

19990652

平成11年度厚生科学研究費補助金
(生活安全総合研究事業)

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

平成11年度研究報告書

平成12年3月

主任研究者 小栗 一太

平成 11 年度研究報告書

熱媒体と人体影響とその治療法に関する研究

研究班構成員氏名

主任研究者	九州大学大学院薬学研究科 分子衛生薬学分野 教授	小栗 一太
分担研究者	九州大学歯学部 歯科保存学第二講座 教授	赤峰 昭文
	福岡県保健環境研究所 保健科学部 部長	飯田 隆雄
	九州大学大学院医学系研究科 視覚機能制御学 助教授	石橋 達朗
	長崎大学医療技術短期大学部 作業療法学科 助手	沖田 実
	長崎大学医学部 皮膚科学教室 教授	片山 一朗
	福岡大学医学部 第一病理学 教授	菊池 昌弘
	九州大学大学院医学系研究科 皮膚病態機能学 助教授	古賀 哲也
	中村学園大学 食物栄養学科 助教授	古賀 信幸
	福岡県保健環境研究所 管理部情報管理課 課長	篠原 志郎
	長崎大学医学部 皮膚科学教室	清水 和宏
	長崎大学医学部 皮膚科学教室	塚崎 直子
	九州大学大学院医学系研究科 病態機能内科学 助手	辻 博
	九州大学大学院医学系研究科 予防医学分野 助手	徳永 章二
	九州大学大学院医学系研究科 附属胸部疾患研究施設 助教授	中西 洋一
	福岡大学医学部 皮膚科学教室 教授	中山樹一郎
	九州大学医療技術短期大学部 助教授	長山 淳哉
	九州大学歯学部 歯科保存学第二講座 助手	橋口 勇
	九州大学大学院医学系研究科 皮膚病態機能学 教授	古江 増隆
	第一薬科大学 物理分析学教室 教授	増田 義人
	九州大学医学部附属病院 神経内科 助教授	山田 猛
	長崎大学医学部 皮膚科学教室	渡辺 雅久
		(五十音順)
研究協力者	産業医科大学 皮膚科学教室	旭 正一
	産業医科大学 産業生態科学研究所 産業保健経済学教室 教授	池田 正人
	福岡県保健環境研究所 専門研究員	片岡恭一郎
	産業医科大学 産業生態科学研究所 臨床疫学教室	金子 聡
	九州大学医学部附属病院 神経内科 教授	吉良 潤一
	福岡大学医学部 皮膚科学教室	桐生 美麿
	福岡県保健環境研究所 生活化学課 課長	中川 礼子
	福岡県保健環境研究所 専門研究員	中村 又善
	産業医科大学 産業保健学部 第一看護学	西坂 和子
	福岡女子大学 人間環境学部 栄養健康学科	早淵 仁美
	福岡県保健環境研究所 研究員	平川 博仙
	九州大学医学部附属病院 神経内科	由村 健夫
		(五十音順)

目 次

研究班構成員氏名 (2)

1. 平成 11 年度総括研究報告書

「熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究」

主任研究者 小栗 一太 . . . 1

2. 平成 11 年度分担研究報告

「1999 年度の福岡県油症患者の皮膚症状の臨床的評価」

分担研究者 古賀 哲也 . . . 9

古江 増隆

中山樹一郎

研究協力者 桐生 美麿

旭 正一

「油症患者の発症時からの皮膚症状の推移」

分担研究者 渡辺 雅久 . . . 11

清水 和宏

塚崎 直子

片山 一朗

「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」

分担研究者 赤峰 昭文 . . . 12

橋口 勇

「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」

分担研究者 石橋 達朗 . . . 16

「油症における性ホルモン影響の検討」

分担研究者 辻 博 . . . 17

「油症患者における血中一酸化窒素濃度の検討」

分担研究者 清水 和宏 . . . 20

塚崎 直子

渡辺 雅久

片山 一朗

「油症患者に及ぼす PCB ならびに

その誘導物質の影響についての病理学的研究」

分担研究者 菊池 昌弘 . . . 22

「油症における出生性比の検討」

分担研究者 吉村 健清 ・ ・ 2 3
 研究協力者 金子 聡
 早瀬 仁美

「油症患者追跡調査」

分担研究者 吉村 健清 ・ ・ 2 7
 研究協力者 金子 聡
 西阪 和子
 池田 正人

「油症患者の自他覚症状の時間変化

－ 12年間の全国油症患者追跡検診結果より－

分担研究者 徳永 章二 ・ ・ 3 1

「熱媒体の人体影響とその治療法等に関する研究

－ 臨床所見と TEQ、PCB との相関について－

分担研究者 篠原 志郎 ・ ・ 3 8
 研究協力者 片岡 恭一郎

「クロロフィル含有食物によるダイオキシン類の吸収抑制に関する研究

－ 脂質関連成分の変化－

分担研究者 飯田 隆雄 ・ ・ 4 1
 研究協力者 中村 又善

「油症原因油中のダイオキシン類」

分担研究者 飯田 隆雄 ・ ・ 4 5
 研究協力者 平川 博仙

「油症患者の血中 PCDDs、PCDFs および
 coplanar PCBs 濃度の追跡調査」

分担研究者 飯田 隆雄 ・ ・ 5 2
 中川 礼子

「油症患者 30 年のダイオキシン類と症状の変遷」

分担研究者 増田 義人 ・ ・ 5 7

「コプラナー PCB による精巢 Leydig 細胞における

HSP70 の誘導の isoform 特異性 － mRNA レベルでの検討－

分担研究者 小栗 一太 ・ ・ 6 0

「コプラナー PCB によるカルボニックアンヒドラーゼ III (CAIII)

発現への影響 － 肝臓と筋肉での発現調節の違い－

分担研究者 小栗 一太 ・ ・ 6 6

「コプラナー PCB 誘導性セレン結合性タンパク質の生理的機能の解明

－ 塩基配列の決定と生理的機能の考察－

分担研究者 小栗 一太 ・ ・ 7 0

「PCBsによる気道上皮細胞のアポトーシス誘導に関する検討」	分担研究者 中西 洋一	・ ・ 7 3
「ラット肝における2,5,3',4'-四塩素化ビフェニルメチルスルホン体生成酵素の解明」	分担研究者 古賀 信幸	・ ・ 7 5
「PCB水酸化体の遺伝毒性 (II)」	分担研究者 長山 淳哉	・ ・ 7 7
「デキサメサゾンの培養シュワン細胞のPO、NGF、CNTF、GDNF発現に対する効果」	分担研究者 山田 猛	・ ・ 7 9
	研究協力者 由村 健夫	
	吉良 潤一	
「カネミ油症検診者におけるCK上昇の意義」	分担研究者 吉村 俊朗	・ ・ 8 1
	沖田 実	

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

主任研究者 小栗 一太 九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学専攻分野 教授

研究要旨 油症患者検診を通して患者の病的障害の把握に努めると共に、原因油摂取によって惹起される病状の抽出について検討を継続した。歯周や皮膚に認められる病的症状は依然として残存しており、中でも皮膚症状は体内 TEQ ないし PCB 濃度との相関性が最も高かった。これらの症状の程度は重篤ではなく、頻度も低下傾向にあることが確認された。内科学的には、PCB による酸化ストレス増加の可能性を考え、血中の NO 濃度を測定した結果、高値傾向は認められたが有意差は検出できなかった。また、患者における性腺刺激ホルモンの上昇とテストステロンの低下傾向が観察された。これらも健常人との比較で有意差はなく、また体内 PCB 濃度との相関も明瞭ではないが、健康影響ならび後世代への影響を考える際に貴重な資料と考えられた。このことと関連して、本年度は事件発生直後より油症患者から出生した子供の性別を調査したが、男児と女児の割合に片寄は認められなかった。最近5年間、連続して受診した患者体内の PCB 濃度を測定した結果、含有量の低下傾向が示された。また、主要な毒性原因物質である 2,3,4,7,8-penta-CDF の体脂質当り濃度は、初めの15年間は半減期 2.9年で、後半の15年間は半減期 7.7年で減衰したことを示す測定結果が得られた。毒性発現に関する検討からは以下のような成績を得た：1) コプラナーPCBによるHSP70の誘導には、isoform 選択性があることが明らかになった。これを通した内分泌系への障害発現が危惧され、毒性発現機構を解明する上で一つの重要な手がかりになると考えられた。2) コプラナー PCB によるカルボニックアンヒドラーゼ III レベルの著しい低下は、筋肉には起らず、肝臓に特異的であることが明かとなった。3) コプラナーPCB 誘導性のセレン結合性タンパク質の生理的機能を解明する研究の一環として、cDNAの塩基配列を決定し、演繹アミノ酸配列から機能を予想した。4) 気道上皮におけるPCBsの作用を生理的条件下に観察するには、細気管支Clara細胞の形質を有した細胞株の使用が必要なこと、並びにPCBsによるapoptosisにはp53の関与は大きくないことが推測された。5) 肝貯留性および酵素誘導効果の強い PCB 代謝物の生成機構に関する検討を加え、2,5,3',4'-TCBのMeS体からMeSO₂体への酸化経路においてflavin-containing monooxygenaseよりはP450が主に関与していることを明かにした。6) PCB水酸化体の遺伝毒性をヒトリンパ球培養細胞の姉妹染色分体交換 (SCEs) 誘発性を指標として検討した。その結果、ある種の PCB 水酸化体は単独でも、また、遺伝毒性物質が共存する場合にも、SCEs形成を高める作用があることを明かにした。7) PCBは体内ステロイドホルモン

レベルを変動させ得ることから、PCBによる末梢神経障害を解明するための基礎研究として、シュワン細胞の種々の神経栄養因子とその受容体の発現に対するデキサメサゾンの効果を調べた。その結果、副腎皮質ステロイドの効果は神経栄養因子によって異なることが示され、神経に対する障害機構の複雑さの一端が示された。8) 油症患者でクレアチン・ホスホカイネースの上昇が高頻度に認められるのは、筋細胞膜にも何らかの変化が生じている可能性が推定された。

A. 研究目的

油症事件発生後、三十年数年が経過した。一部の患者には未だに病的障害が観察されるが、多くの患者については症状は軽微になっている。現在は症状の悪化が観察されても、それがPCB摂取と関連するのか、あるいは単なる老年期障害であるのかが識別困難な場合が多い。このように、油症患者の病的状態については、少なくとも事件発生当時に認められた皮膚症状のような悲惨な急性症状は大きな問題ではなくなってきた。しかし、本研究でのこれまでの成果により、ガン罹患の亢進や免疫機能低下の可能性など、新たな問題が浮上してきている。本研究では、未だに未解明部分の多いPCB類の毒性発現機構を解明すると共に、患者の慢性的病態の把握を行い、これに立脚した患者の健康管理増進を目指して検討を継続した。

ダイオキシン類の内分泌攪乱作用に基づく人体影響、特に後世代に及ぼす影響は、これを科学的に論証する必要性が強まってきている。外国で発生した事故で不幸にもダイオキシン類の暴露を受けたヒト集団の追跡調査結果では、後世代への影響を報告している例もある。これとの関連で、本班では以前油症患者から出生した子供の性別を調査していたので、今回はこれを整理、解析して報告する。プライバシー保護の観点から、結果は集団

での調査成績として表示し、個人情報への漏出がないよう配慮する。また、一部の調査は、本年度に新たに実施したが、この際には患者に協力の了解を得たうえで実行した。

B. 結果および考察

1. 油症患者検診結果

平成11年度の福岡県油症患者一斉検診時の患者の皮膚症状について詳細な観察を行い、従来の皮膚重症度分類法に従ってデータを統計学的に解析した。今回の調査の結果、近年の皮膚症状の自然軽快傾向がさらに明らかとなった。また、患者血中のPCBパターンでAパターンの患者のPCB濃度が数年前に比べて低下していることも明らかになった。このことより、油症患者の皮膚症状および血中PCB濃度がここ数年でさらに改善する可能性があることが示唆された。一方、発症当時からの皮膚症状の推移を整理することは有用であると思われるので、痲瘡様発疹、面皰、色素沈着等の主要皮膚症状について、経年的な陽性率を調査した。その結果、面皰と歯肉の色素沈着が8~16年後でも比較的高い陽性率を示し、PCB貯留組織としての口腔粘膜組織の役割と、排泄経路としての毛嚢脂腺系の役割が示唆された。平成11年度検診で歯科を受診した油症認定患者は、歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率が健常

者に対して高い割合を示した。しかし、平成10年度の一斉検診時の結果と比べるとその割合は低下しており、PCB等の影響は依然として残っているものの、口腔内の臨床症状は改善されつつあることが示唆された。眼科症状のうち、自覚症状としては、眼脂過多を訴えるものが多かったが、その程度は軽く、油症の影響とは考えにくかった。慢性期の油症患者において診断的価値が高い眼症状である、眼瞼結膜色素沈着と、瞼板腺のチーズ様分泌物はほとんど観察できなかった。

内分泌異常の有無を調べる目的で、本年度の福岡県油症一斉検診を受診した男性患者28例について黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、総テストステロンおよび遊離テストステロンを測定し、血中PCB濃度との関連について検討した。その結果、血中PCB濃度が3.0 ppb以上の油症患者では、2.9 ppb以下の患者に比べLHおよびFSHの上昇傾向を、総テストステロンおよび遊離テストステロンの低下傾向を認めたが、いずれも有意ではなかった。また、PCBによる酸化ストレスの影響を評価するために、油症患者の血清一酸化窒素(NO)を測定し、血中のPCB、PCQ濃度との相関の有無を検討した。血清NO濃度はNOが酸化されて生じるNO₂-を検出するGriess法を用いて行った。油症患者22名および健常人11名の血清NO₂-値は、各々1.99±0.60 μMおよび1.58±0.83 μMで、油症患者に高い傾向が認められたが、有意差はなかった。また、油症患者の血清NO₂-値と血中PCQ、PCB濃度濃度との間に相関は認められなかった。

2. 後世代影響および健康影響に関する疫学的解析

1972年および1978年に実施した長崎県

T地区、ならびに福岡県における油症患者およびその家族から生まれた全出生児の調査資料を再整理し、出生性比異常の有無を調査した。その結果、油症における出生性比の有意な片寄は検出されず、セブソより報告された女兒における出生性比の増加は、油症事例については認められなかった。また、この調査とは別に、1999年度福岡県油症一斉検診を受診し、調査に同意が得られた油症認定患者72例を対象者として、1968年3月以前と1968年4月以後の出生児の男女比について比較検討した。この調査からも、児の出生男女比については、油症発生前後で差は認められなかった。

油症認定患者1815名の追跡の結果、1996年までに301名の死亡が確認された。これまでの調査で、原死因の特定がなされていなかった死亡患者について、患者データベースと厚生省人口動態統計死亡テープとの照合により原死因の特定を行い、死因別標準化死亡比(SMR)の試算を行った。男性患者の肝がんによる死亡が有意に高い結果となった(SMR=2.68)。住民票による死亡の確認と人口動態統計死亡テープによる照合による原死因の特定は、効率性の高い追跡調査方法である。理論上は、ほとんどの死亡患者で照合が得られるはずであったが、予想に反し低い一致率にとどまった(約85%)。理由として、患者データベースが公的情報(住民票情報)を基礎として作成されていなかったことがあげられる。2つのデータベースの照合を行うためには、双方の照合情報が一致している必要がある。よって、効率的・効果的な追跡調査を行うためには、公的情報を基本とした患者データベースの再構築が必要である。しかし、公的情報つまり、住民票情報を入手するためには、患者個人からの承諾を得

る必要があり、データベースの再構築に向けて、現在、患者代表者らと調整中である。

1986年から1997年までの12年間の全国油症患者追跡検診結果をもとに、認定患者について自他覚症状の有所見率および有症状率について時間変化を検討した。12年間に計686人（男/女：326/360）の認定患者が延べ3,417人・回受診し、平均受診回数は4.98回であった。受診者の1986年当時の平均年齢は50.8歳であった。有症状・有所見率が高かったのは、全身倦怠感、頭重・頭痛、咳嗽、喀痰、しびれ感で、各年度とも受診者の40%以上を占めた。身体の一部にでも黒色面皰、または、ざ瘡様皮疹を認める者はどの年度でも10%以上であった。各年度の受診者について有症状率および有所見率を比較したが、その年度間の変化は小さかった。しかし、今回の集計結果から、年度間で患者のかなりの部分で入れ替わりがある事が示された。従って、有症状率および有所見率を年度間で単純に比較しても、真の比較とはならない。また、受診年度が後になるほど受診者の年齢が高くなることから、この意味でも年度間の有所見率および有症状率は単純に比較できない。今後は複数回受診者を中心として、年齢変化と個人内変動を考慮に入れた詳細な統計解析を行なう必要がある。

平成7年度から平成9年度の福岡県油症検診受診者のうち、TEQ（2,3,7,8-TCDD毒性等価量）が計算できた247人のTEQあるいは、PCB濃度と臨床所見および血液・生化学検査項目との単相関分析を行った。TEQあるいはPCBと臨床所見ではいずれも内科、眼科、歯科の所見に比べ、皮膚科所見で有意な所見が多く見られた。また、TEQよりもPCBとの相関係数が大きい臨床所見項目が多かった。血

液・生化学検査項目の中でPCBよりもTEQとの相関が強かった項目は、2,3,4,5,3',4'-HxCB濃度、CB%比、総コレステロール、中性脂肪および β -リポプロテインなどがあり、2,4,5,2',4',5'-HxCB濃度、PCQ、平均血球容積（MCV）および平均血色素量（MCH）などは逆にTEQよりもPCBのほうが相関係数が大きかった。

3. 原因物質排泄促進に関する検討

油症患者体内に残留するPCDFsの低減化の方法を模索するため、健常人ボランティアを用いて、ほうれん草の摂取によって血中ダイオキシン類を内包する脂質関連成分が低下するか否かについて検討した。以前の検討により、食物繊維やクロロフィルにダイオキシン類排泄促進効果を認めたことから、現実的な方法に発展させるべく、クロロフィル高含有の繊維質食品に注目したものである。健常人ボランティア3名にほうれん草を一日150g宛、6ヵ月間摂取してもらい、実験開始前、実験中および実験終了直後に血液を採取し、血中脂質関連成分（総脂質、中性脂肪、総コレステロールおよびリン脂質）を測定し、対照群（3名）と比較した。6ヶ月間継続したほうれん草摂取は、脂質関連成分の血中濃度に顕著な変化を与えなかった。しかし、血中PCB類の含有量については変動している可能性もあり、今後はこの点について検討する予定である。

4. 油症患者体内のPCBおよび関連物質の分析

油症患者のダイオキシン類摂取量を精密に推定するため、原因ライスオイル中のダイオキシン類をキャピラリーガスクロマトグラフ・高分解能質量分析法により定量した。その結果、PCDDs、

PCDFs、ノンオルソPCBsおよびモノオルソPCBsがそれぞれ、18、406、128および15 μ gTEQ/g、総計567 μ gTEQ/g検出された。その大部分はPCDFs (72%) とノンオルソPCBs (23%) によるもので、PCDDs およびモノオルソPCBsはそれぞれ、3.2% および2.6%に過ぎなかった。このライスオイル中ダイオキシン類濃度は、過去の測定例992 μ gTEQ/g (増田ら) と比べると約1/2であったが、宮田らの値 (145 μ gTEQ/g) と比べると約4倍であった。

昨年度は、1995年から1997年まで3年間毎年の油症一斉検診受診者血中ダイオキシン類濃度の経年変化について報告した。今年度は引き続き、1998年 (34名)、1999年 (24名) の患者の血中ダイオキシン類濃度を測定した。1995年から1999年まで5年間連続して、血中ダイオキシン類を測定したAおよびBタイプの患者は5名で、その血中総ダイオキシン類濃度の平均値はそれぞれ、319、273、252、248および232 pg TEQ /gで減少傾向が認められた。

福岡油症患者5名および台湾油症患者3名より、それぞれ1982~1998年および1980~1995年の間に採取された血液を分析し、PCDFs およびPCBsの異性体含有量を求め、体内の減衰率を算出した。福岡油症患者において、ダイオキシン毒性の70%をしめる2,3,4,7,8-penta-CDFの体脂質当り濃度は、1969年に60 ppbであったものが、1997年では800 ppt に減少したものと推定される。その間、初めの15年間は半減期2.9年で、後半の15年間は半減期7.7年で減衰したものと考えられた。

5. 毒性発現機構に関する基礎的検討

1) コプラナー PCB による精巢 Leydig 細胞における HSP70 の誘導の isoform 特異性：

コプラナーPCBの毒性発現機構を解明する目的で、3,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PenCB) の精巢Leydig細胞におけるHeat shock protein 70 (HSP70) への影響を isoform の mRNAレベルで検討した。その結果、100 nM PenCB一時間処理によって、HSP70.1 が約10倍に、HSP70.2が約3倍に誘導されることがRT-PCRの結果より示唆された。HSP70.3については、検出されるものの、定量には至らなかった。このことから、HSP70 isoformの構成的発現には違いがあること、また、コプラナーPCBによるHSP70の誘導には、isoform選択性があることが明らかになった。PenCBによる分子シャペロンHSP70の誘導は環境汚染レベルのPenCBによって引き起こされることから、油症患者においては、より一層内分泌系への障害誘起因子となっている可能性が危惧され、毒性発現機構を解明する上で一つの重要な手がかりになると考えられた。

2) コプラナー PCB によるカルボニックアンヒドラーゼIII発現への影響：

コプラナーPCBやダイオキシンによるCYP1A1などの誘導的発現は、よく研究されているが、発現抑制についてはあまり分かっていない。当研究班では、コプラナーPCBが、ラット肝カルボニックアンヒドラーゼIII (CAIII) のタンパク質レベルの低下を引き起こす原因が、そのmRNAレベルの低下によることを明らかにしてきた。CAIIIは、筋肉にも高レベルに発現していることから、本研究では、コプラナーPCBによるCAIII発現抑制の臓器特異性について検討した。その結果 PenCB 10 mg/kg処理5日後のラット筋肉 CAIII mRNA レベルは、対照群に比べやや高いか、ほとんど変わらないことが明らかになった。このことから、PenCBによるCAIIIタンパク質レベルの著しい低

下は、肝臓に特異的であると考えられた。

3) コプラナー PCB 誘導性セレン結合性タンパク質の cDNA クローニング:

これまでの研究から、コプラナー PCB は肝セレン結合性タンパク質の発現量を著しく増加させることを明らかにしている。しかし、本タンパク質の生理的機能は、未解明な点が多く、この増加の毒性学的意義は明かではない。本年度は、本タンパク質の生理的機能を解明する研究の一環として、cDNA の塩基配列を決定し、それより推定されるアミノ酸配列から、その生理的機能を考察した。決定したアミノ酸配列の中には、酸化還元に関わるタンパク質に認められるモチーフ、bis (cysteiny) sequence motif の存在が示唆された。このことから、本タンパク質は細胞内において、酸化還元に関わる機能を有するタンパク質の 1 つである可能性が考えられた。

4) PCBs による気道上皮細胞のアポトーシス誘導に関する検討:

PCB、PCDF による気道上皮細胞の傷害とアポトーシスとの関連について検討を加えた。ヒト気道上皮細胞株、A549 を使用し、各種濃度の PCBs を添加して培養したのち、trypan day exclusion test により細胞死の誘導を検討した。また、抽出した細胞質 DNA において DNA ladder formation と p53 蛋白の誘導を検討した。0.2~25 μ g PCB/ml では細胞死も DNA ladder formation もみられなかった。対照として用いた末梢血単核細胞では、PCBs 添加により低濃度で細胞死と DNA ladder formation も観察された。また、1-NP では薬剤接触の 24 時間後に p53 蛋白の発現が確認されたが、PCBs、PCDF および TCDD では p53 蛋白の発現はみられなかった。以上の結果より、気道上皮は PCBs 刺激に対して不応性

であり、PCBs の作用を生理的条件下に観察するには細気管支 Clara 細胞の形質を有した細胞株の使用が必要なこと、ならびに PCBs による apoptosis には p53 の関与は大きくないことが推測された。

5) ラット肝における 2,5,3',4'-四塩素化ビフェニルメチルスルホン体生成酵素の解明:

2,5-二塩素置換 PCB の 3-メチルスルホン (MeSO₂) 体は、肝へ特異的に蓄積し、母化合物より遙かに強いフェノバルビタール型チトクローム P450 誘導能を有していることが明らかになっている。従って、このタイプの代謝物の生成機構を明らかにすることは、毒性学的に重要と考え、検討を行った。3-MeS-及び 4-MeS-2,5,3',4'-TCB を基質として、ラット肝ミクロゾームによる S-酸化反応を調べ、さらに、この酸化経路に P450 あるいはフラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) のどちらが強く関与しているかを明らかにするため、MeSO₂ 体の生成に及ぼす P450 誘導剤及び両酵素の阻害剤の影響を調べた。その結果、2,5,3',4'-TCB の MeS 体から MeSO₂ 体への酸化経路において FMO よりは P450 が主に関与していることが明らかになった。

6) PCB 水酸化体の遺伝毒性:

油症発生当初の急性中毒の主要原因物質は PCDF と考えられているが、長い年月経過後の症状には PCDF や PCB だけでなく、それらの代謝物の影響なども含めて考える必要がある。そこで今回は、PCB の主要な代謝物である水酸化体の遺伝毒性をヒトリンパ球培養細胞の姉妹染色分体交換 (SCEs) 誘発性を指標として検討した。その結果、ある種の同族体は単独でも、また、遺伝毒性物質が共存する場合にも、SCEs 形成を高める作用を示した。

7) 培養神経細胞の神経栄養因子発現に及ぼすデキサメサゾンの効果:

PCB は体内の副腎皮質ホルモンレベルを変動させることが知られている。従って、神経に対する PCB の影響はホルモンレベル変動に基づく 2 次的効果である可能性がある。このような仮説の立証のためには、先ずホルモンが神経系に及ぼす影響を知ることが先決である。このような考えから、シュワン細胞の種々の神経栄養因子とその受容体の発現に対するデキサメサゾン (DEX) の効果を調べた。ラットのシュワン細胞の培養液中に 1 nM と 1 μ M の DEX を 3 日間加え、PO、NGF、NGFR、CNTF、CNTFR、GDNF および GDNFR の mRNA の発現をノーザンブロットにて検討した。その結果、DEX によって増加するものと、逆に低下するものが認められ、副腎皮質ステロイドの効果は神経栄養因子によって異なることが明らかとなった。

8) 油症検診者におけるクレアチン・ホスホカイネース上昇の意義:

油症検診者で認められたクレアチン・ホスホカイネース (CK) 上昇の要因の一つに、血液中 PCB 濃度が血清 CK 上昇の要因の一つである可能性を報告してきた。カネミ油症検診者の血液中 PCB 濃度は、CK 上昇群で有意に高値であった。しかし、PCQ 濃度は有意差を認めなかった。また、ラットを用いた動物実験では筋線維直径の減少と orthogonal array の増加が観察され、Caveolae 密度では差を認めなかった。PCB は筋細胞膜構成成分を変化させる可能性が考えられた。

C. 結 論

油症患者検診を通して患者の病的障害の把握に努めると共に、原因油摂取によって惹起される病状の抽出について検討を継続した。軽微ではあるが、油症患者には歯周および皮膚症状を中心とした病的

症状が依然として残存しており、中でも皮膚症状は体内 TEQ ないし PCB 濃度との相関性が最も高いことが示された。患者血中の NO 濃度の測定結果より、PCB による酸化ストレス増加の可能性が示唆されたが、顕著な変化ではなかった。また、患者における性腺刺激ホルモンの上昇とテストステロンの低下傾向が観察され、健康影響ならび後世代への影響を考える際に貴重な資料と考えられた。このことと関連して、本年度は事件発生直後より油症患者から出生した子供の性別を調査したが、男児と女児の割合に片寄は認められず、セベソでのダイオキシン汚染で報告されているような不均衡 (女児 >> 男児) は確認できなかった。最近 5 年間、連続して受診した患者体内の PCB 濃度を測定した結果、含有量の低下傾向が示され、症状の軽減傾向と符合するものと考えられた。毒性発現機構に関する基礎的検討からは以下のような成績を得た: 1) コプラナー PCB による HSP70 の誘導には isoform 選択性がある点並び、カルボニックアンヒドラーゼ III レベルの低下は、肝臓に特異的であることが明らかとなった。2) 気道上皮における PCBs の作用を生理的条件下に観察するには、細気管支 Clara 細胞の形質を有した細胞株の使用が必要なこと、並びに PCBs による apoptosis には p53 の関与は大きくないことが推測された。3) 内分泌観覧作用の主体である可能性がある PCB 代謝物の生成機構に関する検討を加え、2,5,3',4'-TCB の MeS 体から MeSO₂ 体への酸化経路において Flavin-containing monooxygenase よりも P450 が主に関与していることを明かにした。4) PCB 水酸化体の遺伝毒性をヒトリンパ球培養細胞の姉妹染色分体交換 (SCEs) 誘発性を指標として検討した。その結果、ある種の PCB 水酸化体は単独

でも、また、遺伝毒性物質が共存する場合にも、SCEs形成を高める作用があることを明かにした。5) 油症患者でクレアチン・ホスホカイネースの上昇が高頻度

に認められるのは、筋細胞膜にも何らかの変化が生じている可能性が推定された。これらの結果を基盤として、機構解明の展開が期待される。

分担研究報告書

1999年度の福岡県油症患者の皮膚症状の臨床的評価

分担研究者	古賀 哲也	九州大学大学院医学系研究科	皮膚病態機能学	助教授
	古江 増隆	九州大学大学院医学系研究科	皮膚病態機能学	教授
	中山 樹一郎	福岡大学医学部	皮膚科学教室	教授
研究協力者	桐生 美麿	福岡大学医学部	皮膚科学教室	
	旭 正一	産業医科大学	皮膚科学教室	

研究要旨 1999年度の福岡県油症患者一斉検診時の患者の皮膚症状について詳細な観察を行い、従来の皮膚重症度分類¹⁾²⁾にそって得たデータを統計学的に解析した。今回の調査の結果、近年の皮膚症状の自然軽快傾向がさらに明らかとなった。また、患者血中のPCBパターンでAパターンの患者のPCB濃度が数年前に比べて低下していることも明らかになった。このことより、油症患者の皮膚症状および血中PCB濃度がここ数年でさらに改善する可能性があることが示唆された。

A. 研究目的

油症発症後30年が経ち、油症患者の皮膚症状ならびに血中PCB濃度も自然軽快がみられている。一方、慢性期に新しいタイプの皮疹の出現の可能性も考えられる。1999年度の一斉検診時に得られた皮膚症状に関するデータの分析を行い、油症患者の皮膚症状の現状を詳細に把握することを目的とした。

B. 方法

1999年度の福岡県の福岡市、北九州市、久留米市で行われた油症患者の一斉検診時に得られた皮膚症状（面皰、座瘡、色素沈着など）の程度をそれぞれの患者で詳細に記載し、全患者での重症度分類¹⁾あるいはデータの点数化²⁾を行った。1999年度の受診者は73名（男性29名、女性44名）であった。

C. 結果

今回の分析結果より、皮膚重症度の軽快化がさらに著明になり（表1）、また皮膚重症度得点数では低い点数の患者が増加していた（表2）。一方、新しいタイプの皮疹はほとんど見られなかった。血中のPCBパターンの分析ではA、B、BC、Cパターンの各比率は従来とそれほどの差はみられなかったが、Aパターンの患者での血中PCB濃度が数年前と比べ明らかな低下を示した（表3）。

D. 考察

今回の一斉検診時の皮膚症状の解析により、近年の傾向である皮膚症状の軽化がさらに明らかとなった。また、血中PCB濃度も低下傾向が明らかとなった。現在の油症患者の皮膚症状は、大部分の患者がきわめて軽症化しており³⁾、1975年に作成された油症皮膚重症度評価試案²⁾

でも、必ずしも客観的な評価とならない場合が生じており、さらに健康者の高齢に伴う皮疹との鑑別が難しい場合もある。慢性期に適した簡明な新たな評価基準の作成の時期にきていると思われる。

E. 参考文献

- 1) 利谷昭治 他, 福岡医誌, **62**, 132 (1971).
- 2) 旭 正一 他, 福岡医誌, **66**, 629 (1975).
- 3) 中山樹一郎 他, 福岡医誌, **90**, 143 (1999)

表3 血中PCBパターン、血中PCB平均濃度、皮膚重症度得点数の相関性

パターン	1993年			1997年			1999年		
	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症度得点数	例数	平均濃度 (ppb)	平均重症度得点数
A	37	7.03	2.27	36	3.49	2.29 (n=35)	25	4.45	1.68
B	21	4.22	1.43	20	2.68	1.05 (n=19)	11	3.25	2.00
BC	1	1.60	1.00	4	2.65	2.00	5	2.32	1.20
C	30	3.27	1.30	29	2.19	1.14	32	2.66	1.34
計	89	5.04	1.72	89	2.85	1.62	73	3.34	1.55

分担研究報告書

油症患者の発症時からの皮膚症状の推移

分担研究者 渡辺 雅久 国立嬉野病院 皮膚科 医長
清水 和宏 長崎大学医学部附属病院 皮膚科学教室 講師
塚崎 直子 長崎大学医学部附属病院 皮膚科学教室 医員
片山 一朗 長崎大学医学部 皮膚科学教室 教授

研究要旨 患者の健康管理等を考える際、発症当時から皮膚症状の推移を整理することは有用であると思われる。そこで、座瘡様発疹、面皰、色素沈着の主要皮膚症状について、経年的な陽性率を調査した。その結果、面皰と歯肉の色素沈着が8～16年後でも比較的高い陽性率を示し、PCB貯留組織としての口腔粘膜組織の役割と、排泄経路としての毛嚢脂腺系の役割が示唆された。

A. 研究目的

事件発生から三十年が経過し、近年の検診の結果からも、患者の皮膚症状はほぼ寛解していると思われる。しかし、過去に類を見ない事例であり、発症当時から皮膚症状の推移を整理することは、患者の健康管理、あるいは今後類似の環境汚染問題が生じた場合の対応等を考えるときに必要であると思われる。

B. 方法

対象：長崎県の油症認定患者。

方法：発症後2年、4年（±1年）、8年（±2年）、16年（±4年）の4つの時期の皮膚症状（座瘡様皮疹、面皰、顔面・爪および歯肉の色素沈着）が検診カルテから確認できる患者を抽出し、それぞれの症状の陽性率を算出する。

C. 結果

上記に該当する油症患者数は77例（男性30名、女性47名）であった。各症状の陽性率は表に示す。

D. 考察

発症直後には大半の患者に何らかの皮膚症状がみられた。とくに、面皰と爪の色素沈着は約7割の患者に認められている。その後、各症状とも経年的に減少しているが、面皰と歯肉の色素沈着は8年後の時点でも比較的高い陽性率を示している。歯肉の色素沈着については、数年後から陽性になる症例があり、4年後がピークになっている。その後減少しているとはいえ、平成11年度の検診でも16.3%の陽性率を示しており、PCBなどの有害物質が歯肉組織に貯留しやすいことが推測される。また、面皰も同年度の陽性率は24.4%で、PCB排泄経路としての毛嚢脂腺系の役割を示しているものと思われる。

表. 皮膚症状陽性率(%)

症状	2(年後)	4	8	16	
AC	41.2	28.6	1.3	0	
CM	68.8	33.8	27.3	11.7	
Pig	爪	70.1	42.9	7.8	5.2
	顔面	40.3	22.1	2.6	3.9
	歯肉	33.8	40.3	20.8	18.2
	なし	19.5	35.1	71.4	75.3

AC:座瘡痒発疹 CM:面皰 Pig:色素沈着

分担研究報告書

熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究

分担研究者 赤峰 昭文 九州大学歯学部 歯科保存学第二講座 教授
橋口 勇 九州大学歯学部 歯科保存学第二講座 助手

研究要旨 平成11年度の福岡県における油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象に、歯周炎ならびに口腔内色素沈着の罹患率を調べた結果、いずれも健常者に対して高い割合を示した。しかし、平成10年度の一斉検診時の結果と比べるとその割合は低下しており、PCB等の影響は依然として残っているものの、口腔内の臨床症状は改善されつつあることが示唆された。

A. 研究目的

油症患者における最も顕著な口腔内所見として口腔粘膜の色素沈着が挙げられる。また、一斉検診時に歯周疾患の異常を訴える油症患者が比較的多い。これらのことより、油症患者の歯周疾患ならびに、口腔内色素沈着の罹患状況を調査し、歯周組織に及ぼすPCB等の影響について検索すると共に色素沈着に与える影響についても検討を加える。

B. 方法

平成11年度の福岡県油症一斉検診時に歯科を受診した油症認定患者を対象として、視診やX線診と同時に歯周ポケット診査を行った。歯周ポケット診査はRamfjordが提唱している方法に準じて行った。

C. 結果

平成11年度に歯科を受診した油症認定患者は、男性28名、女性44名、計72名であった(表1)。

主訴としては、歯周疾患の異常を訴えるものが最も多く20名(歯肉出血9名、歯肉腫脹6名、歯牙挺出感5名)で、ついで

表1 油症患者の年代別受診者数

年代	男性	女性	計
20代	0 (0)	1 (1)	1 (1)
30代	2 (2)	1 (1)	3 (3)
40代	0 (0)	1 (1)	1 (1)
50代	4 (4)	8 (8)	12 (12)
60代	11 (11)	15 (14)	26 (25)
70代	7 (5)	14 (14)	21 (19)
80代	4 (2)	4 (1)	8 (3)
計	28 (24)	44 (40)	72 (64)

() : 歯周ポケット診査対象歯が少なくとも1歯以上残存している患者数

歯牙疼痛(5名)と義歯不適合(5名)の訴えが多かったが、口腔内色素沈着による審美障害の訴えはなかった。

歯周ポケット診査において3mm以上のいわゆる病的歯周ポケットを1歯でも有している患者は、無歯顎患者および歯周ポ

表2 3 mm 以上の歯周ポケットの分布状態

罹患歯数		0		1		2		3		4		5		6		計
年代	性別	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性	(名)
		20代	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
30代	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
40代	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
50代	2	1	1	0	0	5	0	2	1	0	0	0	0	0	0	12
60代	3	5	2	5	2	3	3	1	0	0	0	0	0	1	0	25
70代	2	0	2	6	0	2	1	4	0	2	0	0	0	0	0	19
80代	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3
計(名)	8	6	7	11	3	12	4	8	1	3	0	0	1	0	64	

表3 部位別の3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙数

部位		6	1	4	4	1	6	計
男性	罹患歯数	7	6	9	7	3	3	35
	総被検歯数	15	17	18	21	20	14	105
	%	46.7	35.3	50.0	33.3	15.0	21.4	33.3
女性	罹患歯数	19	8	18	12	4	11	72
	総被検歯数	30	30	30	36	34	31	191
	%	63.3	26.7	60.0	33.3	11.8	21.4	37.7
計	罹患歯数	26	14	27	19	7	14	107
	総被検歯数	45	47	48	57	54	45	296
	%	57.8	29.8	56.3	33.3	12.9	31.1	36.1

ケット診査対象歯を全て喪失している患者8名を除く64名中50名(78.1%)と高い割合を示した(表2)。

同様に3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙は、296の総被検歯のうち107歯(36.1%)であった。また3 mm 以上の歯周ポケットを有する歯牙の割合を部位別に比較すると、右側上顎第1大臼歯が57.8%と最も高い値を示し、以下左側上顎第1小臼歯(56.3%)、右側下顎第1小臼歯(33.3%)、左側下顎第1大臼歯(31.1%)、左側上顎中切歯(29.8%)、右側下顎中切歯(12.9%)の順であった(表3)。

口腔粘膜に色素沈着を有する者は男性17名(60.7%)、女性19名(43.2%)、計36名(50.0%)で、男性の方が高い発現傾向を示した。また、60歳未満の患者では17名中14名(82.4%)に色素沈着が認められたのに対し、60歳以上では55名中22名(40.0%)にしか認められず、加齢と共に色素沈着の発現率は低下していた(表4)。部位別にみると、歯肉の色素沈着が最も多く、次いで頬粘膜、口蓋粘膜の順で認められたが、口唇には観察されなかった。色素沈着の程度をみると、+が最も多く、以下±、++の順であった。

表4 色素沈着を有する患者数

年代	性別		計 (%)
	男性	女性	
20代	0	1	1 (100.0)
30代	1	1	2 (66.6)
40代	0	1	1 (100.0)
50代	3	7	10 (83.3)
60代	8	5	13 (50.0)
70代	3	4	7 (33.3)
80代	2	0	2 (25.0)
計	17	19	36 (50.0)

%は各年代の受診患者数に対する百分率

D. 考 察

3 mm 以上のいわゆる病的歯周ポケットを1歯でも有している患者の割合は、78.1%と平成6年度(93.2%)¹⁾、平成8年度(85.1%)²⁾、平成10年度(97.2%)³⁾に比較して低かった。とくに平成10年度に比較して20%近く低下しており、わずか1年でこのように急激に歯周ポケットの発現率が減少する機序に関しては不明である。しかし比較的浅い歯周ポケットは、外科処置を行わなくてもブラッシングを行うことで歯肉の炎症が消退し、その結果歯周ポケットの深さが減少することは臨床の場でよく経験する。平成10年度油症一斉検診における油症患者の総被検歯349歯のうち4 mm以上の歯周ポケットを有する歯牙は、87歯(24.9%)であり³⁾、大部分の歯牙は浅い歯周ポケットを有していた。加えて、今回の検診結果や過去の報告^{1) 2) 3)}にも記してある様に、歯周ポケットはプラークコントロールの困難な臼歯部の歯牙で多く発現していることから、油症患者においても歯周ポケットの成立の直接の原因としてはプラークが考えられる。以上のことより、ブラッシングあるいは簡単な歯石除去等の処置によって、歯周ポケットが浅くなっ

た可能性が考えられる。あるいは、平成10年度においては、歯周ポケット診査を受けた患者一人当たり4.9本の診査対象歯牙を有していたが、平成11年度では一人当たり4.6本と減少していたことより、歯周炎あるいは齲蝕の進行等の理由で、歯周ポケットを有する歯牙が抜歯された可能性も考えられる。今後、この点に関しても留意して患者の検診を行う必要があると思われる。

今回の検診において口腔内の色素沈着の発現率は50.0%であり、過去の報告^{2) 3)}と同様に発現率は女性に比べて男性で高く、また60歳以上の患者に比較して60歳未満の患者で高い傾向を示した。今回得られた発現率50.0%という値は、平成8年度(57.3%)、平成10年度(58.2%)に比べて減少していた。色素沈着の消失に関する詳細な機序に関しては不明な点が多いが、眼科や皮膚科領域における報告^{4) 5)}においても、特異的な色素沈着は経年的に減少していることから、体内に蓄積されたPCB等の原因物質が減少していることを反映している可能性が考えられる。あるいは、患者の有する歯牙が減少したことも関与しているのかもしれない。過去に報告したように^{2) 3)}、残存歯牙数が減少