 PCB パターンの観点では、No. 2, 3 の母親と子の間にパターンの類似があるものの、他の親子では世代間の暴露事例は認められなかった。

したがって、本解析結果では、血液中 PCB 濃度が低く、例数が少ないため、血液中 PCB 濃度と性状（パターン）の経世代性を確認することはできなかった。しかし、PCB 等の次世代影響の観点から継続して傾向を把握することが重要である。また、今後の検診では、若年層の受診者の増大が予測されており、PCB 等の次世代影響を評価するためには、PCB 濃度が低い若年層の血液中 PCB の定量精度・感度を確保するための測定技術の改良・改善、並びに比較対象である若年層の一般健康人の血液中 PCB 濃度を把握することが重要である。

## 総 括

2011-2014 年度の福岡県油症検診において新たに 10 名が油症患者として認定された。10 名のうち油症の影響を強く受けている A パターンの認定患者は 2 名で、B パターンは 5 名、BC パターンは 3 名であり、C パターンの認定患者は存在しなかった。2012 年度から同居家族に対しても患者認定が行われ、同居認定患者における受診者の血液中 PCB はすべて C パターンであった。油症検診では受診者の年齢層が広がり、特に、若年層では血液中 PCB 濃度が低下している。今後、次世代暴露の懸念から若年層の受診者の増大が予想され、次世代影響の評価のためには、測定感度の向上や精度の管理、若年層の一般健康人の PCB 測定データの蓄積、また、食事等からの摂取量の調査が重要と考えられる。

## 謝 辞

本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）に負うものである。ここに記して謝意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) 桑原克義, 松本比佐志, 村上保行, 堀伸二郎: 19 年間 (1977 年~1995 年) におけるトータルダイエットスタディー法による大阪在住成人の PCB 及び有機塩素系農薬の 1 日摂取量の推移, 食衛誌 38: 286-295, 1997.
- 2) 増田義人, 香川梨絵, 島村京子, 高田真由美, 倉恒匡徳: 油症患者および一般人の血液中のポリ塩化ビフェニール, 福岡医誌 65: 25-27, 1974.
- 3) 占部治邦: 序言, 福岡医誌 65, 1-4, 1974.
- 4) 杉山浩太郎: 序言, 福岡医誌 68, 93-95, 1977.
- 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) 堀 就英, 安武大輔, 戸高 尊, 平川博仙, 井上英, 梶原淳陸, 中川礼子, 芦塚由紀, 飯田隆雄, 吉村健清: 福岡県油症検診 (2006 年度) 受診者における血液 PCB 濃度と性状, 福岡医誌 98: 176-181, 2007.
- 7) 堀 就英, 安武大輔, 芦塚由紀, 高橋浩司, 平田輝昭, 内 博史, 古江増隆: 福岡県油症検診 (2007-2011 年度) 受診者における血液中 PCB 濃度と傾向, 福岡医誌 102: 134-139, 2011.
- 8) Masuda Y: Health status of Japanese and Taiwanese after exposure to contaminated rice oil. Environmental Health Perspect. 59: 580-588, 1985.
- 9) 堀 就英, 山本貴光, 石黒靖尚, 飯田隆雄, 梶原淳陸, 平田輝昭, 内 博史, 古江増隆: 血液中 PCB 異性体分離分析におけるアルカリ分解温度の検討, 福岡医誌 104: 152-160, 2013.

(Received for publication March 18, 2015)

## A Study on Polychlorinated Biphenyls Specifically -Accumulated in Blood of Yusho Patients Collected from Medical Check-Ups in 2012

Takashi MIYAWAKI<sup>1)\*</sup>, Shusaku HIRAKAWA<sup>1)</sup>, Takashi TODAKA<sup>2)</sup>, Hironori HIRAKAWA<sup>1)</sup>,  
Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>, Junboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Teruaki HIRATA<sup>1)</sup>,  
Hiroshi UCHI<sup>2)</sup> and Masutaka FURUE<sup>2)3)</sup>

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

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

<sup>3)</sup>*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan.*

### Abstract

In this study, we analyzed polychlorinated biphenyls (PCBs) in the blood of Yusho patients collected from medical check-ups, which were conducted in 2012. The results show that 65 PCB isomers, not including non-*ortho* PCBs, were detected in the blood samples, and the total concentration was 620 ng g<sup>-1</sup> lipid. This value was comparable to the concentration in blood samples collected in 2005, and indicated that PCB concentrations in Yusho patients remained unchanged from 2005 to 2012. Here, we focused on major and specific PCB isomers in the blood samples of Yusho patients and normal controls. Examples of the former include hexaCB-153, hexaCB-138, and heptaCB-180, which are detected in human blood, while the latter include hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189, and are highly detected in the blood of Yusho patients. Additionally, we tried to determine why the specific isomers were highly accumulated in the blood of Yusho patients as compared to the normal controls. We therefore analyzed these isomers in the contaminated rice oil, and found that the concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 were 1800, 450, and 190 ng g<sup>-1</sup>, respectively. Notably, previous studies indicated that these isomers might not be easily metabolized in humans. Therefore, these findings demonstrated that these isomers were highly accumulated in the blood of Yusho patients.

**Key words** : Polychlorinated biphenyls · Blood · Rice oil · Yusho patients

### Introduction

Over 40 years have passed since the Kane-mi-Yusho incident occurred in western Japan. Specifically, Yusho patients ingested rice oil products that were contaminated with large amounts of polychlorinated biphenyls (PCBs), which were used as heat-transfer medium in the process of rice oil production. Previous studies showed that the concentration of PCBs in the blood of Yusho patients decreased considerably when compared to the outbreak of Yusho

disease<sup>1)-3)</sup>. However, our research group showed that some PCB isomers persisted at higher concentrations in the blood of Yusho patients after more than 40 years<sup>4)5)</sup>. Furthermore, we found two characteristic groups of PCB isomers in blood samples from affected patients. The first group of isomers consists of the major isomers (hexaCB-153, hexaCB-138, heptaCB-180, and heptaCB-182/heptaCB-187), which are generally detected in human, the other group contains specific isomers (hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181, and heptaCB-189)

Correspondence author : Takashi MIYAWAKI  
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan  
E-mail : miyawaki@fihes.pref.fukuoka.jp

that were highly detected in the blood of Yusho patients. These isomer profiles may provide new information related to the accumulation of PCBs in human blood, as well as valuable information for metabolomics studies.

In this study, we focused on the major and specific PCB isomers in blood collected from Yusho patients during medical check-ups, which were performed in 2012. Additionally, we compared with the concentrations between this study and the results obtained from Yusho patients and the normal controls during medical check-ups in 2005. As a result, we proposed two hypotheses regarding why the specific isomers accumulated in high concentrations in the blood of Yusho patients. One possible reason was that the specific isomers were present at high concentrations in the contaminated rice oil ; alternatively, these were difficult to be metabolites such as hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs). Thus, we analyzed the concentrations of specific PCB isomers in the rice oil, and evaluated previous studies regarding the metabolism of PCBs in order to elucidate the differences between the concentrations of the major and specific PCB isomers in the blood of Yusho patients and that of the normal controls. Our findings could explain why the specific isomers accumulated in the blood of Yusho patients.

## Materials and methods

### Sampling

Medical check-ups for Yusho patients have been performed annually since the Yusho incident, in order to monitor the health status of the affected patients. The blood samples examined in this study were collected from 139 participants who received a medical check-up in 2012. Informed consent was obtained from all participants. The mean age of Yusho patients who received a medical check-up in 2012 was 62.0 years old. Additionally, the mean age of Yusho patients and normal controls who received medical check-ups in 2005 was 67.3 and 68.1

years old, respectively.

Each 10 ml of blood sample was collected using a vacuum blood-collecting tube containing heparin, and the sample was stored at 4°C until analysis. The rice oil sample was one of the products that caused the Kanemi-Yusho incident. As such, a sample of contaminated rice oil was stored in a cold dark place within our laboratory until analysis.

### Analysis

The extraction and cleanup of PCBs in the blood samples were carried out according to a procedure described previously<sup>(6)(7)</sup>. Briefly, the extraction of lipids from 5 g, a portion of each blood samples was performed with an accelerated solvent extractor (ASE) system, and the extract was refined with a sulfuric acid treatment, a silver nitrate silica gel column and an activated carbon dispersed silica gel column cleanup, additionally a sulfoxide cartridge column as a further cleanup method. After cleanup, the sample was concentrated and transferred to an injection vial. On the other hand, the samples utilized for the analysis of PCBs in the rice oil were not subjected to extraction and cleanup. Briefly, 200 µl of the rice oil was diluted with hexane to a total volume of 200 ml. A portion of the diluted sample was transferred to an injection vial. Additionally, a vial containing KC-mixtures standard (Kanechlor KC-300, 400, 500, 600, GL Sciences, Japan) was prepared, for comparison to the contaminated rice oil.

The measurement of PCBs was performed using high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS). The measurement conditions were as follows : the gas chromatograph was an HP-6890 (Agilent Technologies, USA) equipped with an Autospec Ultima NT (Waters, USA) ; the column was a HT8-PCB fused silica capillary column, 0.25 mm i.d. × 60 m (KANTO Chemicals, Japan) ; the column oven temperature was programmed to increase at a rate of 20°C min<sup>-1</sup> from an initial

**Table 1** PCB concentrations in blood samples collected from patients during medical check-ups.

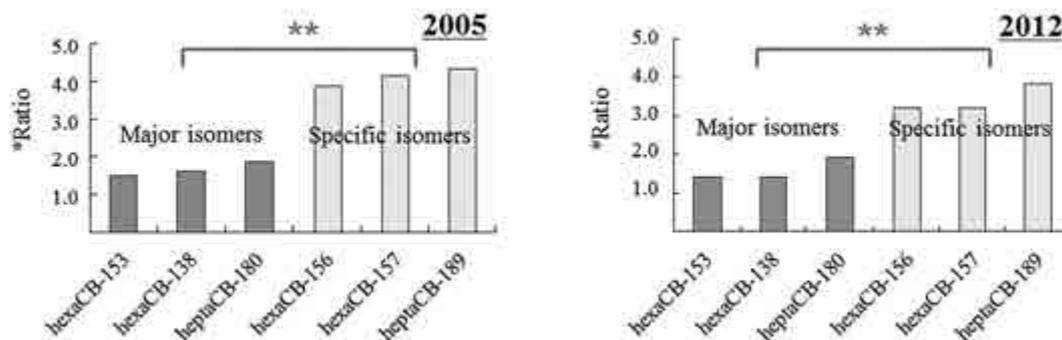
IUPAC#	Concentration (pg g <sup>-1</sup> lipid)			IUPAC#	Concentration (pg g <sup>-1</sup> lipid)		
	Yusho Patients (YP)		Normal Controls (NC)		Yusho Patients (YP)		Normal Controls (NC)
	2005(n=237)	2012(n=139)	2005(n=127)		2005(n=237)	2012(n=139)	2005(n=127)
	Mean	Mean	Mean		Mean	Mean	Mean
245-TrCB (#29)	32	16	25	22'33'46'-HxCB (#132)	188	128	282
244'-TrCB (#28)	1371	1428	2571	22'44'55'-HxCB (#153)	134448	128123	89821
344'-TrCB (#37)	19	426	-	22'3455'-HxCB (#141)	303	161	324
22'55'-TeCB (#52)	977	753	1290	22'344'5'-HxCB (#137)	6019	5497	2968
22'45'-TeCB (#49)	235	179	303	22'33'45'-HxCB (#130)	4466	3773	2620
22'44'-TeCB (#47)	438	342	605	233'4'5'6'-HxCB (#164)	27083	28766	19350
22'35'-TeCB (#44)	312	170	458	22'344'5'-HxCB (#138)	66117	57218	40872
23'4'6'-TeCB (#71)	87	27	192	22'33'44'-HxCB (#128)	865	673	876
23'4'5'-TeCB (#63)	84	79	146	23'44'55'-HxCB (#167)	3927	3788	3649
244'5'-TeCB (#74)	9835	9209	19472	233'44'5'-HxCB (#156)	30958	25632	7982
23'4'5'-TeCB (#70)	197	135	259	233'44'5'-HxCB (#157)	8418	6488	2024
23'44'-TeCB (#66)	1514	1582	2338	22'33'566'-HpCB (#179)	219	137	208
233'4'-/2344'TeCBs (#56/60)	489	282	884	22'33'55'6'-HpCB (#178)	9511	10297	6248
22'35'6'-PeCB (#95)	667	527	833	22'344'5'6'-HpCB (#182/187)	43375	42047	28083
22'355'-PeCB (#92)	601	530	860	22'344'5'6'-HpCB (#183)	10460	8087	6145
22'455'-PeCB (#101)	1680	1480	1898	22'344'5'6'-HpCB (#181)	315	159	71
22'44'5'-PeCB (#99)	17682	12882	12505	22'33'4'5'6'-HpCB (#177)	8533	8023	5753
23'4'5'6'-PeCB (#117)	1401	1076	927	22'33'455'-HpCB (#172)	5948	5909	2974
22'345'-PeCB (#87)	646	459	692	22'344'55'-HpCB (#180)	110380	113585	59481
22'344'-PeCB (#85)	142	118	218	233'44'5'6'-HpCB (#191)	1813	1467	766
233'4'6'-PeCB (#110)	365	231	411	22'33'44'5'-HpCB (#170)	39700	34771	17268
233'4'5'-PeCB (#107)	693	765	987	233'44'55'-HpCB (#189)	4542	4050	1052
2'344'5'-PeCB (#123)	276	194	466	22'33'55'66'-OcCB (#202)	4547	3870	2812
23'44'5'-PeCB (#118)	16343	17117	24353	22'33'45'66'-OcCB (#200)	663	351	648
2344'5'-PeCB (#114)	1895	1722	1697	22'33'4566'-OcCB (#201/198)	25584	9644	10093
233'44'-PeCB (#105)	3473	3484	5061	22'344'55'6'-OcCB (#203)	19357	9078	7820
22'355'6'-HxCB (#151)	1254	1027	1255	22'33'44'5'6'-OcCB (#195)	4389	3477	1820
22'33'56'-HxCB (#135)	470	312	475	22'33'44'55'-OcCB (#194)	19132	19268	8595
22'34'56'-HxCB (#147)	612	524	484	233'44'55'6'-OcCB (#205)	873	463	309
22'344'6'-HxCB (#139)	742	151	822	22'33'455'66'-NoCB (#208)	948	1048	775
22'33'56'-HxCB (#134)	25	10	27	22'33'44'566'-NoCB (#207)	414	323	339
233'55'6'-HxCB (#165)	1412	-	-	22'33'44'55'6'-NoCB (#206)	3088	2995	1960
22'34'55'-HxCB (#146)	21873	22521	13899	22'33'44'55'66'-DeCB (#209)	1153	760	1361
				Total PCBs	652325	619820	431955

- : not detected

temperature of 130°C (1 min hold) to 220°C, then at a rate of 3°C min<sup>-1</sup> to 280°C, and then at a rate of 20°C min<sup>-1</sup> to a final temperature of 300°C (3.5 min hold). The flow rate of the helium carrier gas was 1.3 ml/min (constant flow). The injection temperature was maintained at 280°C and the sample (2μl) was injected in splitless mode. The ionizing energy, accelerating voltage, and trap current were 38 eV, 8.0 kV, and 650μA, respectively. Analysis was performed using EI ionization and the selected ion monitoring mode. The resolution was maintained at 10000 at 5% valley.

## Results and discussion

The concentrations of the major and specific PCB isomers in the blood collected from Yusho patients in 2005 and 2012 are shown in Table 1, including the data of normal controls previously reported<sup>8</sup>). Among the 209 PCB isomers, 8 mono-*ortho* PCBs and 57 non-dioxin-like PCBs were identified in the blood of Yusho patients in 2012. The total concentrations of PCB isomers in the blood of Yusho patients in 2005 and 2012 were 652 and 620 ng g<sup>-1</sup> lipid, respectively. These results indicated that PCB concentrations in the blood of Yusho patients remained mostly un-



**Fig. 1** Comparison of ratios of concentrations of major and specific PCB isomers. Ratio = PCB concentrations of Yusho patients/those of the normal controls. \*\*  $p < 0.01$ ; evaluated by Student's t-test.

changed for 7 years. The total concentrations were 1.4–1.5 times higher than those of the normal controls in 2005.

In this study, we focused on 6 isomers which are composed of hexaCB-153, hexaCB-138 and heptaCB-180 (major isomers), and hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 (specific isomers). HeptaCB-182/heptaCB-187 and heptaCB-181 were not targeted, because the former exhibited an overlapping peak, and the latter existed at a low concentration. The concentrations of hexaCB-153, hexaCB-138, and heptaCB-180 in the blood of Yusho patients were 134, 66, and 110 ng  $g^{-1}$  lipid in 2005, and 128, 57, and 114 ng  $g^{-1}$  lipid in 2012, as shown in Table 1. It was confirmed that hexaCB-153, hexaCB-138, and heptaCB-180 contributed to the total PCB concentrations in the blood of Yusho patients. In addition, these major isomers were also found at high concentrations in the blood of the normal controls (Table 1). The ratios relative to the normal controls ranged from 1.5–1.9; there were no significant differences between the concentrations of the isomers in the blood of Yusho patients and the normal controls, as shown in Fig. 1.

On the other hand, the concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 in the blood of Yusho patients were 31, 8.4, and 4.5 ng  $g^{-1}$  lipid in 2005, and 26, 6.5, and 4.1 ng  $g^{-1}$  lipid in 2012, respectively. The concentrations of the specific isomers were lower than those of the major isomers, whereas the ratios of the specific

isomers were significantly higher than those of the major isomers (Fig. 1). The ratios of the concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 to those of the major isomers in the blood of Yusho patients were 3.2–3.9, 3.2–4.2, and 3.8–4.3, respectively, and were higher than those of the normal controls. These results indicated that, even though more than 40 years have passed since the Yusho incident, Yusho patients contained higher concentrations of hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 in their blood than unaffected people.

The results led to two hypotheses regarding why specific isomers accumulated in the blood of Yusho patients. One possible interpretation was that the specific isomers were at high concentrations in the contaminated rice oil, and the other was that these were difficult to be metabolites such as OH-PCBs. Previous studies regarding contaminated rice oil from the Kanemi-Yusho incident focused on polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and non-*ortho* PCBs; however, the information regarding concentration of non-dioxin-like PCBs was not frequently reported. Therefore, we analyzed the concentrations of major and specific isomers in the contaminated rice oil from the incident. Notably, these isomers were detected at high concentrations in the rice oil. The concentrations of the major isomers hexaCB-153, hexaCB-138, and heptaCB-180 were 1800, 3500, and 1200 ng  $g^{-1}$ , respectively. On the other hand,

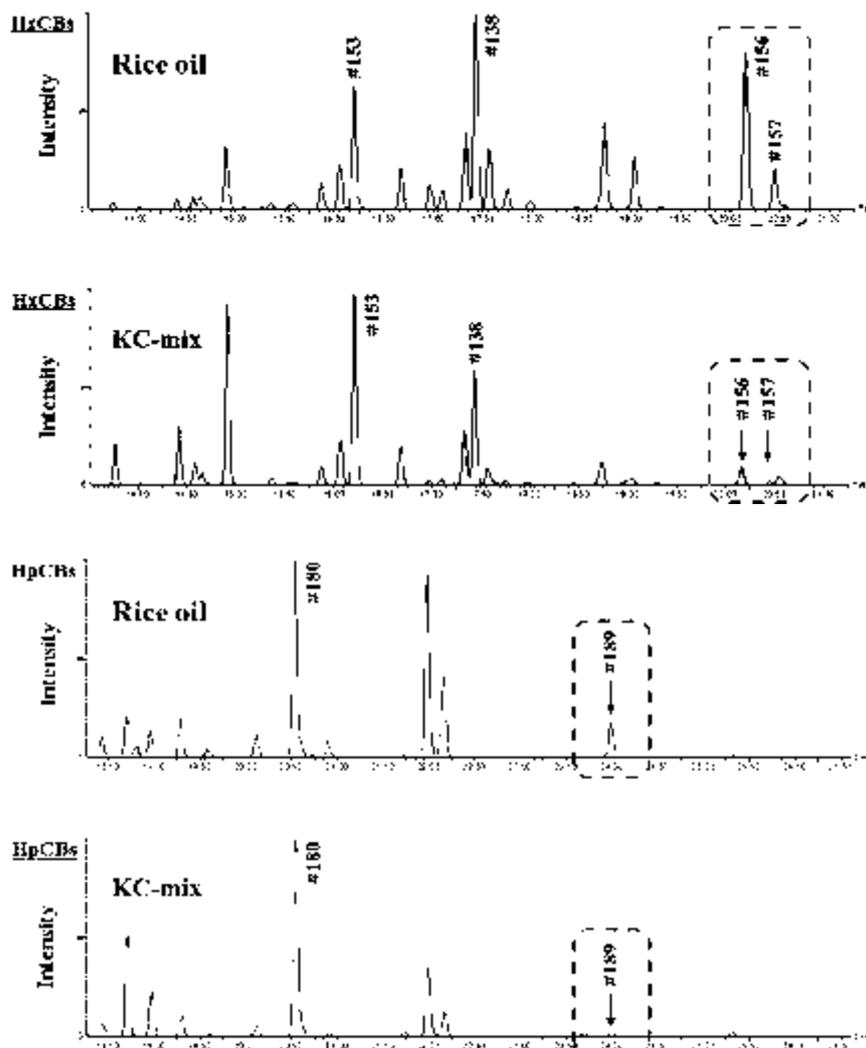
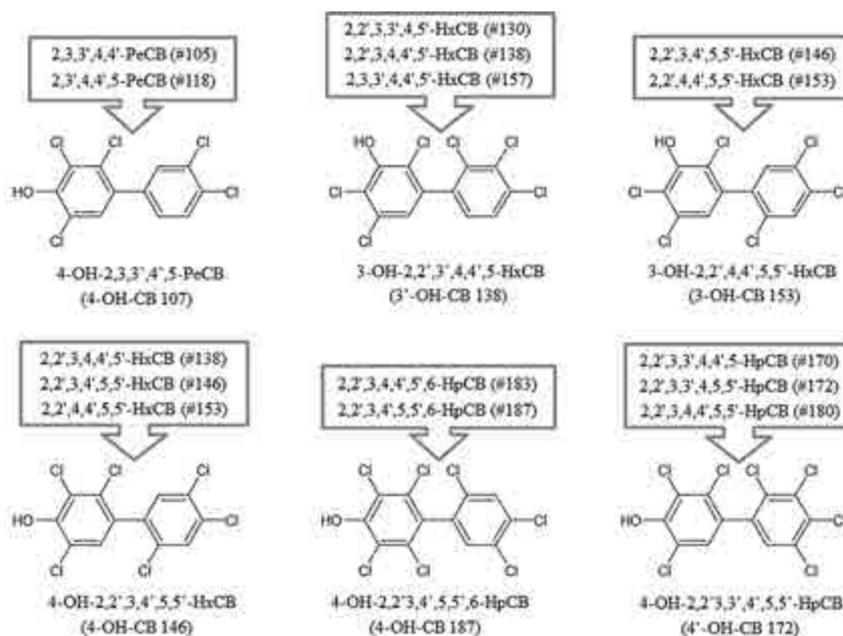


Fig. 2 Comparison of the chromatograms of PCB isomers in contaminated rice oil and KC-mixtures.

those of the specific isomers, hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 were 1800, 450, and 190  $\text{ng g}^{-1}$ , respectively. The concentration pattern of these isomers was corresponded to a previous data<sup>9)</sup>. In particular, the concentration of hexaCB-156 was nearly as high as the concentrations of the major isomers. This concentration level was similar to a previous report on that of hexaCB-156 in the other contaminated rice oil<sup>10)</sup>. Thus, these findings demonstrated that the specific isomers in the contaminated rice oil remained at high concentration. In conclusion, it was considered to be one of the reasons that these isomers were highly accumulated in Yusho patients as compared to the normal controls.

Interestingly, in this study, the component fraction of the specific isomers in the rice oil was higher than that in the KC-mixtures which was common PCB products. A comparison of chromatograms is shown in Fig. 2, to illustrate the intensity of the specific isomers in the rice oil and KC-mixture. Major differences in the peak areas corresponding to hexaCB-156 and hexaCB-157 were noted, but minor differences in the peak areas corresponding to hexaCB-153 and hexaCB-138. Additionally, the amount of heptaCB-189 in the rice oil was greater than that in the KC-mixture. Therefore, these differences might be caused by the thermal metamorphism of PCBs, which were used as heat-transfer medium



**Fig. 3** Chemical structures of the common OH-PCBs and their parent PCBs in human blood.

in the process of rice oil production. Notably, previous studies regarding the formation of PCDF from PCB upon heating at a high temperature might imply a change in the PCB isomer pattern<sup>11)12)</sup>.

As mentioned above, there were no significant differences in the ratios of the concentrations of the major isomers detected in the blood of Yusho patients to those in the normal controls, while hexaCB-153, hexaCB-138, and heptaCB-180 were highly detected in the rice oil (Fig. 1). This result clearly indicated that the accumulation of the specific isomers in humans was different from those of the major isomers. In other words, the rate of elimination of these compounds from the human body might have differed. Therefore, we investigated the metabolism of PCBs in order to verify this hypothesis. Several previous studies on the metabolism of PCBs showed that OH-PCBs are the main metabolites of PCBs, and are formed by the cytochrome P450 (CYP) monooxygenase enzyme system<sup>13)14)</sup>. The OH-PCBs are formed from direct electrophilic addition of oxygen or an arene oxide intermediate by hepatic CYP enzymes<sup>15)</sup>. Metabolic patterns of PCB isomers

were reported in animal studies<sup>15)-17)</sup>. PCB isomers with a lower number of chlorine substitutions, including 2,3-, 2,5-, and 2,6-dichlorination or 2,3,6- trichlorination patterns, are easily metabolized to OH-PCBs. Additionally, PCB isomers with chlorines in the 4-, 3,4-, 3,5-, 2,4,5-, 2,3,4,6-, or 2,3,5,6- positions are slightly metabolized<sup>13)</sup>.

In this study, we found that specific PCB isomers hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 accumulated in the blood of Yusho patients. A review of previous research revealed that 4-OH-CB107, 3'-OH-CB138, 4-OH-CB146, 3-OH-CB153, and 4-OH-CB187 were commonly detected as PCB metabolites in the blood of humans from several countries<sup>13)</sup>. The above major OH-PCB isomers were also detected in the blood of Yusho patients<sup>18)19)</sup>. These OH-PCB isomers and their parent PCB compounds are shown in Fig. 3<sup>13)20)</sup>. These findings imply that hexaCB-156, hexaCB-157, and heptaCB-189 are not easily metabolized in humans, although studies related to the metabolism of these PCB isomers are limited. As a result, the specific isomers might remain in the blood of Yusho

patients.

Finally, it is necessary to consider the intake of dietary PCBs from foods such as seafood. Hori et al. investigated the relationship between seafood consumption and accumulation of PCBs in humans<sup>21)</sup>. According to the report, intake of the specific isomers might be considerably low, because these isomers constitute less than 1% of PCB isomers. Therefore, it seems unlikely that intake of the specific isomers from foods is high. In conclusion, the specific isomers exposed at Yusho incident might remain in the patients for a long time ; consequently, these isomers were detected at higher concentrations in the blood of Yusho patients as compared to those in the normal controls.

### Acknowledgements

This work was supported in part by a Grant-in-Aid for scientific research from the Ministry of Health Labour and Welfare, Japan. The author would like to thank Dr. Kei Nomiya, an associate professor of Ehime University, for advice concerning the metabolism of PCBs.

### References

- 1) Iida T, Fukamachi K and Takahashi K : Time course variation of PCB level and peak pattern on gas chromatogram in the blood of normal persons. *Fukuoka Igaku Zasshi* 76 : 137-144, 1985.
- 2) Masuda Y, Kuroki H and Haraguchi K : Elimination of PCDF and PCB congeners in the blood of patients with PCB poisoning in Taiwan. *Fukuoka Igaku Zasshi* 82 : 262-268, 1991.
- 3) Masuda Y : Causal agents of Yusho, In Kuratsune M et al ed. *Yusho, A human disaster caused by PCBs and related compounds*. Kyushu University Press. 49-80, 1996.
- 4) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. *Chemosphere* 74 : 902-909, 2009.
- 5) Miyawaki T, Hori T, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients collected from medical check-ups in 2010. *Organohalogen Comp.* 78 : 885-887, 2012.
- 6) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K and Iida T : New protocol of dioxins analysis in human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi* 94 : 148-157.
- 7) 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. *Fukuoka Igaku Zasshi* 96 : 220-226, 2005
- 8) Todaka T, Hori T, Yasutake D, Yoshitomi H, Hirakawa H, Onozuka D, Kajiwara J and Iida T : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood collected from Yusho patients during medical check-ups performed from 2004 to 2007. *Fukuoka Igaku Zasshi* 100 : 156-165, 2009.
- 9) Takenaka S, Hirakawa H, Nakamura M, Nakagawa R and Iida T : Follow-up survey of dioxins in the blood of Yusho patients (in 1998-1999). *Fukuoka Igaku Zasshi* 92 : 139-148, 2001.
- 10) Tanabe S, Kannan N and Wakimoto T : Isomer-specific determination and toxic evaluation of potentially hazardous coplanar PCBs, dibenzofurans and dioxins in the tissues of "Yusho" and PCB poisoning victim and in the causal oil. *Toxicol. Environ. Chem.* 34 : 215-231, 1989.
- 11) Miyata H and Kashimoto T : Studies on the compounds related to PCBs (IV) investigation on polychlorodibenzofuran formation. *J. Food. Hyg. Soc.* 18 : 78-84, 1978.
- 12) Nagayama J, Kuratsune M, Masuda Y : Formation of polychlorinated dibenzofurans by heating polychlorinated biphenyls. *Fukuoka Igaku Zasshi* 72 : 136-141, 1981.
- 13) Grimm F, Hu D, Kania I, Lehmler H, Ludewig G, Hornbuckle K, Duffel M, Bergman A and Robertson L : Metabolism and metabolites of polychlorinated biphenyls. *Crit. Rev. Toxicol.* 45 : 245-272, 2015.
- 14) Matthews H and Kato S : The metabolism and disposition of halogenated aromatics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 320 : 131-137, 1979.
- 15) Haraguchi K, Kato Y, Kimura R and Masuda Y : Hydroxylation and methylthiolation of mono-ortho-substituted polychlorinated biphenyls in rats : identification of metabolites with tissue affinity. *Chem. Res. Toxicol.* 11 : 1508-1515, 1998.
- 16) Haraguchi K, Kato Y, Kimura R and Masuda Y :

- Comparative study on formation of hydroxy and sulfur-containing metabolites from different chlorinated biphenyls with 2,5-substitution in rats. *Drug Metab. Dispos.* 25 : 845-852, 1997.
- 17) Haraguchi K, Koga N and Kato Y : Comparative metabolism of polychlorinated biphenyls and tissue distribution of persistent metabolites in rats, hamsters, and Guinea pigs. *Drug Metab. Dispos.* 33 : 373-380, 2005.
- 18) Linderholm L, Masuda Y, Athanasiadou M and Bergman, Å : PCB and PCB metabolites in serum from Yusho patients 37 years after the accident. *Organohalogen Comp.* 69 : 2141-2144, 2007.
- 19) Tobiishi K, Suzuki S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Iida T, Uchi H and Furue M : Concentration of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of Yusho patients in 2010. *Fukuoka Igaku Zasshi* 104 : 136-142, 2013.
- 20) Enomoto T, Nishio Y, Matsuda M, Kawano M and Wakimoto T : Hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites (HO-PCBs) in human blood plasma - development of analytical methods and their residue in Japanese general population -. *J. Environ. Chem.* 16 : 51-59, 2006.
- 21) Hori T, Kajiwara J, Yasutake D and Nakagawa R : Isome specific determination of PCBs in edible fish samples. *Annual Report of the Fukuoka Inst. of Heal. and Environ. Sci.* 35 : 77-82, 2008.

(Received for publication March 18, 2015)

(和文抄録)

## 2012 年度油症認定患者の血液中に残留する ポリ塩素化ビフェニルに関する研究

<sup>1)</sup>福岡県保健環境研究所<sup>2)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野<sup>3)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

宮脇 崇<sup>1)</sup>, 平川周作<sup>1)</sup>, 戸高 尊<sup>2)</sup>, 平川博仙<sup>1)</sup>, 堀 就英<sup>1)</sup>,  
梶原淳睦<sup>1)</sup>, 平田輝昭<sup>1)</sup>, 内 博史<sup>2)</sup>, 古江増隆<sup>2)3)</sup>

2012年に実施したカネミ油症検診において、油症患者から血液を採取して、PCB分析を実施した。その結果、患者における総PCB濃度の平均値は $620 \text{ ng g}^{-1}$  (脂肪重量換算)であり、2005年の濃度結果とほぼ同等であった。本研究では、ヒト血液中から高濃度で検出される主要異性体(hexaCB-153, hexaCB-138及びheptaCB-180)と油症患者の血液から高濃度で検出される特定異性体(hexaCB-156, hexaCB-157及びheptaCB-189)に注目し、なぜ油症患者に特定異性体が残留しているのか、その原因について調査した。その結果、油症の原因となったライスオイルから、hexaCB-156, hexaCB-157及びheptaCB-189が、それぞれ1800, 450, 190  $\text{ng g}^{-1}$ で検出され、これらの異性体が極めて高い濃度で含まれていることが明らかになった。また、PCBs代謝に関する過去の研究報告から、特定異性体は主要異性体とは異なり、代謝されにくい構造を持つ物質であることが示唆された。以上のことから、油症発症から40年以上が経過した現在でも、特定異性体は油症患者の体内において高いレベルで残留していると考えられた。

## Cynaropicrin が油症原因物質 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran による Wasting Syndrome および酸化ストレスに及ぼす影響

<sup>1)</sup>九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学分野

<sup>2)</sup>第一薬科大学

<sup>3)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

<sup>4)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

山田 健一<sup>1)</sup>, 石井 祐次<sup>1)</sup>, 武田 知起<sup>1)</sup>, 黒木 廣明<sup>2)</sup>,  
三 苦 千 景<sup>3)</sup>, 内 博 史<sup>4)</sup>, 古 江 増 隆<sup>3)4)</sup>, 山 田 英 之<sup>1)</sup>

## Effect of Cynaropicrin on 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran- induced Wasting Syndrome and Oxidative Stress

Ken-ichi YAMADA<sup>1)</sup>, Yuji ISHII<sup>1)</sup>, Tomoki TAKEDA<sup>1)</sup>, Hiroaki KUROKI<sup>2)</sup>,  
Chikage MITOMA<sup>3)</sup>, Hiroshi UCHI<sup>4)</sup>, Masutaka FURUE<sup>3)4)</sup> and Hideyuki YAMADA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

<sup>2)</sup>Daiichi University of Pharmacy

<sup>3)</sup>Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan

<sup>4)</sup>Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences,  
Kyushu University, Fukuoka, Japan.

### Abstract

The effect of cynaropicrin that is the major component of an edible plant, artichoke (*Cynara scolymus*) on 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF)-induced toxicity in mice was studied. We evaluated the effect of cynaropicrin on the wasting syndrome and oxidative stress elicited by PenCDF. However, the PenCDF dose-response relationship on the wasting syndrome has been superficial. Therefore, we determined the dose which causes wasting syndrome in C57BL/6J mice, a responsive strain to dioxins. Since 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (0.1 mg/kg, p.o.) induces hepatic ethoxyresorfin *O*-deethylase (EROD) activity in mice, we set the doses of PenCDF at 0.3, 1.0, 3.0, 5.0 and 10 mg/kg (once, p.o.) on the basis of its toxic-equivalency factor (0.3). The wasting syndrome was evaluated by measuring the daily changes of body weight. Thiobarbituric acid-reactive substances were used as an index of oxidative stress. Of PenCDF doses examined, wasting syndrome and oxidative stress took place most markedly in 5 mg/kg. In disagreement with this, EROD activity which is the marker of the aryl hydrocarbon receptor-dependent induction of cytochrome P450 1a1 was elevated most abundantly at 0.3 mg/kg. Then, we examined the effect of cynaropicrin on the wasting syndrome and oxidative stress provoked by PenCDF at 5 mg/kg. However, this compound up to 20 mg/kg (p.o.) did not attenuate PenCDF-induced wasting syndrome. On the contrary, PenCDF-induced oxidative stress was suppressed by cynaropicrin at the highest dose (20 mg/kg), although EROD activity was increased rather than reduced by cynaropicrin at lower doses. Thus, it is suggested that cynaropicrin has an ability to reduce oxidative stress caused by PenCDF.

**Key words** : Wasting syndrome · Dioxins · PCDF · Cytochrome P450 · Oxidative stress

---

Corresponding author : Hideyuki YAMADA, Ph.D.

Laboratory of Molecular Life Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

E-mail : hyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

## はじめに

油症では、皮膚症状や脂質代謝異常を始めとする多岐にわたる障害が発生し、発生後40年以上経過した現在もなお、多くの患者が苦しんでいる。油症原因物質は、polychlorinated biphenyl (PCB) およびその加熱により生じた非意図的生成物であるダイオキシン類であると考えられている<sup>1)</sup>。中でも、2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) は、油症患者の体内でのダイオキシン類としての毒性指標である TEQ (Toxicity Equivalency Quantity : 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 換算量, TEF (Toxicity Equivalency Factor) と存在量との積) が全体の約70%と最も高く、発症への寄与が最も高い原因物質と考えられている<sup>2)3)</sup>。動物実験では、高用量のダイオキシン類によって、体重増加抑制作用を特徴とする消耗症 (wasting syndrome)、肝肥大および胸腺や脾臓の萎縮などの発症が知られている<sup>4)</sup>。

ダイオキシン類の毒性には、aryl hydrocarbon receptor (AhR) が関与することが、AhR ノックアウトマウスを用いた研究から示唆されている<sup>5)6)</sup>。ダイオキシンが細胞質の AhR に結合すると、AhR は核内に移行したのち、AhR nuclear translocator と結合し、ヘテロダイマーを形成後、標的遺伝子に存在する xenobiotic responsive element に結合する。これにより、転写が活性化され、cytochrome P450 (CYP) 1A1 を始めとするさまざまな酵素が誘導される<sup>7)</sup>。

当研究室では、現在までに、geranylgeranylacetone, resveratrol, および curcumin などの物質が TCDD による wasting syndrome を抑制することを報告している<sup>8)~12)</sup>。一方、artichoke (朝鮮アザミ) *Cynara scolymus* には、抗酸化作用があり<sup>13)</sup>、主成分である cynaropicrin は、消化不良や食欲不振の改善作用、抗炎症作用があると報告されている<sup>14)</sup>。また、本研究班班員らによる in vitro 実験からは、cynaropicrin に AhR アンタゴニストとしての作用も示唆されている<sup>15)</sup>。

本研究では、マウスでの cynaropicrin の有効性検証を目的とした。すなわち、cynaropicrin が PenCDF 毒性に対する軽減作用を有するか否かを検討した。Cynaropicrin が期待通りの効果を

有すれば、CYP1A1, 1A2, および IBI などの AhR に制御される酵素の誘導が抑制され、また、酸化ストレスが抑制されると期待された。PenCDF 毒性指標としては、wasting syndrome および酸化ストレスを用いた。マウスでは、PenCDF が wasting syndrome を惹起する用量が、正確には分かっていない。そこで、まず、PenCDF 毒性の用量依存性を調べ、wasting syndrome を惹起する用量を確認し、その後、cynaropicrin の有効性を検証した。

## 実験方法

### 1. PenCDF の合成

PenCDF は、既報に従い合成した<sup>16)</sup>。PenCDF の構造と純度は融点 (非校正)、196-196.5°C ; EI-MS における分子イオンピーク ( $m/z$ ,  $M^+$ ), 338 ; NMR スペクトル [ $CDCl_3$ ,  $\delta$  in ppm (signal pattern)], 7.97 (s), 7.91 (s) and 7.77 (s) およびガスクロマトグラフにより決定した。下記のガスクロマトグラフの条件下に単一ピークが保持時間 21.8 分に観察され、ピーク面積から純度は 98%以上と見積もられた。ガスクロマトグラフ装置 : Shimadzu GC-17A (Kyoto, Japan); カラム : DB-5 (0.25 mm I.D.  $\times$  30 m) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA); カラムオープン温度 (昇温分析) : 70°C で 2 min 保持, 2°C/min で 220°C まで昇温し 220°C で 1 min 保持, 3°C/min で 280°C まで昇温し、以降分析中は 280°C に保持。インジェクションポート温度 : 250°C ; 検出器温度 330°C ; キャリアガス : 高純度窒素ガス  $N_2$  (99.999%) ; 流速 : 0.8 ml/min ; 検出器 : 電子捕獲型検出器 ( $^{63}Ni$ )。

### 2. 動物処理

動物実験は、すべて九州大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。PenCDF 用量依存性に関する実験は、九州大学薬学研究院動物舎において行った。また cynaropicrin による PenCDF 毒性軽減効果の検証実験は、株式会社新日本科学に受託して行った。マウスは日本クレア(株)より購入し、1週間の馴化ののち使用した。PenCDF 毒性の用量依存性 : ダイオキシン類に対して高親和性の AhR を発現するマウス (C57BL/6J 系統) を使用した。PenCDF の TEF=0.3<sup>19)</sup> と、CYP1A1 の

マーカー活性である ethoxyresorfin O-deethylase (EROD) 活性を強く誘導し, wasting syndrome を惹起する TCDD の用量 0.1 mg/kg (p.o.)<sup>8)</sup> を基にして, PenCDF の最低用量を 0.3 mg/kg (p.o.) に設定した. すなわち, 7 週令の C57BL/6J 系雄性マウスに PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 および 10 mg/kg/2 mL コーン油) を単回経口投与した. 対照群には, コーン油を経口投与した. 投与 7 日後に体重を測定したのち臓器を採取した. Cynaropicrin による PenCDF 毒性の軽減: PenCDF 用量は, 5.0 (mg/kg/5 mL コーン油) に設定した. PenCDF 経口投与 1 時間前に, cynaropicrin (1, 5, 10 および 20 mg/kg/5 mL 9.6% デキストリン) を経口投与した. 対照群には, 水および cynaropicrin の溶媒であるデキストリン溶液を投与した. 翌日から, 1 日 1 回 6 日間, 同じ用量の cynaropicrin を投与した. 投与最終日, PenCDF 投与 7 日後は, 解剖直前に cynaropicrin を投与した.

### 3. 体重および臓器重量

PenCDF 投与前から, 投与後に解剖を行う日まで, 毎日の体重を測定した. 解剖日には, 肝臓, 脾臓および胸腺の湿重量を測定した.

### 4. Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) の測定

Ohkawa らの方法に従い<sup>17)</sup>, 肝臓のホモジネートを用い, 脂質過酸化により生じるマロンジアルデヒドをチオバルビツール酸と反応させ, 生成物の吸光度 (532 nm) を測定した.

### 5. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) 活性の測定

摘出した肝臓を 3 倍量の 1.15% KCl にてホモジナイズした. これを 9,000xg で 20 分間遠心分離した. 得られた上清 (S9) 分画を用い, Burke らの方法に従って<sup>18)</sup>, 7-ethoxyresorufin の O-脱アルキル化反応により生じる resorufin の蛍光を測定した (励起光, 544 nm; 測定光, 590 nm).

## 結 果

PenCDF による wasting syndrome に対する cynaropicrin の毒性軽減作用を調べるのに先立ち,

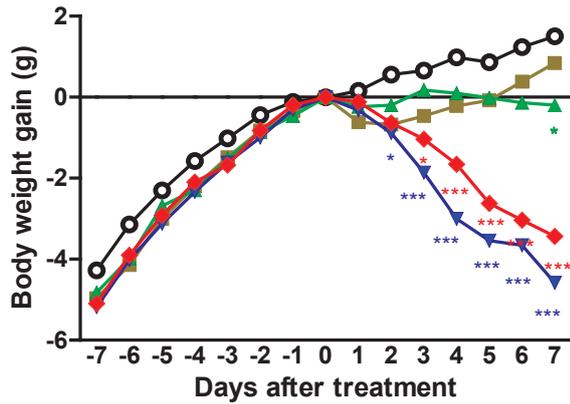
まず, C57BL/6J マウスにおいて wasting syndrome を惹起し得る PenCDF 曝露条件を調べた. 体重増加抑制, 肝肥大, 胸腺および脾臓の萎縮を wasting syndrome の指標として検討を行った. その結果, PenCDF の用量依存的に体重増加の抑制が観察された (Fig. 1). PenCDF 1 mg/kg 以上の用量では, 投与 7 日後において, 有意な体重増加抑制が認められた. 5 および 10 mg/kg では, 著しい体重減少が認められ, wasting syndrome が惹起されたことが明らかだった. 肝肥大は, 0.3 mg/kg より観察されたが, 今回調べた用量の範囲では, 用量依存性は認められなかった. 胸腺の萎縮は 0.3 mg/kg より PenCDF 用量依存的に観察された. また, 脾臓の萎縮は 5.0 mg/kg 以上で観察された (Table 1). 脂質過酸化の指標となる肝臓の TBARS 値も PenCDF 用量依存的に増加し, 5.0 mg/kg の用量で最大となった (Fig. 2). 一方, Cyp1a1 誘導の指標である EROD 活性は, 今回検討した最低用量の 0.3 mg/kg において最も強く誘導された (Fig. 3). これらの結果から, C57BL/6J マウスに wasting syndrome を惹起する用量として PenCDF 5 mg/kg を選択した.

PenCDF 5 mg/kg によって惹起される体重増加抑制作用に対して, cynaropicrin は改善作用を示さなかった (Fig. 4). また, 肝肥大, 脾臓および胸腺萎縮に対する抑制効果も見られなかった (Table 2). 一方, TBARS は, cynaropicrin 1~10 mg/kg の併用では, PenCDF 単独投与時よりも更に上昇する傾向があったが, 20 mg/kg の最大用量の cynaropicrin ではコントロール群と有意差がないレベルに回復した (Fig. 5). 一方, EROD 活性の誘導は cynaropicrin の 5 および 10

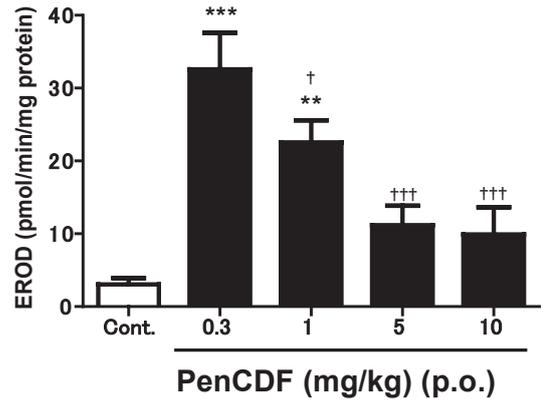
**Table 1** Effects of PenCDF on the organ weight of mice

Treatment of PenCDF	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.77 ± 0.07	0.29 ± 0.01	0.31 ± 0.01
PenCDF			
0.3 mg/kg	7.71 ± 0.09**	0.30 ± 0.01	0.22 ± 0.02***
1.0 mg/kg	7.96 ± 0.03***	0.28 ± 0.01	0.12 ± 0.01***
5.0 mg/kg	7.31 ± 0.10***	0.21 ± 0.01**	0.09 ± 0.00***
10 mg/kg	6.80 ± 0.32*	0.22 ± 0.01**	0.07 ± 0.01***

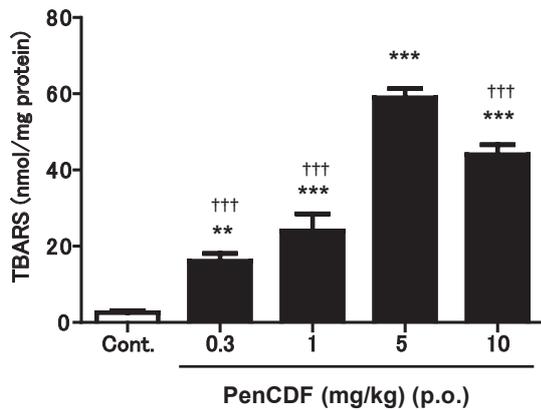
Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg) on day 0. Mice were sacrificed 7 days after PenCDF treatment. Each value represents the mean ± S.E. of 5 mice. Significantly different from the control (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).



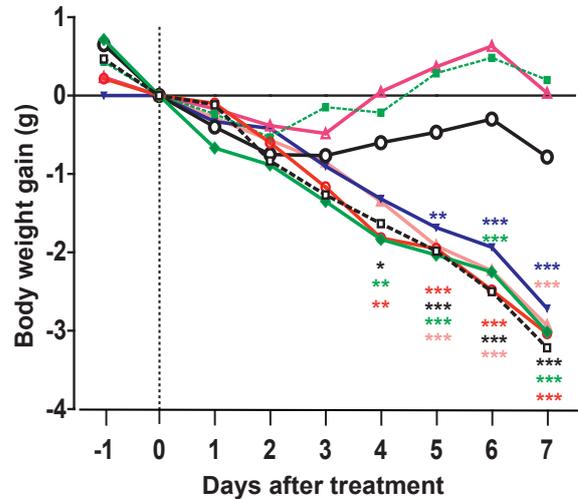
**Fig. 1** Effect of PenCDF on body weight gain in mice. Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg) on day 0. Each plot represents the mean of 5 mice. Mouse body weight was measured in every morning (9 a.m.) from the beginning at 7 days before treatment. Significantly different from control (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).  
 ○ : control (corn oil) ; ■ : 0.3 mg/kg PenCDF ; ▲ : 1.0 mg/kg PenCDF ; ▼ : 5.0 mg/kg PenCDF ; ◆ : 10 mg/kg PenCDF



**Fig. 3** Effect of PenCDF on hepatic EROD activity of C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg). Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice. EROD activity in the S9 is used as the index of the induction of Cyp1a1. Significantly different from control (\*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ). Significantly different from 0.3 mg/kg group (†,  $p < 0.05$ ; ††,  $p < 0.001$ ).



**Fig. 2** Effect of PenCDF on hepatic lipid peroxidation in C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of PenCDF (0.3, 1.0, 5.0 or 10 mg/kg). Each value represents the mean  $\pm$  S.E. of 5 mice. TBARS was used as the index of lipid peroxidation. Significantly different from control (\*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ). Significantly different from PenCDF 5.0 mg/kg group (†††,  $p < 0.001$ ).

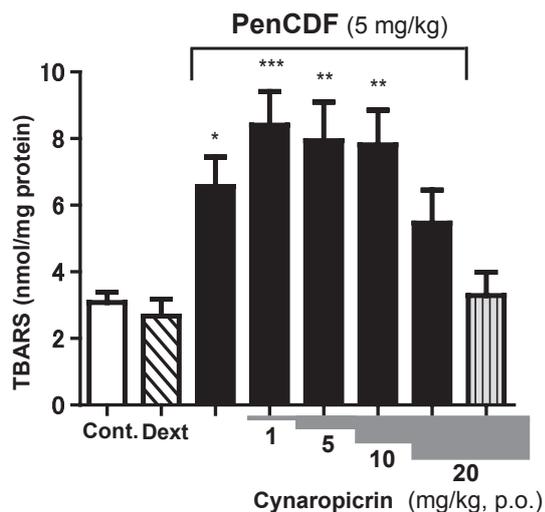


**Fig. 4** Effect of cynaropicrin on PenCDF-induced body weight loss in C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of cynaropicrin (1, 5, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 minutes prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On the 8th day, cynaropicrin was also administered 30 minutes before dissection. Significantly different from control (corn oil) (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.0001$ ).  
 ○, corn oil (control) + dextrin ; △, 20 mg/kg cynaropicrin ; ■, dextrin ; ▼, PenCDF 5 mg/kg + dextrin ; ◆, PenCDF + 1 mg/kg cynaropicrin ; ●, PenCDF + 5 mg/kg cynaropicrin ; □, PenCDF + 10 mg/kg cynaropicrin ; ▲, PenCDF + 20 mg/kg cynaropicrin

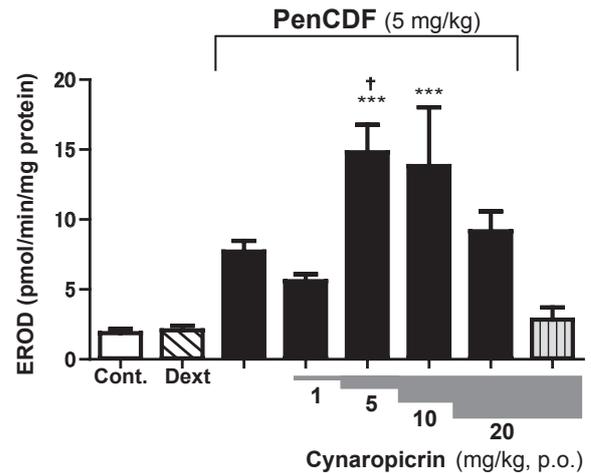
**Table 2** Effects of cynaropicrin on the organ weight in C57BL/6J mice

Treatment of Drug	Liver	Spleen	Thymus
	(% of body weight)		
Control	5.69 ± 0.09	0.26 ± 0.01	0.22 ± 0.01
Dextrin	5.62 ± 0.13	0.29 ± 0.02	0.22 ± 0.04
20 Cyna	5.79 ± 0.22	0.26 ± 0.01	0.22 ± 0.02
PenCDF (5 mg/kg)			
+ dextrin	8.04 ± 0.16 <sup>***</sup>	0.22 ± 0.01	0.05 ± 0.01 <sup>***</sup>
+ 1.0 Cyna	7.80 ± 0.24 <sup>***</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>*</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>***</sup>
+ 5.0 Cyna	8.04 ± 0.17 <sup>***</sup>	0.19 ± 0.00 <sup>***</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>***</sup>
+ 10 Cyna	7.53 ± 0.10 <sup>***</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>**</sup>	0.05 ± 0.01 <sup>***</sup>
+ 20 Cyna	7.97 ± 0.10 <sup>***</sup>	0.22 ± 0.01	0.05 ± 0.01 <sup>***</sup>

Mice were given an oral dose of either cynaropicrin (Cyna) (1.0, 5.0, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 min prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On 8th day, cynaropicrin was also administrated to mice before sacrifice. Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. Significantly different from control (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).



**Fig. 5** Effect of cynaropicrin on PenCDF-induced hepatic lipid peroxidation in C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of either cynaropicrin (1, 5, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 min prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On the 8th day, cynaropicrin was also administrated to mice before sacrifice. Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. TBARS was used as the index of lipid peroxidation. Significantly different from control (corn oil) (\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ).



**Fig. 6** Effect of cynaropicrin on the PenCDF-induced EROD activity in the liver of C57BL/6J mice. Mice were given an oral dose of cynaropicrin (1, 5, 10 or 20 mg/kg) or dextrin 60 min prior to PenCDF (5.0 mg/kg) treatment. The same dose of cynaropicrin was given orally once a day for subsequent 6 days. On the 8th day, cynaropicrin was also administrated to mice before sacrifice. Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. EROD (ethoxyresorufin-O-deethylase) activity is used as the index of the induction of CYP1A1. Significantly different from control (corn oil) (\*\*\*,  $p < 0.001$ ). Significantly different from treatment with PenCDF alone (5 mg/kg) (†,  $p < 0.05$ ).

mg/kg 投与により増強した。特に、5 mg/kg の cynaropicrin では PenCDF 単独投与群に対しても有意差が生じた (Fig. 6)。

## 考 察

PenCDF の効果発現における用量依存性を調べた結果、wasting syndrome が強く惹起される用量と Cypl1 の指標となる (EROD) 活性が最も強く誘導される用量は明らかに異なっており、前者は 5.0 mg/kg、後者は 0.3 mg/kg であった。TCDD での解析では、0.1 mg で処理した C57BL/6J マウスで、Cypl1 が強く誘導されるという当研究室での先行研究と<sup>8)</sup>、PenCDF の TEF = 0.3 から考えて<sup>19)</sup>、今回の最低用量は、0.3 mg とした。PenCDF 0.3 mg/kg において Cypl1 の誘導が顕著であったことは、TEF で規定される毒性強度と符合すると思われる。一方、wasting syndrome を惹起するには、TEF より高用量が必要であることが示唆された。EROD 活性は今回用いた PenCDF の用量では、0.3 mg/kg をピー

クに、用量依存的に弱くなった。一方、過酸化脂質の指標である肝 TBARS は、用量依存的に増加した。この違いの原因は現時点では明らかではない。今回は、wasting syndrome を指標にしたため、5 mg/kg の用量を選択し、この後の検討を行った。

今回検討した最高用量の 20 mg/kg の cynaropicrin は、体重、TBARS および EROD 活性に有意な変動を与えず、これらの指標で評価する限り、この用量では cynaropicrin 自体の毒性は現れないと考えられた。PenCDF 5 mg/kg によって惹起される体重増加抑制作用、肝肥大、脾臓および胸腺委縮に対して、cynaropicrin は改善作用が見られなかった (Fig. 4, Table 2)。従って、wasting syndrome に対する cynaropicrin の毒性軽減作用は極めて低い、もしくはないものと考えられる。一方、高用量の cynaropicrin には、PenCDF による脂質過酸化への抑制作用があることが示唆された (Fig. 5)。EROD 活性に対しては、5.0 および 10 mg/kg の用量で有意に促進したことから、PenCDF と cynaropicrin の用量に依存して、むしろ毒性を強める可能性もあると考えられた。一方、cynaropicrin は、Ah-アンタゴニスト作用も期待されている。PenCDF による用量依存性では、5.0 mg/kg よりも低用量の 0.3 mg/kg で著しい EROD 活性の誘導が認められていた (Fig. 2)。従って、cynaropicrin が Ah-レセプターを阻害したと仮定すれば、cynaropicrin 併用時には、むしろ PenCDF 低用量での作用に類似した結果が得られ、EROD 活性が高くなったと考えることもできる。

今回の検討では、wasting syndrome を指標にしたため、体重増加抑制作用が最も顕著だった 5 mg/kg PenCDF に対する cynaropicrin の影響を調べたが、EROD 活性が著しく誘導された、0.3 mg/kg など、より低用量の PenCDF に対する cynaropicrin の影響を再検討が必要と考えられた。

## 結 論

食用植物 artichoke の成分である cynaropicrin が油症原因物質 PenCDF 毒性に対する軽減作用を有するか否かをマウスを用いて検討した。

1. マウスにおける PenCDF 毒性の用量依存性を

調べた結果、5 mg/kg の PenCDF により酸化ストレスの指標である肝臓 TBARS が著しく上昇することが明らかになった。Wasting syndrome は 5 mg/kg が最も顕著であった。

2. PenCDF の投与量を 5 mg/kg として、cynaropicrin による PenCDF 毒性軽減作用を検討した。この用量では、cynaropicrin には PenCDF による wasting syndrome に対する毒性軽減作用は見られなかった。
3. PenCDF によって誘起される TBARS の上昇は、高用量の cynaropicrin の投与により、コントロール群と有意差がないレベルに回復した。

PenCDF により惹起される wasting syndrome に対する cynaropicrin の毒性軽減作用は極めて低い、もしくはないものと考えられる。しかし、高用量の cynaropicrin には、PenCDF による脂質過酸化への抑制作用があることが示唆された。今後、低用量の PenCDF に対する cynaropicrin の影響の再検討が望まれる。

## 謝 辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業) (課題番号: H24-食品-指定-014) によった。

## 参 考 文 献

- 1) Masuda Y: Behavior and toxic effects of PCBs and PCDFs in Yusho patients for 35 years. J. Dermatological Sci. 1: S11-S20, 2005.
- 2) Masuda Y, Schecter A, and Papke O: Concentrations of PCBs, PCDFs and PCDDs in the blood of Yusho patients and their toxic equivalent contribution. Chemosphere 37: 1773-1780, 1998.
- 3) Tanabe S, Kannan N, Wakimoto T, Tatsukawa R, Okamoto T, and Masuda Y: Isomer-specific determination and toxic evaluation of potentially hazardous coplanar PCBs, dibenzofurans and dioxins in the tissues of "Yusho" PCB poisoning victim and in the casual oil. Toxicol. Environ. Chem. 24: 215-231, 1989.
- 4) Poland A and Knutson JC: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity. Annu. Rev. Pharmacol.

- Toxicol. 22 : 517-554, 1982.
- 5) 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, 1995.
  - 6) Mimura J, Yamashita K, Nakamura K, Morita M, Takagi TN, Nakao K, Ema M, Sogawa K, Yasuda M, Katsuki M, and Fujii-Kuriyama Y : Loss of teratogenic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in mice lacking the Ah (dioxin) receptor. Genes Cells 2 : 645-654, 1997.
  - 7) Hankinson O : The aryl hydrocarbon receptor complex. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 35 : 307-340, 1995.
  - 8) Ishida T, Oshimo T, Nishimura A, Mutoh J, Ishii Y, Koga N, Yamada H, Hashiguchi I, Akamine A, and Oguri K : Reduction of the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice using an antiulcer drug, geranylgeranylacetone. Biol. Pharm. Bull. 27 : 1397-1402, 2004.
  - 9) Ishida T, Taketoh J, Nakatsune E, Kan-o S, Naito E, Takeda S, Mutoh J, Ishii Y, and Yamada H : Curcumin anticipates the suppressed body weight gain 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in mice. J. Health Sci. 50 : 474-482, 2004.
  - 10) Ishida T, Naito E, Mutoh J, Takeda S, Ishii Y, and Yamada H : The plant flavonoid, quercetin, reduces some forms of dioxin toxicity by mechanism distinct from aryl hydrocarbon receptor activation, heat-shock protein induction and quenching oxidative stress. J. Health Sci. 51 : 410-417, 2005.
  - 11) Ishida T, Ishizaki M, Tsutsumi S, Ishii Y, and Yamada H : Piperine, a pepper ingredient, improves the hepatic increase in free fatty acids caused by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. J. Health Sci. 54 : 551-558, 2008.
  - 12) Ishida T, Takeda T, Koga T, Yahata M, Ike A, Kuramoto C, Taketoh J, Hashiguchi I, Akamine A, Ishii Y, and Yamada H : Attenuation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin toxicity by resveratrol : a comparative study with different routes of administration. Biol. Pharm. Bull. 32 : 876-881, 2009.
  - 13) Sonnante G, D'Amore R, Blanco E, Pierri CL, Palma MD, Luo J, Tucci M, and Martin C : Novel hydroxycinnamoyl-Coenzyme A quinate transferase genes from artichoke are involved in the synthesis of chlorogenic acid. Plant Physiol. 153 : 1224-1238, 2010.
  - 14) Cho JY, Baik KU, Jung JH, and Park MH : In vitro anti-inflammatory effects of cynaropicrin, a sesquiterpene lactone, from *Saussurea lappa*. Eur. J. Pharmacol. 398 : 399-407, 2000.
  - 15) Takei K, Hashimoto-Hachiya A, Takahara M, Tsuji G, Nakahara T, and Furue M : Cynaropicrin attenuates UVB-induced oxidative stress via the AhR-Nrf2-Nqo1 pathway. Toxicol. Lett. 234 : 74-80, 2015.
  - 16) Kuroki H, Haraguchi K, and Masuda Y : Synthesis of polychlorinated dibenzofuran isomers and their gas chromatographic profiles. Chemosphere 13 : 561-573, 1984.
  - 17) Ohkawa H, Ohishi N, and Yagi K : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem. 95 : 351-358, 1979.
  - 18) Burke MD and Mayer RT : Inherent specificities of purified cytochromes P-450 and P-448 toward biphenyl hydroxylation and ethoxyresorufin deethylation. Drug Metab. Dispos. 3 : 245-253, 1975.
  - 19) Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, DeVito MJ, Farland W, Freely M, Fielder H, Hankinson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenck D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Waker N, and Peterson RE : The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian Toxic Equivalency Factors for dioxins and dioxin-Like compounds. Toxicol. Sci. 93 : 223-241, 2006.

(Received for publication March 13, 2015)

## 2,2',3,4,4',5,5'-七塩素化ビフェニル (CB180) の 動物肝ミクロゾームによる代謝

<sup>1)</sup>中村学園大学栄養科学部 食品衛生学研究室

<sup>2)</sup>第一薬科大学 分析化学教室

<sup>3)</sup>徳島文理大学香川薬学部 薬物動態学講座

<sup>4)</sup>北海道医療大学薬学部 衛生薬学講座

<sup>5)</sup>北海道医療大学薬学部 病院薬学講座

太田千穂<sup>1)</sup>, 原口浩一<sup>2)</sup>, 加藤善久<sup>3)</sup>, 遠藤哲也<sup>4)</sup>, 木村 治<sup>5)</sup>, 古賀信幸<sup>1)</sup>

## Metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl (CB180) by Animal Liver Microsomes

Chiho OHTA<sup>1)</sup>, Koichi HARAGUCHI<sup>2)</sup>, Yoshihisa KATO<sup>3)</sup>, Tetsuya ENDO<sup>4)</sup>,  
Osamu KIMURA<sup>5)</sup> and Nobuyuki KOGA<sup>1)</sup>

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

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

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

<sup>4)5)</sup>*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido,  
1757 Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293*

### Abstract

The *in vitro* metabolism of 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (CB180) was examined using liver microsomes of rats, guinea pigs and hamsters. Of liver microsomes from untreated animals, rats and guinea pigs produced one metabolite (M-1) with the activity of 1.2 and 18.1 pmol/hr/mg protein, respectively, but hamsters did not at all. Pretreatment of phenobarbital (PB) resulted in about 32-fold increase in rats, 4-fold increase in guinea pigs and an appearance of M-1 in hamsters (15 pmol/hr/mg protein). In addition, another metabolite (M-2) was formed only by liver microsomes of PB-treated guinea pigs. In contrast, pretreatment of 3-methylcholanthrene showed no metabolite in three animals. By comparison of the GC-MS data of the metabolites with synthesized authentic samples, M-1 and M-2 was determined to be 3'-hydroxy (OH)-CB180 and 4'-OH-2,2',3,4,5,5'-hexachlorobiphenyl (CB141), respectively. These results suggest that 3'-OH-CB180 is a major metabolite and is formed by PB-inducible cytochrome P450 (CYP2B enzymes) in animals and also guinea pigs possess much higher activity to metabolize CB180 than rats and hamsters.

**Key words** : Metabolism · PCB · Liver microsomes · Rat · Guinea pig

## はじめに

Polychlorinated biphenyls (PCBs)は、カネミ油症の原因物質であるが、世界的な環境汚染物質としても有名である。PCBsは脂溶性が極めて高く、ヒトをはじめ野生の哺乳動物の血液、脂肪組織および肝臓から高濃度で検出されることから、2001年のストックホルム条約では、残留性有機汚染物質(POPs)の1つに指定された。PCBsの中でも、塩素数が6個以上のもので、2,4,5-三塩素置換ベンゼンあるいは2,3,4,5-四塩素置換ベンゼンを有しているものは極めて残留性が高い<sup>1)</sup>。特に、2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (hexaCB) (CB153)、2,2',3,4,4',5'-hexaCB (CB138) および 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphenyl (heptaCB) (CB180)は、代表的な高残留性PCB異性体である<sup>2)-12)</sup>。また、Todakaらは、油症事件発生後37年を経過した油症患者の血液中PCB濃度を調べたところ、前述の3者に続き、2,2',3,4',5,5',6-heptaCB (CB187)、2,2',3,3',4,4',5-heptaCB (CB170)、2,2',3,4',5,5'-hexaCB (CB146)が多いこと、さらにCB180、CB170および2,3,3',4,4',5-hexaCB (CB156)が、健常者の2.2~3.9倍の高濃度であることを報告した<sup>13)</sup>。これらの結果は、油症患者がこれらのPCB異性体をより多く摂取し、さらにはこれらが長期間ほとんど代謝されずに体内に維持されていることを示唆している。

一方、血液中や肝臓中から、PCBsだけではなく、PCB代謝物の4-hydroxy (OH)-CB187、4-OH-CB146、4-OH-2,3,3',4',5-pentachlorobiphenyl (pentaCB) (CB107) および3-OH-CB153なども比較的高濃度で検出されている<sup>2)-11)</sup>。PCBsのうち、置換塩素数が5個以下のものやメタ-パラ位に水素が置換されたものは、肝小胞体に局在するチトクロムP450 (P450)により、比較的容易に水酸化され、主に胆汁を介して糞中へと排泄されるが<sup>1)14)15)</sup>、これらの代謝物の場合、依然として高い脂溶性を維持しているため長期にわたり残留しているものと思われる。

CB180の代謝は、1993年Kossらによって初めて報告された<sup>16)</sup>。彼らは、雌性ラットにCB180を経口投与し、糞尿中から投与量の約5%がOH体として排泄されることを報告した。ただし、代

謝物の正確な化学構造は不明のままであった。その後、CB180代謝物と思われる3'-OH-CB180が、北極クマ血液<sup>9)</sup>、スウェーデン在住のヒト血液<sup>1)7)8)</sup> および肝臓と脂肪組織<sup>6)</sup>、カナディアンイヌイットの血液<sup>3)</sup>、南スペイン在住のヒト脂肪組織<sup>11)</sup>から極微量検出されている。3'-OH-CB180は肝P450により、主にCB180から直接水酸化によって生成されると考えられるが、一方、2,2',3,3',4,5,5'-heptaCB (CB172)から3',4'-epoxide中間体を經由し、さらにNIH転位を経て生成される可能性も残されている。

そこで本研究では、3'-OH-CB180がCB180から生成されるか否かを明らかにするため、ラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム(Ms)を用いてCB180代謝を調べた。また、代謝に関与するP450分子種を明らかにするため、P450誘導剤のphenobarbital (PB)および3-methylcholanthrene (MC)で前処理した動物肝Msを用いて同様に検討した。

## 実験方法

### 1. 実験材料

#### (1) CB180の合成

CB180はCadoganの方法<sup>17)</sup>で合成した。すなわち、2,4,5-trichloroaniline 1.0 gおよび1,2,3,4-tetrachlorobenzene 3.0 gをtetrachloroethylene 10 mlで溶解し、さらにisopentyl nitrite 0.5 mlを加えて、110°Cで24時間反応させた。反応物はアルミナカラム(100 g, Merck)およびシリカゲルカラム(65 g, Merck)で部分精製した後、分取用HPLCにかけた。CB180は、保持時間17.53 minに溶出された。HPLC条件は次の通りである。カラム、ODSカラム(250 × 20 mm i.d., 5 μm, YMC製); プレカラム、ODSプレカラム(50 × 20 mm i.d., YMC製); 移動相, acetonitrile; 流速, 4 ml/min; 検出波長, 254 nm. なお、CB180の化学構造は<sup>1</sup>H-NMRおよびGC-MSにより決定した。得られたCB180の純度は、96.2%であった。

CB180: <sup>1</sup>H-NMR δ (ppm): 7.620 (1H, s, 3'-H), 7.313 (1H, d, s, 6-H), 7.341 (1H, s, 6'-H). MS (EI) *m/z* (relative intensity, %): 392 (100) [*M*<sup>+</sup>], 394 (188) [*M*<sup>+</sup>+2], 396 (153) [*M*<sup>+</sup>+4], 398 (66) [*M*<sup>+</sup>+6], 400 (21) [*M*<sup>+</sup>+8], 357 (24)

$[M^+ - Cl]$ , 322 (102)  $[M^+ - Cl_2]$ .

## (2) 代謝物の合成

3'-OH-CB180 および 4'-OH-CB172 は Hutzinger らの方法<sup>18)</sup> を若干改変して合成した。すなわち、2,3,4,5-tetrachloroaniline 1.0 g を濃塩酸で塩酸塩とした後、亜硝酸ナトリウム飽和水溶液を滴下し、これに acetonitrile で溶解した 2,3,5-trichlorophenol (東京化成) 3.0 g を加えて、110 °C, 2 時間反応させた。その後、chloroform にて抽出し、次に 2M 水酸化ナトリウムで逆抽出を行い、濃塩酸で弱酸性とした後、再び chloroform で抽出した。抽出物はアルミナカラム (100 g, Merck) で部分精製した後、上記と同様な条件で HPLC を行い、3'-OH-CB180 と 4'-OH-CB172 を分離精製した。最後に diazomethane でメチル化し、これを GC-MS に供した。

4'-Methoxy (MeO) -2,2',3,4,5,5'-hexaCB (CB141) は、Cadogan の方法<sup>17)</sup> で合成した。すなわち、2,3,5-trichloroaniline 1.0 g および 2,5-dichloroanisole 1.3 g を tetrachloroethylene 10 ml で溶解し、さらに isopentyl nitrite 0.5 ml を加えて、110°C で 24 時間反応させた。反応液は蒸発乾固後、シリカゲルカラム (65 g, Merck) で部分精製し、HPLC にて精製した。得られた予想化合物の分析は、GC-ECD および GC-MS にて行った。

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 フェーズドシリカキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i. d., 0.25 μm 膜厚, J&W Scientific 製)；オープン温度、230°C；注入口温度、250°C；検出器温度、250°C；キャリアーガス、N<sub>2</sub> (1 ml/min)。

3'-MeO-CB180 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 422 (100)  $[M^+]$ , 424 (188)  $[M^+ + 2]$ , 426 (149)  $[M^+ + 4]$ , 428 (62)  $[M^+ + 6]$ , 430 (16)  $[M^+ + 8]$ , 407 (7)  $[M^+ - CH_3]$ , 379 (39)  $[M^+ - COCH_3]$ , 372 (13)  $[M^+ - CH_3Cl]$ , 309 (55)  $[M^+ - COCH_3Cl_2]$ .

4'-MeO-CB172 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 422 (100)  $[M^+]$ , 424 (254)  $[M^+ + 2]$ , 426 (251)  $[M^+ + 4]$ , 428 (111)  $[M^+ + 6]$ , 430 (38)  $[M^+ + 8]$ , 407 (7)  $[M^+ - CH_3]$ , 379 (39)  $[M^+ - COCH_3]$ , 372 (13)  $[M^+ - CH_3Cl]$ , 309

(50)  $[M^+ - COCH_3Cl_2]$ .

4'-MeO-CB141 : MS (EI)  $m/z$  (relative intensity) 388 (100)  $[M^+]$ , 390 (195)  $[M^+ + 2]$ , 392 (159)  $[M^+ + 4]$ , 394 (66)  $[M^+ + 6]$ , 396 (16)  $[M^+ + 8]$ , 373 (12)  $[M^+ - CH_3]$ , 345 (37)  $[M^+ - COCH_3]$ , 275 (51)  $[M^+ - COCH_3Cl_2]$ .

## (3) 実験動物と薬物処理

雄性的 Wistar 系ラット (体重約 260 g), Hartley 系モルモット (体重約 280 g) および Golden Syrian 系ハムスター (体重約 90 g) を、それぞれ未処理群、PB 前処理群および MC 前処理群の 3 群に分け、1 群 4 匹とした。PB-Na 塩は生理食塩水に溶解し 80 mg/kg/day の用量で、一方、MC はコーン油に溶解し 20 mg/kg/day の用量で、いずれも 3 日間腹腔内に投与した。最終投与日の翌日に実験動物を屠殺して、肝を摘出し、常法により肝 Ms を調製した。なお、これらの動物実験は中村学園大学実験動物委員会による審査承認を得た上で、「中村学園大学 (含む短期大学部) 動物実験に関する規定」を遵守し実施した。

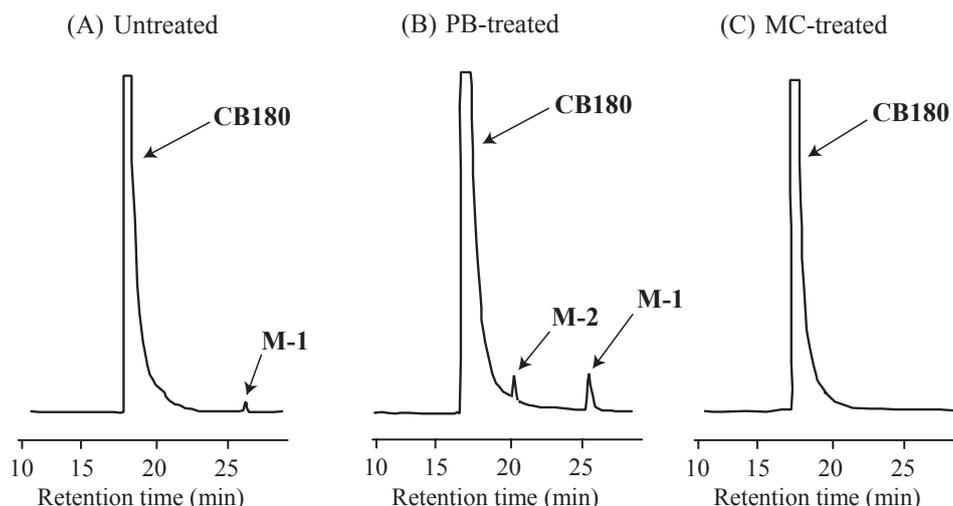
## 2. 肝 Ms による代謝

動物肝 Ms による CB180 の代謝は既報<sup>19)</sup> に準じて行った。すなわち、40 μM CB180 を NADPH 生成系 (0.33 mM NADP, 5 mM glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase 1.0 unit), 6 mM MgCl<sub>2</sub> および動物肝 Ms (1 mg protein) を 100 mM HEPES 緩衝液 (pH 7.4) とともに合計 1 ml として、37°C で 60 min インキュベート後、代謝物を chloroform-methanol (2:1) 1 ml と n-hexane 3 ml で 3 回ずつ抽出した。抽出液は diazomethane でメチル化後、GC-ECD または GC-MS に付した。代謝物の定量は、CB180 の検量線を用いて行った。

## 3. その他

肝 Ms のタンパク質の定量は、Lowry らの方法<sup>20)</sup> に従って行った。なお、標準タンパク質としてウシ血清アルブミンを用いた。

合成標品および代謝物の分子量は、GC-MS 2000 (島津製作所製) 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 フェーズドシリカキャピラリーカラム



**Fig. 1** GC-ECD chromatograms of the methylated derivatives of CB180 metabolites formed by liver microsomes of untreated, PB-treated and MC-treated guinea pigs

**Table 1** Mass spectral data and retention times of the methylated derivatives of two CB180 metabolites and its synthetic compounds

Compound	Molecular weight	Mass spectral data (Relative abundance, %)						Retention time (min) in GC-MS
		[M <sup>+</sup> ]	[M <sup>+</sup> -15]	[M <sup>+</sup> -35]	[M <sup>+</sup> -43]	[M <sup>+</sup> -50]	[M <sup>+</sup> -70]	
CB180	392	100	-	24	-	-	102	14.74
M-2	388	100	13	-	32	-	-	15.82
M-1	422	100	-	-	54	4	-	17.13
6'-MeO-CB141	388	100	-	32	-	121	-	13.42
3'-MeO-CB141	388	100	-	-	24	-	13	15.55
4'-MeO-CB141	388	100	12	-	37	-	-	15.82
3'-MeO-CB180	422	100	7	-	39	13	-	17.13
4'-MeO-CB172	422	100	38	-	35	-	-	17.20

-, not detected. CB141, 2,2',3,4,5,5'-hexaCB; CB172, 2,2',3,3',4,5,5'-heptaCB.

(30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm 膜厚, J&W Scientific 製); オープン温度, 70°C (1.5 min) - 20°C /min - 230°C (0.5 min) - 4°C /min - 280°C (5 min); 注入口温度, 250°C; キャリアーガス, He (1 ml/min).

<sup>1</sup>H-NMR スペクトルの測定は日本電子製の JEOL GSX-500 (500 MHz) を用いて行った. 試料は, chloroform-*d* に溶解し, tetramethylsilane を内部標準物質として用いた.

## 実験結果

### 1. 実験動物肝 Ms による代謝

ラット, モルモットおよびハムスターによる CB180 代謝を調べた. Fig. 1 には, モルモット肝 Ms により生成された CB180 代謝物(メチル化

体)のガスクロマトグラムを示す. 未処理 Ms の場合, ラットおよびモルモットで 1 種類の代謝物 (M-1) が保持時間 26.75 min に検出された. なお, ハムスターでは代謝物ピークは検出されなかった.

次に, 各種動物肝 Ms による CB180 代謝物を定量した (Table 2). 代謝物の定量は CB180 の検量線を用いて行った. その結果, 未処理肝 Ms による M-1 の生成はラットとモルモットで見られ, 生成活性はそれぞれ 1.2 pmol/hr/mg protein と 18.1 pmol/hr/mg protein であった. 次に, PB 前処理肝 Ms では, ラットの場合, M-1 は未処理の 31.6 倍に著しく増加した. 一方, モルモットの場合, M-1 は未処理の 4.1 倍に増加し, さらに, M-2 が新たに生成された. その生成活性は 5.3

**Table 2** *In vitro* metabolism of CB180 by liver microsomes of rats, guinea pigs and hamsters and the effects of P450 inducers on CB180 metabolism

Treatment	n	Metabolite formed (pmol/hr/mg protein)	
		M-1	M-2
<b>Rat</b>			
Untreated	4	1.2 ± 2.4 (1.0)	N.D.
PB-treated	4	38.3 ± 9.3* (31.6)	N.D.
MC-treated	4	N.D.	N.D.
<b>Guinea pig</b>			
Untreated	4	18.1 ± 2.5 (1.0)	N.D.
PB-treated	4	73.4 ± 18.7* (4.1)	5.3 ± 10.7*
MC-treated	4	N.D.	N.D.
<b>Hamster</b>			
Untreated	4	N.D.	N.D.
PB-treated	4	15.4 ± 1.6*	N.D.
MC-treated	4	N.D.	N.D.

N.D., not detected.

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

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

pmol/hr/mg protein であった。さらに、ハムスターの場合、PB 前処理肝 Ms でのみ M-1 が検出され、その生成活性は 15.4 pmol/hr/mg protein であった。なお、MC 前処理肝 Ms では、全ての動物で代謝物は全く検出されなかった。

## 2. 代謝物の化学構造

CB180 代謝物の化学構造を決定するため、PB 前処理モルモット肝 Ms を用いて 100 倍量のスケール (100 ml) で代謝反応を行い、代謝物を抽出後メチル化し、これを GC-MS に供した。その結果、M-1 および M-2 のメチル誘導体は、それぞれ分子量 422 および 388 を有することから、M-1 は OH 体であること、また、M-2 は塩素が 1 個脱離した OH 体であることが明らかとなった (Table 1)。さらに、M-1 (メチル化体) では、フラグメントイオン  $[M^+ - 43]$  ( $m/z$  379) が比較的多く検出されたのに対し、M-2 (メチル化体) ではフラグメントイオン  $[M^+ - 15]$  ( $m/z$  373) が多く検出された。これらの結果を既報のデータ<sup>21)22)</sup> と考え合わせると、M-1 はメタ位すなわち 3 (3') 位あるいは 5 (5') 位に、一方、M-2 はパラ位すなわち 4 位あるいは 4' 位に OH 基を有することが推察された。次に、M-1 および M-2 の各メチル化体の GC における保持時間とマススペクトルを、合成標品と比較したところ、それぞ

れ 3'-MeO-CB180 および 4'-MeO-CB141 とほぼ一致した。以上の結果から、M-1 と M-2 は、それぞれ 3'-OH-CB180 と 4'-OH-CB141 であることが示唆された。

## 考 察

本研究では、高残留性 PCB 異性体の CB180 が代謝されるか否かを明らかにするため、また、代謝酵素についての情報を得るため、P450 誘導剤を前処理したラット、モルモットおよびハムスターの肝 Ms による *in vitro* 代謝を試みた。その結果、いずれの動物でも、CB180 の主代謝物として 3'-OH 体が生成されることが明らかになった。また、その生成量はモルモット > ラット > ハムスターの順であること、さらに、その生成はいずれの動物でも PB 前処理により、顕著に増加することも明らかになった。これまでに、われわれはモルモットが、CB153、CB138 および CB187 のような 2,4,5-三塩素置換ベンゼンを有する高残留性 PCB 異性体に対し、高い代謝能を有することを報告している<sup>19)22)23)</sup>。今回、CB180 代謝においても同様に、モルモットの特異的な代謝活性が観察された。代謝酵素については、CB180 代謝が PB 誘導性であることから、モルモット CYP2B18<sup>24)25)</sup>、ラット CYP2B1<sup>24)</sup> およびハムスター CYP2B 酵素<sup>26)</sup> が主として関与していることが示

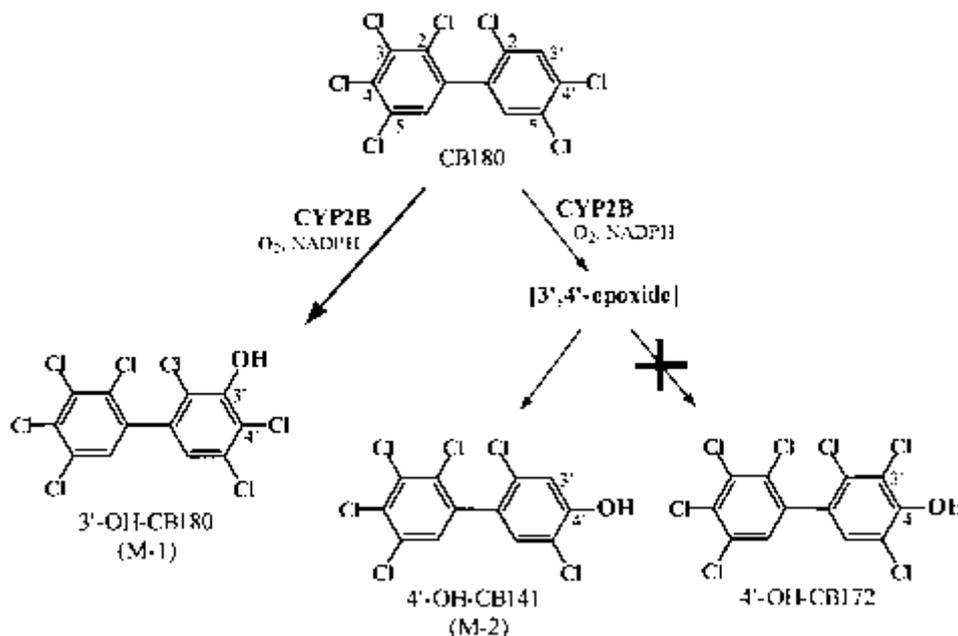


Fig. 2 Postulated metabolic pathways of CB180 in animal

唆された。Fig. 2 に動物肝における CB180 の推定代謝経路を示す。

PB 前処理モルモットの肝 Ms では、3'-OH-CB180 以外に、一脱塩素化 OH 体の 4'-OH-CB141 (M-2) が生成された。一般に、PCB 水酸化の反応機構としては、直接水酸化で進行する場合と epoxide 中間体を経由して進行する場合の 2 つが考えられている。当研究室では、これまでにモルモットおよびイヌ肝 Ms による CB153 および 2,3,4,4',5-pentaCB (CB118) の代謝を調べたところ、2,3-epoxide 中間体を介したと思われる代謝物、すなわち、2-OH 体の生成を報告している<sup>23)27)28)</sup>。そのため、当初 M-2 は 2',3'-epoxide 中間体の生成後、2' 位の塩素が 1 個脱離した 2'-OH 体と考えられたが、マスフラグメントイオン  $[M^+-50]$  が全く見られず、代わりにフラグメントイオン  $[M^+-15]$  が検出されたことから、4'-OH-CB141 と推定された。今回のモルモット肝 Ms の結果から、M-2 は 2',3'-epoxide 中間体を経由していないと思われるが、その理由は現在不明である。

Hovander らは、スウェーデン人血液中から、3'-OH-CB180 とともに、4'-OH-CB172 も検出している<sup>7)</sup>。この代謝物は CB172 から 4' 位への直接水酸化で生成されるが、一方、CB180 から 3',4'-epoxide 中間体を経由し、さらに 4' 位の塩素

が 3' 位に NIH 転位すると生成される可能性がある。今回、動物肝 Ms を用いた本研究では、4'-OH-CB172 の生成は見られなかった。実際のところ、4'-OH-CB172 が CB180 の代謝物であるか、また、そうであれば、モルモットとヒトで見られた 4' 位塩素の NIH 転位の際の挙動における違いは何によるのかという点は不明のままである。

最近、当研究室では、CB187 のラットおよびモルモットにおける *in vivo* 代謝を調べ、その結果、主代謝物の 4'-OH-2,2',3,3',5,5',6-heptaCB (CB178) は容易に糞中に排出されるが、もう 1 つの微量代謝物 4'-OH-CB187 は糞中に全く検出されないことを報告した<sup>29)</sup>。3'-OH-CB180 の場合、果たして糞中へと排出されるか興味を持たれる。

## 総 括

1. CB180 はモルモット、ラットおよびハムスター肝 Ms によって、主に 3'-OH-CB180 へと代謝された。その生成活性の強さは、モルモット > ラット > ハムスターの順であった。
2. PB 前処理モルモットでのみ、3'-OH-CB180 以外に、微量代謝物として 4'-OH-CB141 も生成された。
3. 主代謝物 3'-OH-CB180 の生成は、いずれの動物においても PB 前処理により、著しく促進された。この結果から、CB180 の代謝は、PB

誘導性 P450, すなわちモルモット CYP2B18, ラット CYP2B1 およびハムスター CYP2B 酵素によって触媒されることが示唆された。

## 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, H24-食品-指定-014 古賀信幸）および日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究(B), No. 24310049 原口浩一；基盤研究(C), No. 25350115 太田千穂；基盤研究(C), No. 26340043 加藤善久；基盤研究(C), No. 24614012 木村 治）の助成を受けたものである。ここに記して謝意を表します。

## 文 献

- 古賀信幸, 太田千穂：高残留性 PCB の代謝と代謝物の毒性. 古江増隆, 赤峰昭文, 山田英之, 吉村健清編：油症研究Ⅱ—治療と研究の最新線一, pp. 200-218, 九州大学出版会, 2010.
- Bergman Å, Klasson-Wehler E and Kuroki H : Selective retention of hydroxylated PCB metabolites in blood. *Environ. Health Perspect.* 102 : 464-469, 1994.
- Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J and Norstrom RJ : Analysis of hydroxylated metabolites of PCBs (OH-PCBs) and other chlorinated phenolic compounds in whole blood from Canadian Inuit. *Environ. Health Perspect.* 108 : 611-616, 2000.
- Sjödin A, Hagmar L, Klasson-Wehler E, Björk J and Bergman Å : Influence of the consumption of fatty Baltic Sea fish on plasma levels of halogenated environmental contaminants in Latvian and Swedish men. *Environ. Health Perspect.* 108 : 1035-1041, 2000.
- Fängström B, Athanasiadou M, Grandjean P, Weihe P and Bergman Å : Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ. Health Perspect.* 110 : 895-899, 2002.
- Guvenius DM, Hassanzadeh P, Bergman Å and Norén K : Metabolites of polychlorinated biphenyls in human liver and adipose tissue. *Environ. Toxicol. Chem.* 21 : 2264-2269, 2002.
- Hovander L, Malmberg T, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Rahm S, Bergman Å and Klasson-Wehler E : Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42 : 105-117, 2002.
- Guvenius DM, Aronsson A, Ekman-Ordeberg G, Bergman Å and Norén K : Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated biphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorobiphenyls, and pentachlorophenol. *Environ. Health Perspect.* 111 : 1235-1241, 2003.
- Letcher RJ, Li HX and Chu SG : Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (HO-PCBs) in blood plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem quadrupole mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* 29 : 209-216, 2005.
- Park JS, Linderholm L, Charles MJ, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobná B, Trnovec T, Bergman Å and Hertz-Picciotto I : Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBs) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ. Health Perspect.* 115 : 20-27, 2007.
- Fernandez MF, Kiviranta H, Molina-Molina JM, Laine O, Lopez-Espinosa MJ, Vartiainen T and Olea N : Polychlorinated biphenyls (PCBs) and hydroxy-PCBs in adipose tissue of women in Southeast Spain. *Chemosphere* 71 : 1196-1205, 2008.
- Carballo M, Arbelo M, Esperón F, Mendez M, de la Torre A and Muñoz MJ : Organochlorine residues in the blubber and liver of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranded in the Canary Islands, North Atlantic Ocean. *Environ. Toxicol.* 23 : 200-210, 2008.
- Todaka T, Hori T, Yasutake D, Yoshitomi H, Hirakawa H, Onozuka D, Kajiwara J, Iida T, Yoshimura T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood collected from Yusho patients during medical check-ups performed from 2004 to 2007. *Fukuoka Igaku Zasshi* 100 : 156-165, 2009.
- Norback DH, Mack E, Reddy G, Britt J and Hsia MT : Metabolism and biliary excretion of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 32 : 71-85, 1981.
- 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—, pp. 93-110, 九州大学出版会, 2000.
- Koss G, Meyer-Rogge D, Seubert S, Seubert A and Losekam M : 2,2',3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl (PCB180)- on its toxicokinetics, biotransformation and porphyrinogenic action in

- female rats. Arch. Toxicol. 67 : 651-654, 1993.
- 17) Cadogan JIG : A convenient new method of aromatic arylation. J. Chem. Soc. : 4257-4258, 1962.
- 18) Hutzinger O, Safe S and Zitko V : Polychlorinated biphenyls : Synthesis of some individual chlorobiphenyls. Bull. Environ. Contamin. Toxicol. 6 : 209-219, 1971.
- 19) Ohta C, Haraguchi K, Kato Y and Koga N : In vitro metabolism of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) by liver microsomes from rats, hamsters and guinea pigs. Xenobiotica 35 : 319-330, 2005.
- 20) Lowry OH, Rosebrough AL, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265-275, 1951.
- 21) Tulp MTM, Olie K and Hutzinger O : Identification of hydroxyhalobiphenyls as their methyl ethers by gas chromatography mass spectrometry. Biomed. Mass Spectrom. 4 : 310-316, 1977.
- 22) 古賀信幸, 金丸知代, 大石奈穂子, 加藤善久, 木村良平, 原口浩一, 増田義人 : 2,4,5,2',3',4'-六塩素化ビフェニルの *in vitro* 代謝における動物種差. 福岡医誌 92 : 167-176, 2001.
- 23) Ariyoshi N, Koga N, Yoshimura H and Oguri K : Metabolism of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB153) in guinea pig. Xenobiotica 27 : 973-983, 1997.
- 24) Koga N, Kikuichi N, Kanamaru T, Kuroki H, Matsusue K, Ishida C, Ariyoshi N, Oguri K and Yoshimura H : Metabolism of 2,3',4',5-tetrachlorobiphenyl by cytochrome P450 from rats, guinea pigs and hamsters. Chemosphere 37 : 1985-1904, 1998.
- 25) Koga N, Kanamaru T, Kikuichi N, Oishi N, Kato S and Yoshimura H : Guinea pig liver cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 60 : 898-903, 1998.
- 26) Koga N, Kikuichi-Nishimura N, Hara T, Harada N, Ishii Y, Yamada H, Oguri K and Yoshimura H : Purification and characterization of a newly identified isoform of cytochrome P450 responsible for 3-hydroxylation of 2,5,2',5'-tetrachlorobiphenyl in hamster liver. Arch. Biochem. Biophys. 317 : 464-470, 1995.
- 27) Ariyoshi N, Koga N, Oguri K and Yoshimura H : Metabolism of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl with liver microsomes of phenobarbital-treated dog ; the possible formation of PCB 2,3-arene oxide intermediate. Xenobiotica 22 : 1275-1290, 1992.
- 28) 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 古賀信幸 : 2,3',4,4',5-五塩素化ビフェニル (CB118) のモルモット肝ミクロゾームによる代謝. 福岡医誌 96 : 232-240, 2005.
- 29) Ohta C, Haraguchi K, Kato Y, Endo T, Kimura O and Koga N : Distribution and excretion of 2,2',3,4',5,5',6-heptachlorobiphenyl (CB187) and its metabolites in rats and guinea pigs. Chemosphere 118 : 5-11, 2015.

(Received for publication March 12, 2015)

## 油症の最新の知見と治療開発に向けて

<sup>1)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

<sup>2)</sup>九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

<sup>3)</sup>九州大学大学院医学研究院 附属総合コホートセンター

三 苦 千 景<sup>1)</sup>, 内 博 史<sup>2)</sup>, 辻 学<sup>1)</sup>, 古賀沙緒里<sup>3)</sup>, 古江 増 隆<sup>1)2)</sup>

## Latest Findings of Yusho and Its Therapeutic Development

Chikage MITOMA<sup>1)</sup>, Hiroshi UCHI<sup>2)</sup>, Gaku TSUJI<sup>1)</sup>, Saori KOGA<sup>3)</sup> and Masutaka FURUE<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582, Japan*

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

<sup>3)</sup>*Center for Cohort Studies, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan*

### Abstract

Yusho incident is an unprecedented mass food poisoning that occurred in the western area of Japan in 1968. It was caused by the ingestion of rice bran oil contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs) and various dioxins and dioxin-like compounds, such as polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs). The victims of Yusho have suffered from characteristic skin manifestations in company with systemic, ophthalmological, and mucosal symptoms for a long period. Since the outbreak of Yusho, the Study Group of Yusho has been conducting annual medical check-ups on Yusho victims. We describe here the latest research findings of chronic dioxin-induced toxicity to Yusho patients and the mechanisms of toxicities of dioxins through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) pathway. High amounts of PCBs and PCDFs are still present in a number of patients with Yusho. The patients have persistent various symptoms, some of which were significantly associated with blood levels of PCBs, dioxins, or dioxin-like compounds. The adverse effects on the next generation are also found. According to the findings of recent basic studies, the biological and toxicological effects mediated by the AhR system have been becoming clear; therefore, the therapeutic interventions may be found in the near future.

**Key words** : Yusho · Aryl hydrocarbon receptor (AhR) · 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran · PCBs

### はじめに

1968年に福岡県、長崎県を中心とした西日本で、高温で熱抽出する過程で熱媒体として使用されていたカネクロール (KC-400) が混入したカネミ米ぬか油 (カネミ油) による食中毒事件 (以下、油症) が発生した<sup>1)</sup>。KC-400は polychlorinated

biphenyls (PCBs) の製剤で、後に油症治療研究班 (以下、油症班) によって、汚染したカネミ油には PCBs だけでなく、PCBs が高熱化学反応によって変化して新生した polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) などのダイオキシンおよびダイオキシン類化合物 (以下、ダイオキシン類) も含まれて

Correspondence author : Chikage MITOMA  
Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital, Fukuoka 812-8582, Japan  
Tel : + 81-92-642-5211 Fax : + 81-92-642-5201

いることが明らかになった<sup>2)</sup>。こうして、油症は人類未曾有の複数の有機塩素化合物による中毒として認識されるようになった。油症発生後、1976年にイタリアのSevesoで化学工場爆発による2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD)による汚染(以下、Seveso)<sup>3)</sup>、1979年に台湾でPCBsとダイオキシン類で汚染された食用油摂取による被害(以下、Yucheng)<sup>4)</sup>が発生した。

ダイオキシン類は脂質に親和性が高く代謝されにくいいため、生体内に長期間残存する<sup>5)</sup>。毒性が最も高い2,3,7,8-TCDDの毒性に対する、個々の有機塩素化合物の毒性相対比、毒性等価係数(toxic equivalency factor (TEF)<sup>6)</sup>)に個々の異性体の濃度を乗じて算出されるtoxic equivalents (TEQs)<sup>7)</sup>は、油症患者の体内に残存した複数のダイオキシン類異性体の毒性を把握する上で重要である。油症患者が摂取した有機塩素化合物の中でも、PCDFs、とくに2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF)の毒性は高く、油症の病態を考える上で重要な化合物である<sup>8)9)</sup>。PCDFsの毒性は、汚染したカネミ油の総TEQに対する77%、2,3,4,7,8-PeCDFはその58%を占め<sup>10)</sup>、さらにPCDFsは、患者血液でもその総TEQに対して65%もの毒性を占めていた<sup>11)</sup>。最新のWorld Health Organization 2005の国際基準<sup>7)</sup>によると、2,3,4,7,8-PeCDFのTEFは0.3であった。2003年、少量の血液量でダイオキシン類濃度を測定する技術が改良されたのをうけ<sup>12)</sup>、2004年、油症診断基準に血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が追加された。それ以降、患者に残存する症状、所見、検査値の経時的変化、次世代への影響、生体内でのダイオキシン類の代謝、推定半減期、患者に残存する症状とPCBsやダイオキシン類の血液濃度との関連についての解析が次々に行われ、ダイオキシン類の人体に及ぼす慢性毒性が明らかになりつつある。

さらに、基礎研究による新しい知見も蓄積している。1990年代に、2,3,7,8-TCDDの毒性がaryl hydrocarbon receptor (AhR)ノックアウトマウスで消失すること<sup>13)</sup>が明らかになって以来、AhRはいわゆるダイオキシン受容体として広く知られるようになった。近年、AhRの活性化はダイオキシン類や環境化学物質による酸化ストレスや毒性作用だけでなく、免疫反応の調節、細胞

の分化など多彩な反応を惹起すること<sup>14)</sup>、さらに、AhRのリガンドによっては、抗酸化ストレスのように生体にとって有益な反応も起こしうることが分かってきた。このように、AhRの基礎研究は、ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性毒性機構を解明するのみならず、油症患者の症状を緩和する治療薬の開発への糸口にもなりうる。本稿では油症班の研究により得られた最新の知見、および油症患者の治療方法開発に向けての展望について概説する。

## 1. 最新の知見

### 1.1. 油症患者の現在の状況<sup>15)</sup>

油症の患者の現在の状況を把握するために、2008年に厚生労働省によって実施された油症患者実態調査(生存している油症患者1,420名のうち1,131名が参加したアンケート調査)と、一般成人対照群1,212名(性別・年齢補正)におけるアンケート調査結果を比較検討した。その結果、診断基準に含まれる症状以外にも、これまでの油症研究によって血液中ダイオキシン類濃度との関連が示唆されていた症状のなかで、神経痛、頭痛、認知症、多汗症、不眠、鼻血が止まりにくい、心肥大、動悸、動脈硬化、糖尿病、十二指腸潰瘍、高脂血症、骨粗鬆症、紫斑、手足のしびれなどが、一般対照群よりも1.5あるいは3倍以上の頻度で油症患者にみられた。アンケート調査に基づく調査の限界や、一般的な非特異的症状であることに留意は必要だが、今後の油症患者の健康管理や研究に活用できる可能性があると考えている。

### 1.2. 油症患者の血液中ダイオキシン類濃度の変遷

全国の各自治体では毎年油症患者の一斉検診(油症検診)を行い、患者の自覚症状、内科、皮膚科、眼科、歯科の所見、血液尿検査、および血液中PCBsおよびダイオキシン類濃度を測定してその経過の観察を行っている。体内に取り込まれたダイオキシン類は徐々に排泄され、現在の油症患者の血液中ダイオキシン類濃度は油症発生当時と比べると低い。しかし、油症が発生して45年以上経過した現在でも、多くの患者の血液中PCBsやダイオキシン類の濃度は一般対照群と比べると高値である。2002年の279名の油症患者を対象

にした研究では<sup>11)</sup>、油症患者血液中の PCDDs, PCDFs, non-ortho PCBs や mono-ortho PCBs の総 TEQ は、平均 161.4 pg/g lipid で対照群と比べて 3.5 倍ほど高く、PCDFs の濃度は対照群と比べて約 10.3 倍、2,3,4,7,8-PeCDF は 11 倍も高値を示した。一方、PCBs も、2004 年に 242 名の油症患者を対象にした研究<sup>16)</sup>で、hexaCB-156, hexaCB-157, heptaCB-181 や heptaCB-189 などの化合物の血液中濃度が対照群と比べ 3.4-3.9 倍の高値を示した。また、男性と女性の患者では、2001-2009 年に採取された血液で、2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2, 3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF や 3,3', 4,4',5, 5'-HxCB (#169) の濃度が男性より女性でそれぞれ 2.9, 3.7, 2.4, および 1.3 倍高かった<sup>17)</sup>。

### 1.3. 油症患者のダイオキシン類の半減期

ダイオキシン類は脂溶性で皮下脂肪組織の中で安定した形で残存し、その半減期は動物種、性別、年齢、体内の濃度により異なる<sup>18)19)</sup>。2001 から 2006 年の 326 人の油症患者の血液検体をもとに血液中 2,3,4,7,8-PeCDF の半減期を推定したところ、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 50 pg/g lipid 以上の高濃度を示す患者群では、今までの報告<sup>20)</sup>とほぼ同様に半減期が 7 年ほどの患者群と、半減期がかなり長いため血液中濃度がほとんど変わらない患者群に分かれることが明らかになった<sup>21)</sup>。また、2004 年と 2010 年の血液中 PCDDs, PCDFs, PCBs の濃度をそれぞれ比較したところ、顕著な低下は見られなかった<sup>22)</sup>。油症患者の中には、生体内に発生当初の予測より高濃度のダイオキシン類が残存し、長期間にわたってその毒性の影響を受けている集団が存在することが明らかになった。

### 1.4. 血液中ダイオキシン類濃度と症状、検査所見との相関

2001 年、低容量の血液で血液中 2,3,4,7,8-PeCDF を高精度で測定できるようになって以来、油症班はダイオキシン類が生態に及ぼす慢性影響を解明すべく、油症検診で得られた血液中 PCBs やダイオキシン類濃度と、症状、所見、各種検査結果との間との相関について調べている。2001-2003 年に行われた解析<sup>23)</sup>では、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度はざ瘡様皮疹、面皰、口腔粘膜、色

素沈着、手足のしびれなどの有症率、および尿糖、血沈値、血液中総 PCB 濃度と相関を認めた。さらに、2001-2004 年の解析<sup>24)</sup>では、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF は関節痛の有症率、PCB 濃度は眼科所見の有症率、PCQ 濃度は総コレステロール値の上昇と特に相関を認めた。いずれも油症発生当初から認められる油症に特徴的な症状で、診断基準に含まれている。また、2,3,4,7,8-PeCDF の濃度測定が始まった 2001 年以前の患者の症状を検証すべく行われたデータマイニング法による解析<sup>25)</sup>によると、最近 (2001-2004 年) の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は、最近の症状よりも過去の (1969-1989 年) 症状とより強い相関を認めた。また、末梢血液中赤血球数の増加、マイボーム腺分泌過多、黒色面皰や重度のスギ花粉アレルギーの存在など、ダイオキシン類の体外排泄を促すような症状や所見と、2,3,4,7,8-PeCDF の半減期の短縮との間に相関がみられた<sup>26)</sup>。

### 1.5. 相対生存率、発がん性、死亡率への影響

これまでの報告によると、ダイオキシン類曝露による発がんには、種差、性差、臓器差があるようである。Seveso の研究<sup>27)~29)</sup>では、悪性新生物 (全がん) の発生が高率<sup>28)</sup>で、血液系の悪性腫瘍<sup>27)29)</sup>、とくに男性の直腸がんや肺がん、女性の胆管がんの増加<sup>27)</sup>を認めた。Yucheng の研究<sup>30)</sup>では、悪性新生物 (全がん) の発生、男性の胃がんおよび血液系の悪性腫瘍による死亡率の増加が報告されている。油症患者の 86.8%、1,664 人を対象にして算出した推定相対生存率は、年齢、性別を合わせた一般対照群と比較して差がなかった<sup>31)</sup>。1968 年から 2007 年の 1,596 人を対象にした油症追跡調査によると<sup>32)</sup>、男性患者では悪性新生物 (全がん) および肺がんの標準化死亡率 (SMR) が有意に高い値だった (全がん: 1.26 (95% Confidence intervals (CI): 1.03, 1.53), 肺がん: 1.56 (95% CI: 1.03, 2.27))。また、肝がんの SMR は男女とも高い傾向を示した (男: 1.67 (95% CI: 0.99, 2.36), 女: 1.87 (95% CI: 0.81, 3.69))。悪性新生物以外の死因については、一般対照群と差はみられなかった。なお、油症患者の死亡リスクは、油症発生から年数を経るにつれて減少傾向がみられ、近年は一般集団のそれに近づいている可能性が示唆されている。

### 1.6. 性腺機能・胎児・次世代への影響

ダイオキシン曝露は、直接摂取した患者のみならず、次世代、さらにそれ以降の世代への影響も懸念される。油症班では、ダイオキシン類曝露が妊娠、胎児の成長、発達、胎児の性比に及ぼす影響について研究を行っている。動物実験では、ダイオキシン投与によって性腺機能異常、成長ホルモン減少に伴う胎児の発育異常<sup>33)</sup>、体表奇形、継代的にオスが少なくなるという報告がある<sup>34)35)</sup>。Sevesoの研究では、被害女性の卵巣機能（血清中プロゲステロン値やエストロゲン値）に異常を認めなかったが<sup>36)</sup>、乳児期から思春期に曝露した男性、もしくは曝露した女性から出生した男児で、精子の数の減少や精子移動能の低下を認めた<sup>37)</sup>。Yuchengの研究では、曝露女性の月経周期の短縮<sup>38)</sup>や不妊傾向<sup>39)</sup>があることが指摘されている。

油症発生後の10年間をみると、発生前の10年間と比べ、人工流産、早産が増加し、自然流産、胎児死亡が多い傾向にあった<sup>40)</sup>。また、母親の血液中 non-ortho PCBs, PCDDs および, PCDFs それぞれの総 TEQ は男児の出生体重と負に相関していた<sup>41)</sup>。母親の血液中4種の coplanar PCBs, 7種の PCDDs および 10種の PCDFs 濃度と胎児油症（いわゆる black baby）の発症リスクの関連を検討したところ、これらの化合物の濃度は胎児油症発生のリスクと正に相関し、中でも、血液中 1,2,3,6,7,8-hexaCDD 濃度は胎児油症の発生を10倍高くしていた<sup>42)</sup>。また、これらの化合物の母親と児の血液中濃度を比較したところ、母児間で最も濃度差が大きかったのは2,3,4,7,8-PeCDF で、母親は一般対照群と比べ17-30倍高濃度を示したのに対して、人工乳で育った児は一般対照群とほぼ変わらず、母乳で育った児は対照群の約1.5倍の高濃度を示すにとどまった<sup>43)</sup>。一方、1,2,3,4,6,7,8-hepta CDD 濃度は母児間で最も濃度差が小さかった<sup>43)</sup>。正常妊娠でダイオキシン類の経胎盤移行の違いを調べた結果<sup>44)</sup>と同様に、油症患者でも大半のダイオキシン類の母から胎児への経胎盤移行は少量で、その移行率は化合物によって異なると推測された。また、油症患者、なかでも20歳未満で油症に曝露した患者が母親になった場合には、出生した児（次世代）

の男児出生比率（男児数/男児+女児数）は0.450と低い傾向（ $p=0.06$ ）を示し、さらにこの次世代が母親となった場合の児（次々世代）の男児出生比率は0.348と一般対照群の値（0.514）と比べて有意に低値（ $p=0.02$ ）だった<sup>45)</sup>。

## 2. 治療法

### 2.1. 歴史的背景

油症発生当初より、ダイオキシン類の体外排泄を促す治療法の確立を目指して基礎研究が行われてきた。1980年代、活性炭<sup>46)</sup>やスクアレン<sup>47)</sup>を実験動物に経口投与したところ、2,3,4,7,8-PeCDFの糞便中への排泄が対照群と比べ2-5倍増加した。その後、消化管から吸収されない高分子化合物で、コレステロールなどの脂肪を吸着して便として体外に排泄し、高コレステロール血症に保険適応になっている、コレステミドの効果が検討された。基礎研究<sup>48)</sup>、少数の患者を対象にした臨床試験<sup>49)</sup>の結果、コレステミド内服にて血液中ダイオキシン類濃度、ダイオキシン類の糞便中への排泄が若干増加するものの、ダイオキシン類の毒性によると思われる症状の改善はみられなかった。現在のところ、ダイオキシン類の排泄を促進し、患者の症状を軽減する治療法は見つかっていない。

### 2.2. 漢方方剤による臨床試験

油症患者の各症状の緩和を目的に種々の漢方方剤の臨床試験を行ったところ、用いた漢方方剤の中で、麦門冬湯は血液中ダイオキシン類濃度に影響を与えることなく、咳・痰といった呼吸器症状を改善した<sup>50)</sup>。麦門冬湯は6種の生薬で構成される。これらの生薬に含まれるいずれの成分が作用を及ぼしたのか同定すべく、基礎研究を行っている。

## 3. 油症の治療開発にむけて

### 3.1. AhRの細胞内シグナル伝達

古くからダイオキシン受容体として知られている AhR は、リガンドと結合すると核内へ移行する転写因子である。AhR ノックアウトマウスを用いた検討<sup>13)</sup>で2,3,7,8-TCDDの毒性が消失したことより、ダイオキシン類による毒性反応は AhR に仲介されていることが証明された。図1

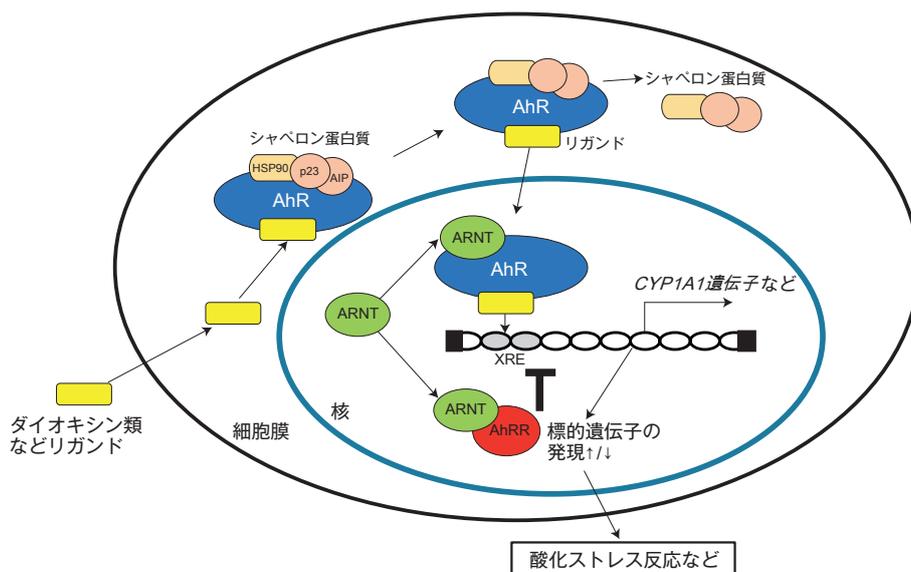


図1 AhRの細胞内シグナル伝達

に AhR の細胞内シグナル伝達のシエマを示す。AhR は多種多様な細胞，例えば，リンパ球や樹状細胞などの免疫細胞<sup>51)52)</sup> や，皮膚のほとんどの構成細胞（ケラチノサイト<sup>53)</sup>，メラノサイト<sup>54)</sup>，線維芽細胞<sup>55)</sup>）に発現している。AhR は細胞質内に存在し，heat shock protein 90 (HSP90)，AhR-interacting protein (AIP) や p23 などと複合体を形成している。リガンドが AhR に結合すると，活性化した AhR が核内へ移動し，AhR nuclear translocator (ARNT) とヘテロ二量体を形成する。リガンド-AhR-ARNT 複合体は様々な遺伝子上の xenobiotic-responsive element (XRE) というエンハンサー配列に結合し，薬物代謝酵素などの標的遺伝子の転写が促進あるいは抑制される。ネガティブフィードバック機構として，AhR repressor (AhRR) が発現すると，AhR/ARNT 結合が阻害され，AhR 活性化が抑制される<sup>51)</sup>。

### 3.2. AhR リガンド

AhR には，ダイオキシン類だけでなく，外因性，内因性の多様な物質が様々な親和性をもって結合する。外因性リガンドでは，ダイオキシン類の他，環境化学物質である benzo[a]pyrene (B[a]P) などの多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH) や黴菌の代謝産物<sup>56)</sup> がある。フラボノイドやポリフェノールなど食用植物

性化学物質の中にも，AhR への結合が確認されている成分が存在する<sup>57)</sup>。内因性リガンドには，必須アミノ酸のトリプトファン<sup>57)</sup> の光代謝産物である 6-formylindolo [3,2-b] carbazole (FICZ) やキヌレンなどがある。

### 3.3. AhR の作用

2,3,7,8-TCDD に代表されるダイオキシン類が AhR に結合し，AhR が活性化すると薬物代謝酵素の cytochrome P4501A1 (*CYP1A1*) など標的遺伝子の転写が促進し，過剰な活性酸素の産生，つまり酸化ストレスがおこる。油症患者では，一般対照群と比べて酸化ストレスのマーカーである尿中 8-isoprostane<sup>58)</sup>，および血中 total antioxidant power 値<sup>59)</sup> の上昇が確認されている。

近年，AhR の基礎研究は目覚ましく，そのリガンドによって表皮細胞の分化<sup>60)</sup>，免疫反応の調節<sup>52)</sup>，色素産生機構<sup>54)</sup>，光老化<sup>61)</sup> など多彩な作用に関与することが明らかになった。我々の今までの研究では，タバコの煙の主成分の一つである B[a]P は，表皮細胞に発現している AhR に作用して *CYP1A1* の発現を誘導し，活性酸素や IL-8 の産生を促した<sup>53)</sup>。一方，B[a]P は呼吸器上皮細胞の AhR に作用して，産生される活性酸素を介して mucin 5AC (MUC5AC) の発現を増強し，ムチンの産生を促した<sup>62)</sup>。さらに B[a]P や FICZ は，ヒト表皮細胞の AhR に作用して，ケモカイ

ンの一種である CC-chemokine ligan 5 (CCL5) の発現を抑制した<sup>63)</sup>。また、以前の報告<sup>64)</sup>と同様に、古来より皮膚疾患の外用治療薬である脱脂大豆乾留タール（グリテール）は、ヒト表皮細胞の AhR に作用して、表皮バリア機構に重要なフィラグリンの発現を増強するのが確認された<sup>65)</sup>。

酸化ストレスは、AhR 活性の代表的な作用である。その一方で、表 1<sup>66)</sup>に示すような野菜や植物の成分の中に、AhR 活性を抑制する作用を有する植物性化学物質が存在する。ケルセチン、ルテオリン、ケンフェロールなどは AhR と 2,3,7,8-TCDD の結合に競合し<sup>57)67)</sup>、また、赤ワイン

の主成分であるレスベラトロールは 2,3,7,8-TCDD-AhR 複合体が細胞質から核内に移行するのを抑制し<sup>68)</sup>、2,3,7,8-TCDD が惹起する酸化ストレスに対して防御的な機能を発揮する。我々の動物実験においても、クルクミン<sup>69)</sup>やレスベラトロール<sup>70)</sup>をダイオキシン感受性のマウスに投与すると、2,3,7,8-TCDD 投与によって引き起こされる体重増加抑制が改善した。また、resveratrol 投与にて肝臓への脂質蓄積が軽減し、AhR 活性化の指標である ethoxyresorufin O-deethylase 活性、および酸化ストレスの指標である thiobarbituric acid-reactive substance 値が有意に改善した<sup>70)</sup>。

表 1 ダイオキシン類の毒性を抑制する可能性がある食物とその成分<sup>66)</sup>

ダイオキシン類の毒性を抑制する可能性がある食物とその成分	
<b>野菜類</b>	<b>果実類</b>
トマト ———— トマトニン、フェニルalanin	レモン ———— hesperidin
ニンジン ———— カロチン	オレンジ ———— hesperidin
セロリ ———— アピジニン、フルボニン	リンゴ ———— クワセチン、フルボニン
ピーマン ———— アピジニン、フルボニン	イチゴ ———— クワセチン
シュンゴク ———— ルチリン、クワセチン	ブドウ ———— クワセチン、レスベラトロール
レタス ———— ルチリン、クワセチン、クワセチン	<b>豆科植物 / バナナ</b>
ニンジン ———— カロチン	バセリ ———— アピジニン、フルボニン
タマネギ ———— カロチン、アピジニン	パプリカ ———— hesperidin
ブロッコリー ———— カロチン、アピジニン	シソ ———— カロチン
かぼちゃ ———— カロチン	エンドウ ———— カロチン
ニラ ———— カロチン	ローズマリー ———— カロチン
ダイコン ———— カロチン	ショウガ ———— カロチン
かぶ ———— カロチン	ウコン ———— カロチン
パセリ ———— カロチン	コンヨウ ———— ビタミン
アスパラゴス ———— シクロロコピリン	トウガラシ ———— カロチン
	クダモノクサ、ゼンククサ、ヒメクサ
<b>豆科植物</b>	<b>穀類</b>
大豆 ———— イソフラボン	粟 ———— カロチン、クワセチン
ピーナッツ ———— ルチリン、クワセチン	あやこ ———— hesperidin
ソバ ———— カロチン	ビール ———— カロチン、クワセチン

### 3.4. AhR と Nrf2

#### —酸化ストレスと抗酸化ストレス機構—

抗酸化ストレス機構においては、多様な抗酸化蛋白酵素を誘導する転写因子、nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) が重要な役割を担っている<sup>71)</sup>。Nrf2 は、活性酸素産生などの刺激により Keap1 のトラップが外れると、細胞質から核内移行が誘導され、NAD (P) H : quinone oxidoreductase 1 (Nqo1), superoxide dimustase (SOD) など様々な抗酸化蛋白酵素の遺伝子のプロモーター領域の antioxidant response element (ARE) 配列に結合し、その転写を亢進する<sup>14)</sup>。近年、AhR は他の転写因子とクロストークすることが分かり、中でも AhR と Nrf2 のクロストーク<sup>72)73)</sup>の経路は複雑で、リガンドによって酸化ストレス、抗酸化ストレスの相

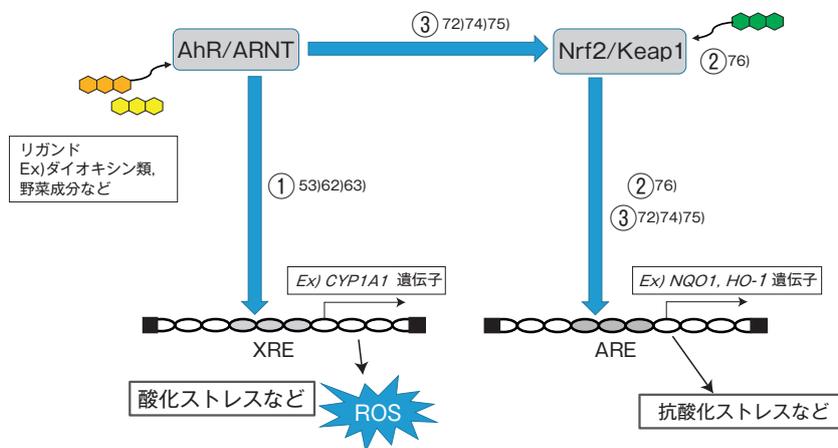


図 2 AhR-Nrf2 のクロストーク (仮説)  
HO-1 : heme oxygenase 1

反する反応が起こる。図2に今までの報告を元にした AhR-Nrf2 経路の仮説を示す。2,3,7,8-TCDD が結合した AhR は、マウス Nrf2 プロモーター領域の xenobiotic responsive element (XRE) 配列に結合し、Nrf2 の発現を直接的に誘導する、つまり Nrf2 は AhR の標的遺伝子であるという報告がある<sup>72)</sup>。我々の研究では、ケトコナゾールは、ヒト表皮細胞の AhR に作用して Nrf2 の活性化、および Nqo-1 の産生を誘導し、TNF- $\alpha$  や B[a]P により誘導される活性酸素や IL-8 の産生、いわゆる酸化ストレスおよび炎症反応を抑制した<sup>74)</sup>。また、古来より高血圧などの成人病に効果があるとされている、タチアワユキセンダングサ (学名: ビデンス・ピローサ) 茶の成分は、血管内皮細胞の AhR に作用して同様の機序で活性酸素を低減した<sup>75)</sup>。

一方、緑茶 (*Camellia sinensis*) やウコンのように、AhR 非依存性に直接 Nrf2 活性化をきたし抗酸化ストレスを惹起する植物性化学物質<sup>76)</sup> や、活性酸素産生を介して Nrf2 を活性化する化合物もある<sup>77)</sup>。炎症性皮膚疾患やざ瘡に処方される漢方方剤、治頭瘡一方の生薬、センキュウ (*Cnidium officinale*) やトウキ (*Angelica acutiloba*) の主成分である Z-Ligustilide は、ヒト表皮細胞に作用して AhR 非依存性に活性酸素を産生し、さらに活性酸素依存性に Nrf2 の活性化を誘導し、B[a]P による CYP1A1 発現を抑制した<sup>77)</sup>。このように、AhR 依存性、および非依存性に Nrf2 が活性化されることで、抗酸化ストレス機構が機能し、生体を酸化ストレスから防御すると考えられる。

#### 4. 今後の展望

ダイオキシン受容体である AhR の基礎研究は、当初、生体内に残存するダイオキシン類の影響を長期間にわたり受けている油症患者の病態を解明するために開始された。それに加えて、最近の基礎研究の成果にて、AhR リガンドはダイオキシン類以外にも多数存在し、リガンドによっては AhR の活性化に拮抗したり、AhR を活性化後に抗酸化ストレス機構で重要な Nrf2 とクロストークして抗酸化ストレスを発揮したり、また AhR 非依存性に Nrf2 経路を直接活性化したり、活性酸素産生を介して Nrf2 を活性化するなど、AhR による酸化ストレスを抑制する化合物が次々に明ら

かになっている。興味深いことに、このような化合物の多くは、野菜や果物や嗜好品の主成分や、漢方方剤の生薬や医薬品の成分で、毎日経口摂取することが可能である。バランスのいい菜食を日々摂取すると、油症患者のダイオキシン類による慢性毒性が緩和できるかもしれない。今後、さらなる基礎研究の発展が期待される。

## 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。ここに記して謝辞を表します。

## 参 考 文 献

- 1) Masuda Y and Yoshimura H: Chemical analysis and toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in relation to yusho. *J Toxicol Sci.* 7: 161-175, 1982.
- 2) Masuda Y and Yoshimura H: Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with yusho and their toxicological significance: a review. *Am J Ind Med.* 5: 31-44, 1984.
- 3) Caramaschi F, del Corno G, Favaretti C, Giambelluca SE, Montesarchio E and Fara GM: Chloracne following environmental contamination by TCDD in Seveso, Italy. *Int J Epidemiol.* 10: 135-143, 1981.
- 4) Chen PH, Chang KT and Lu YD: Polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans in the toxic rice-bran oil that caused PCB poisoning in Taichung. *Bull Environ Contam Toxicol.* 26(4): 489-495, 1981.
- 5) van den Berg M, De Jongh J, Poiger H and Olson JR: The toxicokinetics and metabolism of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) and their relevance for toxicity. *Crit Rev Toxicol.* 24: 1-74, 1994.
- 6) Safe S: Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol.* 21: 51-88, 1990.
- 7) van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, Fiedler H, Hakansson H, Hanberg A, Haws L, Rose M, Safe S, Schrenk D, Tohyama C, Tritscher A, Tuomisto J, Tysklind M, Walker N and Peterson RE: The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency

- factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci.* 93 : 223-241, 2006.
- 8) Nagayama J, Kuratsune M and Masuda Y : Determination of chlorinated dibenzofurans in kanechlors and "yusho oil". *Bull Environ Contam Toxicol.* 15 : 9-13, 1976.
  - 9) Nagayama J, Masuda Y and Kuratsune M : Determination of polychlorinated dibenzofurans in tissues of patients with 'yusho'. *Food Cosmet Toxicol.* 15 : 195-198, 1977.
  - 10) Yao Y, Takasuga T, Masunaga S and Nakanishi J : Detailed study on the levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in Yusho rice oil. *Chemosphere.* 46 : 1461-1469, 2002.
  - 11) 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.
  - 12) Iida T and Todaka T : Measurement of dioxins in human blood : improvement of analytical method. *Ind health.* 41 : 197-204, 2003.
  - 13) 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.
  - 14) Furue M, Takahara M, Nakahara T and Uchi H : Role of AhR/ARNT system in skin homeostasis. *Arch Dermatol Res.* 306 : 769-779, 2014.
  - 15) <http://www.kyudai-derm.org/kanemi/image/kanemi.pdf>
  - 16) Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Iida T and Furue M : Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. *Chemosphere.* 74 : 902-909, 2009.
  - 17) Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Onozuka D, Takao Y, Hirata T, Iida T, Uchi H and Furue M : The difference between male and female dioxin concentrations in the blood of Yusho patients. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 102 : 140-144, 2011.
  - 18) Warner M, Mocarelli P, Brambilla P, Wesselink A, Patterson DG Jr, Turner WE and Eskenazi B : Serum TCDD and TEQ concentrations among Seveso women, 20 years after the explosion. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 24 : 588-594, 2014.
  - 19) 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.
  - 20) Masuda Y, Haraguchi K, Kuroki H and Ryan JJ : Change of PCDF and PCB concentrations in the blood of Yucheng and Yusho patients for 25 years. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 86 : 178-183, 1995.
  - 21) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. *Chemosphere.* 77 : 658-662, 2009.
  - 22) Todaka T, Uchi H, Hirakawa H, Takao Y, Kajiwara J and Furue M : The changes in dioxin concentrations in the blood of Yusho patients from 2004 to 2010. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 104 : 118-127, 2013.
  - 23) Imamura T, Kanagawa Y, Matsumoto S, Tajima B, Uenotsuchi T, Shibata S and Furue M : Relationship between clinical features and blood levels of pentachlorodibenzofuran in patients with Yusho. *Environ Toxicol.* 22 : 124-131, 2007.
  - 24) 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. *Environ Health.* 7 : 47, 2008. doi : 10.1186/1476-069X-7-47.
  - 25) Matsumoto S, Kanagawa Y, Koike S, Akahane M, Uchi H, Shibata S, Furue M and Imamura T : Twenty-year changes of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) level and symptoms in Yusho patients, using association analysis. *BMC Res Notes.* 3 : 129, 2010. doi : 10.1186/1756-0500-3-129.
  - 26) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Imamura T : Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood : correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. *Chemosphere.* 92 : 772-777, 2013.
  - 27) Pesatori AC, Consonni D, Bachetti S, Zocchetti C, Bonzini M, Baccarelli A and Bertazzi PA : Short-and long-term morbidity and mortality in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident". *Ind Health.* 41 : 127-138,

- 2003.
- 28) Warner M, Mocarelli P, Samuels S, Needham L, Brambilla P and Eskenazi B : Dioxin exposure and cancer risk in the Seveso Women's Health Study. *Environ Health Perspect.* 119 : 1700-1705, 2011.
- 29) Pesatori AC, Consonni D, Rubagotti M, Grillo P and Bertazzi PA : Cancer incidence in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident": twenty years of follow-up. *Environ Health* 8 : 39, 2009. doi : 10.1186/1476-069X-8-39.
- 30) Li MC, Tsai PC, Chen PC, Hsieh CJ, Leon Guo YL and Rogan WJ : Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans : 30 years after the "Yucheng accident". *Environ Res.* 120 : 71-75, 2013. doi : 10.1016/j.envres.2012.09.003.
- 31) Onozuka D, Hirata T and Furue M : Relative survival after exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins : a follow-up of Japanese patients affected in the Yusho incident. *Sci Total Environ.* 409 : 2361-2365, 2011.
- 32) Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S and Furue M : Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans : a 40-year follow-up study of Yusho patients. *Am J Epidemiol.* 169 : 86-95, 2009.
- 33) Hattori Y, Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin-induced fetal growth retardation : the role of a preceding attenuation in the circulating level of glucocorticoid. *Endocrine.* 47 : 572-580, 2014.
- 34) Lamb JC 4th, Harris MW, McKinney JD and Birnbaum LS : Effects of thyroid hormones on the induction of cleft palate by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in C57BL/6N mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 84 : 115-124, 1986.
- 35) Koga T, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Uchi H, Tsukimori K, Yamamoto M, Himeno M, Furue M and Yamada H : Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with  $\alpha$ -lipoic acid. *PLoS One* 7 : e40322, 2012. doi : 10.1371/journal.pone.0040322.
- 36) Warner M, Eskenazi B, Olive DL, Samuels S, Quick-Miles S, Vercellini P, Gerthoux PM, Needham L, Patterson DG and Mocarelli P : Serum dioxin concentrations and quality of ovarian function in women of Seveso. *Environ Health Perspect.* 115 : 336-340, 2007.
- 37) Mocarelli P, Gerthoux PM, Needham LL, Patterson DG Jr, Limonta G, Falbo R, Signorini S, Bertona M, Crespi C, Sarto C, Scott PK, Turner WE and Brambilla P : Perinatal exposure to low doses of dioxin can permanently impair human semen quality. *Environ Health Perspect.* 119 : 713-718, 2011.
- 38) Yang CY, Huang TS, Lin KC, Kuo P, Tsai PC and Guo YL : Menstrual effects among women exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Environ Res.* 111 : 288-294, 2011.
- 39) Yang CY, Wang YJ, Chen PC, Tsai SJ and Guo YL : Exposure to a mixture of polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans resulted in a prolonged time to pregnancy in women. *Environ Health Perspect.* 116 : 599-604, 2008.
- 40) Tsukimori K, Tokunaga S, Shibata S, Uchi H, Nakayama D, Ishimaru 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 the Yusho incident. *Environ Health Perspect.* 116 : 626-630, 2008.
- 41) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N and Furue M : Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environ Int.* 38 : 79-86, 2012.
- 42) Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T and Furue M : Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants : association with fetal Yusho disease. *Chemosphere.* 90(5) : 1581-1588, 2013.
- 43) Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Fukushima K, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Wake N and Furue M : Comparison of the concentrations of polychlorinated biphenyls and dioxins in mothers affected by the Yusho incident and their children. *Chemosphere.* 84 : 928-935, 2011.
- 44) Suzuki G, Nakano M and Nakano S : Distribution of PCDDs/PCDFs and Co-PCBs in human maternal blood, cord blood, placenta, milk, and adipose tissue : dioxins showing high toxic equivalency factor accumulate in the placenta. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69 : 1836-1847, 2005.
- 45) Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Morokuma S : Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. *Epidemiology.* 23 : 349-350, 2012.
- 46) Kamimura H, Koga N, Oguri N, Yoshimura H,

- Honda Y and Nakano M : Enhanced faecal excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in rats by a long-term treatment with activated charcoal beads. *Xenobiotica*. 18 : 585-592, 1988.
- 47) Yoshimura H, Kamimura H, Oguri K and Saeki S : Stimulating effect of squalene on fecal excretion of a high toxic 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF) in rats. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 76 : 184-189, 1985.
- 48) Ishida T, Sakai Y, Ishii Y, Furue M and Yamada H : The accelerated excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran by Cholebine. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 100 : 210-216, 2009.
- 49) Iida T, Nakagawa R, Hirakawa H, Matsuda T, Morita K, Hamamura K, Nakayama J, Hori Y, Guo YL, Chang FM, Hsiao PW, Lin KC, Yu ML, Lai TJ, Chen SJ and Hsu CC : Clinical trial of a combination of rice bran fiber and cholestyramine for promotion of fecal excretion of patients. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 86 : 226-233, 1995.
- 50) Uchi H, Tokunaga S, Mitoma C, Shibata S, Hamada N, Nakanishi Y, Kajiwara J, Yoshimura T and Furue M : A clinical trial of kampo formulae for the treatment of symptoms of yusho, a poisoning caused by dioxins and related organochlorine compounds. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011 : 589724, 2011. doi : 10.1093/ecam/nep209.
- 51) Mimura J, Ema M, Sogawa K and Fujii-Kuriyama Y : Identification of a novel mechanism of regulation of Ah (dioxin) receptor function. *Genes Dev*. 13 : 20-25, 1999.
- 52) Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, Buer J, Dumoutier L, Renault JC and Stockinger B : The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins. *Nature*. 453 : 106-109, 2008.
- 53) Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Takeuchi S, Mitoma C, Moroi Y and Furue M : An environmental contaminant, benzo (a) pyrene, induces oxidative stress-mediated interleukin-8 production in human keratinocytes via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway. *J Dermatol Sci*. 62 : 42-49, 2011.
- 54) Leucke S, Backlund M, Jux B, Esser C, Krutmann J and Rannug A : The aryl hydrocarbon receptor (AHR), a novel regulator of human melanogenesis. *Pigment Cell Melanoma Res*. 23 : 828-833, 2010.
- 55) Tigges J, Weighardt H, Wolff S, Götze C, Förster I, Kohne Z, Huebenthal U, Merk HF, Abel J, Haarmann-Stemmann T, Krutmann J and Fritsche E : Aryl hydrocarbon receptor repressor (AhRR) function revisited : repression of CYP1 activity in human skin fibroblasts is not related to AhRR expression. *J Invest Dermatol*. 133 : 87-96, 2013.
- 56) Magiatis P, Pappas P, Gaitanis G, Mexia N, Melliou E, Galanou M, Vlachos C, Stathopoulou K, Skaltsounis AL, Marselos M, Velegraki A, Denison MS and Bassukas ID : *Malassezia* yeasts produce a collection of exceptionally potent activators of the Ah (dioxin) receptor detected in diseased human skin. *J Invest Dermatol*. 133 : 2023-2030, 2013.
- 57) Amakura Y, Tsutsumi T, Sasaki K, Nakamura M, Yoshida T and Maitani T : Influence of food polyphenols on aryl hydrocarbon receptor-signaling pathway estimated by in vitro bioassay. *Phytochemistry*. 69 : 3117-3130, 2008.
- 58) 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.
- 59) 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.
- 60) Ray SS and Swanson HI : Alteration of keratinocyte differentiation and senescence by the tumor promoter dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol*. 192 : 131-145, 2003.
- 61) Krutmann J, Morita A and Chung JH : Sun exposure : what molecular photodermatology tells us about its good and bad sides. *J Invest Dermatol*. 132 : 976-984, 2012.
- 62) Chiba T, Uchi H, Tsuji G, Gondo H, Moroi Y and Furue M : Arylhydrocarbon receptor (AhR) activation in airway epithelial cells induces MUC5AC via reactive oxygen species (ROS) production. *Pulm Pharmacol Ther*. 24 : 133-140, 2011.
- 63) Morino-Koga S, Uchi H, Tsuji G, Takahara M, Kajiwara J, Hirata T and Furue M : Reduction of CC-chemokine ligand 5 by aryl hydrocarbon receptor ligands. *J Dermatol Sci*. 72 : 9-15, 2013.
- 64) van den Bogaard EH, Bergboer JG, Vonk-Bergers M, van Vlijmen-Willems IM, Hato SV, van der Valk PG, Schröder JM, Joosten I, Zeeuwen PL and Schalkwijk J : Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis. *J Clin Invest*. 123 : 917-927, 2013.
- 65) Takei K, Mitoma C, Hashimoto-Hachiya A, Uchi H, Takahara M, Tsuji G, Kido-Nakahara M,

- Nakahara T and Furue M : Antioxidant soybean tar Glyteer rescues T-helper-mediated downregulation of filaggrin expression via aryl hydrocarbon receptor. *J Dermatol* 42 : 171-180, 2015.
- 66) [http://www.kyudai-derm.org/member/image/yusho\\_leaf.pdf](http://www.kyudai-derm.org/member/image/yusho_leaf.pdf)
- 67) Ciolino HP, Daschner PJ and Yeh GC : Dietary flavonols quercetin and kaempferol are ligands of the aryl hydrocarbon receptor that affect CYP1A1 transcription differentially. *Biochem J.* 340 : 715-722, 1999.
- 68) Ciolino HP, Daschner PJ and Yeh GC : Resveratrol inhibits transcription of CYP1A1 in vitro by preventing activation of the aryl hydrocarbon receptor. *Cancer Res.* 58 : 5707-5712, 1998.
- 69) Ishii Y, Ishida T, Mutoh J, Yamada H and Oguri K : Possible candidates for the compound which is expected to attenuate dioxin toxicity. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 96 : 204-213, 2005.
- 70) Ishida T, Takeda T, Koga T, Yahara M, Ike A, Kuramoto C, Taketoh J, Hashiguchi I, Akamine A, Ishii Y and Yamada H : Attenuation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxicity by resveratrol : A comparative study with different routes of administration. *Biol Pharm Bull* 32 : 876-881, 2009.
- 71) Surh YJ, Kundu JK and Na HK : Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. *Planta Med.* 74 : 1526-1539, 2008.
- 72) Miao W, Hu L, Scrivens PJ and Batist G : Transcriptional regulation of NF-E2 p45-related factor (NRF2) expression by the aryl hydrocarbon receptor-xenobiotic response element signaling pathway : direct cross-talk between phase I and II drug-metabolizing enzymes. *J Biol Chem.* 280 : 20340-20348, 2005.
- 73) Köhle C and Bock KW : Coordinate regulation of Phase I and II xenobiotic metabolisms by the Ah receptor and Nrf2. *Biochem Pharmacol.* 73 : 1853-1862, 2007.
- 74) Tsuji G, Takahara M, Uchi H, Matsuda T, Chiba T, Takeuchi S, Yasukawa F, Moroi Y and Furue M : Identification of ketoconazole as an AhR-Nrf2 activator in cultured human keratinocytes : the basis of its anti-inflammatory effect. *J Invest Dermatol.* 132 : 59-68, 2012.
- 75) Kohda F, Takahara M, Hachiya A, Takei K, Tsuji G, Yamamura K and Furue M : Decrease of reactive oxygen species and reciprocal increase of nitric oxide in human dermal endothelial cells by *Bidens pilosa* extract : a possible explanation of its beneficial effect on livedo vasculopathy. *J Dermatol Sci.* 72 : 75-77, 2013.
- 76) Reuland DJ, Khademi S, Castle CJ, Irwin DC, McCord JM, Miller BF and Hamilton KL : Upregulation of phase II enzymes through phytochemical activation of Nrf2 protects cardiomyocytes against oxidant stress. *Free Radic Biol Med.* 56 : 102-111, 2013.
- 77) Wu Z, Uchi H, Morino-Koga S, Nakamura-Satsumura A, Kita K, Shi W and Furue M : Z-Ligustilide inhibits benzo (a) pyrene-induced CYP1A1 upregulation in cultured human keratinocytes via ROS-dependent Nrf2 activation. *Exp Dermatol.* 23 : 260-265, 2014.

(Received for publication March 13, 2015)

## 福岡医学雑誌投稿規定

1. 本誌には原著論文、症例報告、総説、学会報告等を掲載する。
2. 原著論文は、和文の場合は英文抄録、はじめに、実験方法、実験結果、考察、総括または結論、謝辞、文献の順とし、英文の場合は、Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, References, の順で記すものとする。ただし、短報の場合は、この区別をつけなくともよい。図、表の標題、説明文は、英文とすることが望ましい。
3. 和文原著には英文の抄録を、欧文原著には和文抄録を付けることとし、それぞれ本誌印刷1ページ以内とする。
4. 和文は現代かなづかい、平がなまじりの横書きとする。外国語は typewriter を使用するか、あるいは block letter で鮮明に記すことが必要である。
5. 数字は算用数字を用い、度量衡の単位は、cm, mm,  $\mu\text{m}$ , nm, g, mg,  $\mu\text{g}$ , ng, ml, dl,  $\mu\text{l}$ ,  $\text{cm}^2$  など、一般的に用いられる略字を使用する。
6. 原稿の第1ページには、標題、著者の所属（必要あれば指導者名付記）、著者名のみを記し、印刷所要部数を赤で付記する。ランニングタイトルを20字以内（欧文の場合は40文字以内）で鉛筆で付記する。
7. 引用した文献は末尾に一括して番号を付けて記載し、その順序は引用した順とする。著者名は全員併記する。本文の引用箇所には上付きで<sup>1)2)</sup>と記す。なお総説等の場合、重要なものについて5~10程度に○をつけて読者の便宜を図る。記載の形式は次の例による。
  - 1) 雑誌の場合：著者名. 論文表題. 雑誌名. 巻：最初最終頁, 発行年. とする。  
原著の first and middle name の省略のピリオドは用いない。  
(例) Hatch TP, Miceli M and Silverman JA : Synthesis of protein in host-free reticulate bodies of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis*. J. Bacteriol. 162 : 938-942, 1985.  
(例) 神村英利, 吉村英敏 : 油症原因物質の排泄促進, 福岡医誌 78 : 266-280, 1987.
  - 2) 単行本の場合：著者名. 書名. 第何版. 引用頁, 発行社, 発行地, 発行年。  
(例) Bloom W and Fawcett DW : A Textbook of Histology 10th ed. pp. 179-227, Saunders Co. Philadelphia, 1975.
  - 3) 分担執筆の場合：著者名. 章の表題. 編者. 書名. 第何版. 最初最終頁, 発行者. 発行地. 発行年。  
(例) Yamada Y : Far-storing cells, In Yamakawa I (ed) : Structure and Function of the Liver. 1st ed. pp. 188-202, Nanzando Tokyo, 1980.
8. 写真原稿は鮮明なものでなければならない。表は1ページに組める大きさであることを要する。
9. 英文原稿については、文法上の誤りがない正確なものを提出できるように、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な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。  
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), 古江増隆\* (皮膚科学), 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\*, 馬場園 明\* (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)

(\* : 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 27 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 笹栗俊之

印刷所 ダイヤモンド秀巧社印刷株式会社

福岡市東区松田3丁目9-32

本会の会費には、本学会の「福岡医学雑誌」(FUKUOKA ACTA MEDICA)購読料を含む。

# 一般財団法人 恵 愛 団

当財団は、売店・保険薬局・喫茶等の各種事業活動をとおして九州大学の医学研究を奨励助成し、九大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明治44年に設立された公益法人です。以来100年に亘り活動してまいりましたが、平成24年11月1日付けで「一般財団法人」への移行登記を行い、新法人の活動を開始することになりました。

なお、一般財団法人恵愛団となりましたが事業理念は何ら変わりなく、今後も九大病院への支援を続けると共に「福岡医学雑誌」発行に協賛し、医学の発展と地域医療の振興に寄与してまいりますので、何卒よろしくお願いいたします。



一般財団法人 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)642-6854 FAX(092)641-3266