

図4 検診年度別受診者（認定群）の血中PCB幾何平均濃度

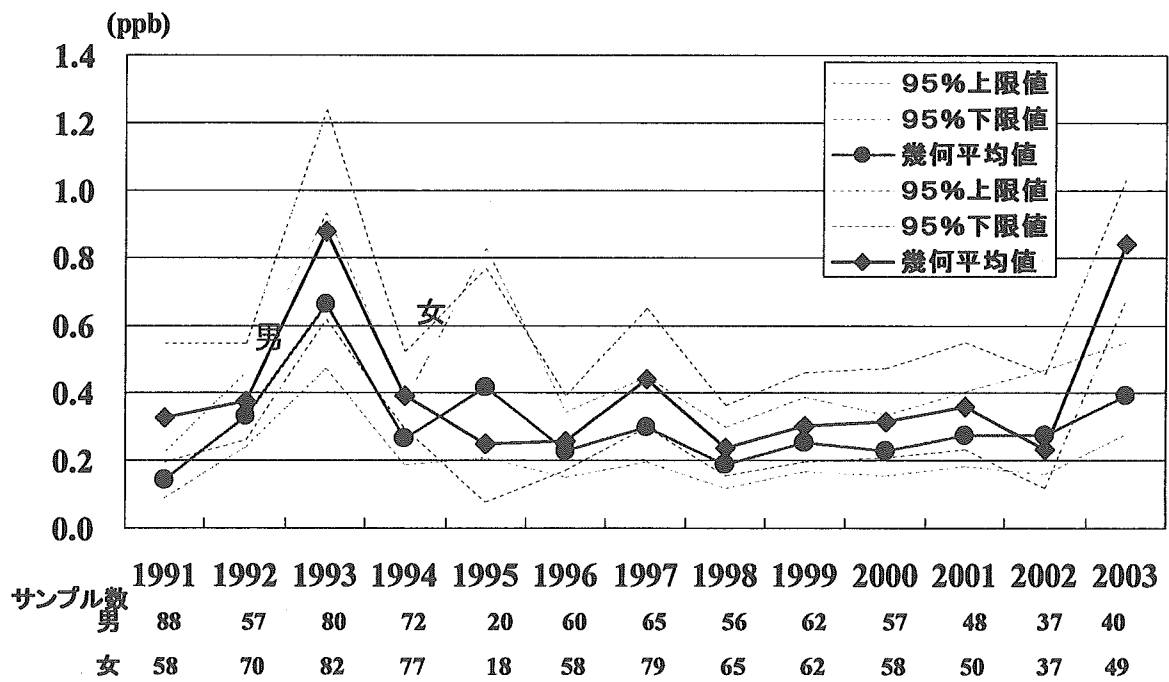


図5 検診年度別受診者（認定群）の血中幾何平均PCQ濃度

分担研究報告書

油症患者および一般住民体内の PCDF 類実態調査

分担研究者	飯田隆雄	福岡県保健環境研究所	保健科学部長
研究協力者	中川礼子		生活化学課長
	片岡恭一郎		情報管理課長
	松枝隆彦		専門研究員
	梶原淳睦		専門研究員
	平川博仙		専門研究員
	堀 就英		研究員
	飛石和大		研究員
	芦塚由紀		主任技師
	安武大輔		主任技師
	小野塚大介		主任技師
	吉村健清		所長
	戸高 尊	厚生労働省	リサーチレジデント

研究要旨 血中ダイオキシン分析のため最新の技術と機器を導入して、血液 5g からダイオキシン類濃度を正確に測定できる分析法を確立した。この方法を用いて、油症患者血中ダイオキシン類全国調査（平成 14 年度 371 件、15 年度 343 件、16 年度 316 件）を行った。さらに平成 16 年度は対照群として福岡県内の一般住民 127 名の血液中ダイオキシン類の調査を行った。その結果、各年の油症患者の平均 Total TEQ は 136.4, 125.0, 126.1 pg/g lipid で一般住民の Total TEQ は 37.4 pg/g lipid であった。油症患者の平成 17 年度調査（約 350 件）については現在、測定中である。

A. 研究目的

油症は 1968 年に起こったダイオキシン類による日本で唯一の食中毒事件である。事件発生当時、約 14,000 人が被害を届け出た。一方、1984 年までに 1,860 人が油症患者として認定され、そのうち 1,500 人程度が生存されており福岡、長崎両県をはじめ関東以西の各都府県に居住している。治療と追跡調査のため全国で油症一斉検診が毎年行われ、400 人近

くの患者が受診している。油症の治療及び研究には患者体内に残留する油症の主要な原因毒物である PCDF をはじめとするダイオキシン類を正確に把握し追跡調査することが重要である。本研究では、油症患者全国調査（14 年度 371 件、15 年度 343 件、16 年度 316 件）の油症患者血中ダイオキシン類濃度を明らかにした。また、平成 15 年より油症診断基準に血中 PCDFs 濃度を取り入れて見直すという

国の方針に対応するため、ヒト血中に極微量存在するダイオキシン類の迅速・精密分析法の開発と実施体制の構築を行った。微量高感度分析では試料容器や実験器材による測定対象物質の吸着や測定を妨害する成分の溶出が検査結果に影響を及ぼす場合がある。このため油症患者の血中 PCB やダイオキシン類検査の採血に使用してきたガラス製真空採血管が製造中止になり、在庫のガラス製真空採血管が平成17年4月に使用期限を迎えたため、新たな採血容器へ切り替える必要が生じたが、使用器材の選定は慎重に検討する必要がある。現在、真空採血管はプラスチック製のものが一般的であるが、ダイオキシン類等の疎水性（非極性）の化学物質はプラスチック類に吸着する場合がある。そこでプラスチック製真空採血管中でのダイオキシン類の安定性を従来のガラス製真空採血管と比較検討した。

さらに、環境中に存在するダイオキシン等が食品を介して摂取されヒトの体内に蓄積されている。油症患者の診断のための基礎データを得るため、油症患者と同年齢群の一般住民の血中ダイオキシンレベルを明らかにする目的で福岡県内在住の60-70代の住民(127名)について血中ダイオキシン類調査を実施した。

B. 研究方法

1. 超高感度迅速分析法の信頼性確保

少量の血液試料から正確なダイオキシン類測定が出来る超高感度分析法確立と分析体制を構築するため、抽出、精製、及び検出測定の分析操作全般にわたって最新の機器と技術を導入し、様々な改善を行った^{1), 2)}。一方、試料の少量化、検査の高感度化に伴って、分析結果の信頼

性を確保するため分析試料 22 件につき操作ブランク試験 1 件、内部精度管理としてコントロール血清 1 件の分析を行った。

2. 採血器具および保存条件の検討

テルモ社プラスチック製真空採血管、ベノジェクトII真空採血管、ヘパリンナトリウム入りを用い5名から採血した血液の保存条件を検討した。保存条件は

- ① 4℃、5日
- ② 4℃、12日
- ③ -20℃、4日、4℃で1夜解凍
- ④ -20℃、4日、半解凍状態でガラス

容器に移し替え4℃で1夜解凍対照として従来から用いているガラス製真空採血管で採血し、4℃で5日保存した。

3. 血中ダイオキシン類調査

平成13年度は福岡県の油症検診受診者78名について血中ダイオキシン類を追跡調査した。さらに、全国の受診者を対象に平成14年度371名、平成15年度343名、平成16年度316名の油症検診受診者および平成16年度は患者の年齢に一致させた60-70代の一般住民127名について血中ダイオキシン類調査を実施した。平成17年度調査(約350件)については現在、測定中である。

C. 結果及び考察

1. 超高感度迅速分析法の確立と分析体制の構築

油症患者血中ダイオキシン類分析法の信頼性を確保するため、試料22件につき操作ブランク試験1件とコントロール血清1件の分析を行った。

1. 1 ブランク試験

定量精度を保つためには、ブランク値

は定量下限値の 1/10 以下にすることが望ましい。厚生労働省血中ダイオキシン類暫定分析法（暫定分析法）の定量下限値に準拠すると、血液 5g 中の T-PeCDD/DF、Hx-HpCDD/DF、OCDD/DF および Co-PCB の定量下限値の絶対量は 15fg、30fg、60fg および 150fg となる。油症血液検査と同時に行った 9 回連続のブランク試験結果（平均値）と暫定分析法の定量下限値との比較を図 1 に示す。定量下限値に対する各異性体のブランクレベルは、PCB#169 での 2% から OCDD での 111% と大きく変動した。OCDD はヒト血中濃度が高いこと、TEF が小さい TEQ に対する寄与も小さいことからブランク値はさほど問題にならないと考えられる。ブランクレベルの多くは 30% 以下であったが、2, 3, 7, 8-TCDD (53%)、1, 2, 3, 7, 8-PeCDD (74%)、1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD (58%)、OCDD (111%)、2, 3, 7, 8-TCDF (87%)、1, 2, 3, 7, 8-PeCDF (82%)、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF (88%)、PCB#77 (41%) はブランク値が定量下限値の 40% 以上となっており、分析ロットごとにブランク試験を行い、ブランク補正を行った。

1. 2 精度管理・クロスチェック

1. 2. 1 コントロール血清の分析

同一ロットの分析に対してコントロール血清（コンセーラ L）5g を分析した。表 1 に 9 回分のコントロール血清のダイオキシン類実測値を示す。変動係数は 10% 以下の良好な結果であった。

2. 採血器具および保存条件の検討

ガラス採血管で採血し、保存した試料の測定値を 100% とした時の各保存条件での異性体毎の回収率を表 2 に示した。異性体毎の回収率は 80.3-126.7% で低濃度の異性体で回収率の差が大きい

保存条件による吸着等の影響はないと考えられる。しかし、凍結することにより脂肪含量が約 20% 低下した。これまでガラス採血管は破損の恐れがあるので凍結させていないが、凍結用ガラスチューブやテフロン容器で血液を凍結保存した後に測定した場合には脂肪含量およびダイオキシン類の測定値に変化はなかった。従って、プラスチック製採血管で凍結した場合になんらかの原因により脂質含量が低下したものと推察される。これまで油症患者の血液は採血後分析までの間、ガラス採血管で 1 週間～1 ヶ月程冷蔵保存し、その後はテフロン容器で凍結保存している。今回、プラスチック採血管で 4℃、12 日間の保存で測定値に変化は見られなかったため、分析は採血後 1 週間以内に脂肪抽出を行うか、それ以上の保存はテフロン容器に分注し保存することとした。今後さらに長期的な安定性も検討する必要がある。

3. 血中ダイオキシン類の分析

表 3 に平成 13 年から 16 年までに実施した油症患者血中ダイオキシン類濃度の追跡調査結果を示す。また、平成 16 年度に福岡県で実施した一般住民の血中ダイオキシン類濃度も示した。表 3 から分かるように油症患者では一般住民と比べて、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF および 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF の 3 つの PCDF 同族体が特に高い。また、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の最大値は 4 年間を通して同一の患者であるが、1, 771、1, 890、1, 953 および 1, 642 pg/g lipid と、ほぼ、一定の値であった。

D. まとめ

血液 5g からダイオキシン類を迅速か

つ正確に測定できる分析方法を確立した^{1,2)}。さらに、分析データの信頼性を確保するためブランク試験、コントロール試験を実施し、分析法の改良を続けている。その結果、多数の再現性の高いデータを必要とするヒト汚染実態調査である油症のデータベース構築に対応することができた。また、血中ダイオキシン濃度を加えた改訂油症診断基準による未認定者の診断にも対応するものである。

本分析法を用いて、平成13年度に福岡県の油症患者78名の血中ダイオキシン類分析を試験的に行った。この分析法を更に改良して迅速化し、平成14年度(371名)、15年度(343名)、16年度(316名)の油症患者の血中ダイオキシン類調査を全国的に実施した^{3,4,5)}。さらに対照群との厳密な比較を行なうため、患者と同年齢群の60-70代の一般住民127名の調査を行なった。また、平成17年度調査(350名)は分析実施中である。

E. 参考文献

1. T. Todaka, H. Hirakawa, K. Tobiishi, T. Iida: New protocol for dioxin analysis of blood. *Fukuoka Acta. Med.* 2003, 94, 148-157.
2. T. Iida, T. Todaka: Measurement of

dioxin in human blood: Improvement of analytical method. *Industrial Health* 2003, 41, 197-204.

3. 飯田隆雄, 戸高 尊, 平川博仙, 飛石 和大, 松枝隆彦, 堀 就英, 中川礼子: 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.* 2003, 94, 148-157.

4. T. Iida, H. Hirakawa, T. Hori, T. Matsueda, K. Tobiishi, R. Nakagawa, T. Todaka: Follow-up survey of Dioxins and Related Chemicals in the Blood of Yusho Patients in 2002. 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2004). September 6-10, 2004, Berlin Germany

5. T. Iida, T. Todaka, H. Hirakawa, T. Hori, T. Matsueda, K. Tobiishi, R. Nakagawa, J. Kajiwara, D. Onozuka, D. Yasutake, T. Yoshimura, M. Furue: Follow-up survey of Dioxins and Related Chemicals in the Blood of Yusho Patients in 2003. 25th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs (Dioxin 2005). August 6-10, 2005, Toronto Canada

表1 コントロール血清中PCDDs、PCDFs及びノンオルソコプラナーPCB分析値の再現性

Lot. No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Mean	SD	MIN	MAX
2,3,7,8-TCDD	1.5	3.0	1.0	1.4	1.8	1.5	1.1	1.5	1.6	1.6	0.57	1.0	3.0
1,2,3,7,8-PeCDD	7.4	7.2	7.4	6.4	6.3	6.7	5.7	6.4	6.2	6.6	0.60	5.7	7.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8.4	7.7	7.7	7.3	6.6	7.1	6.2	6.7	7.2	7.2	0.68	6.2	8.4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	58.8	54.0	51.9	54.2	53.5	51.1	55.6	52.1	50.5	53.5	2.55	50.5	58.8
1,2,3,7,8,9-HxCDD	9.1	9.4	11.4	9.6	9.2	11.1	9.2	9.0	8.5	9.6	0.97	8.5	11.4
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	177.4	174.5	190.9	165.9	186.5	156.3	152.8	153.1	142.6	166.7	16.66	142.6	190.9
OCDD	1803.6	1693.7	1700.9	1526.7	1661.2	1655.9	1673.7	1656.3	1580.9	1661.4	77.17	1526.7	1803.6
2,3,7,8-TCDF	1.2	ND	ND	1.5	ND	1.2	ND	1.0	1.2	1.2	0.19	1.0	1.5
1,2,3,7,8-PeCDF	ND	ND	ND	1.3	ND	ND	ND	ND	ND	1.3	1.3	1.3	1.3
2,3,4,7,8-PeCDF	7.3	6.2	5.4	5.4	5.0	6.5	5.5	5.2	5.9	5.8	0.72	5.0	7.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	7.0	6.8	6.9	6.7	6.3	8.1	7.0	6.5	6.8	6.9	0.51	6.3	8.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.9	7.4	6.7	6.6	5.7	7.5	6.7	7.0	7.0	6.8	0.52	5.7	7.5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND	ND	ND	ND	2.2	ND	ND	ND	ND	2.2	2.2	2.2	2.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	14.8	15.0	14.0	15.7	14.5	16.3	14.8	14.1	15.0	14.9	0.73	14.0	16.3
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
344'5-TCB(#81)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
33'44'-TCB(#77)	36.4	38.7	39.3	42.7	38.0	44.0	37.6	40.8	39.4	39.7	2.46	36.4	44.0
33'44'5'-PenCB(#126)	21.2	22.5	20.6	22.4	23.0	23.6	23.3	22.5	21.4	22.3	1.01	20.6	23.6
33'44'5'5'-HxCB(169)	13.6	17.3	16.7	17.0	17.5	17.2	15.4	17.4	16.4	16.5	1.27	13.6	17.5
Total PCDD	2066.2	1949.4	1971.2	1771.6	1925.0	1889.8	1904.4	1885.1	1797.4	1906.7	88.5	1771.6	2066.2
Total PCDF	42.6	41.4	39.0	42.2	38.7	45.1	40.1	39.3	41.4	41.1	2.06	38.7	45.1
Total PCDD/PCDF	2108.8	1990.8	2010.2	1813.9	1963.7	1934.8	1944.5	1924.4	1838.8	1947.7	88.4	1813.9	2108.8
Total Coplanar PCB	76.2	83.5	81.6	87.1	83.5	89.8	81.3	85.7	82.2	83.4	3.88	76.2	89.8
Total	2185.0	2074.3	2091.8	1900.9	2047.2	2024.6	2025.8	2010.1	1921.0	2031.2	85.9	1900.9	2185.0
◆【WHO-98】◆													
T PCDDs-TEQ	18.5	19.2	17.6	16.7	17.0	16.9	15.6	16.4	16.0	17.1	1.16	15.6	19.2
T PCDFs-TEQ	5.5	5.0	4.5	4.6	4.3	5.3	4.6	4.4	4.8	4.8	0.42	4.3	5.5
T PCDDs/PCDFs-TEQ	24.0	24.2	22.1	21.3	21.2	22.2	20.2	20.8	20.8	21.9	1.41	20.2	24.2
T Non-ortho PCBs-TEQ	2.3	2.4	2.2	2.4	2.5	2.5	2.5	2.4	2.3	2.4	0.11	2.2	2.5
T Mono-ortho PCBs-TEQ													
T Coplanar PCBs-TEQ	2.3	2.4	2.2	2.4	2.5	2.5	2.5	2.4	2.3	2.4	0.11	2.2	2.5
Total TEQ	26.3	26.6	24.3	23.7	23.7	24.8	22.7	23.2	23.2	24.3	1.38	22.7	26.6
脂肪含量 (%)	0.282	0.279	0.287	0.276	0.278	0.260	0.281	0.268	0.282	0.277	0.01	0.260	0.287

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.

表2 各保存条件でのダイオキシン類異性体の回収率

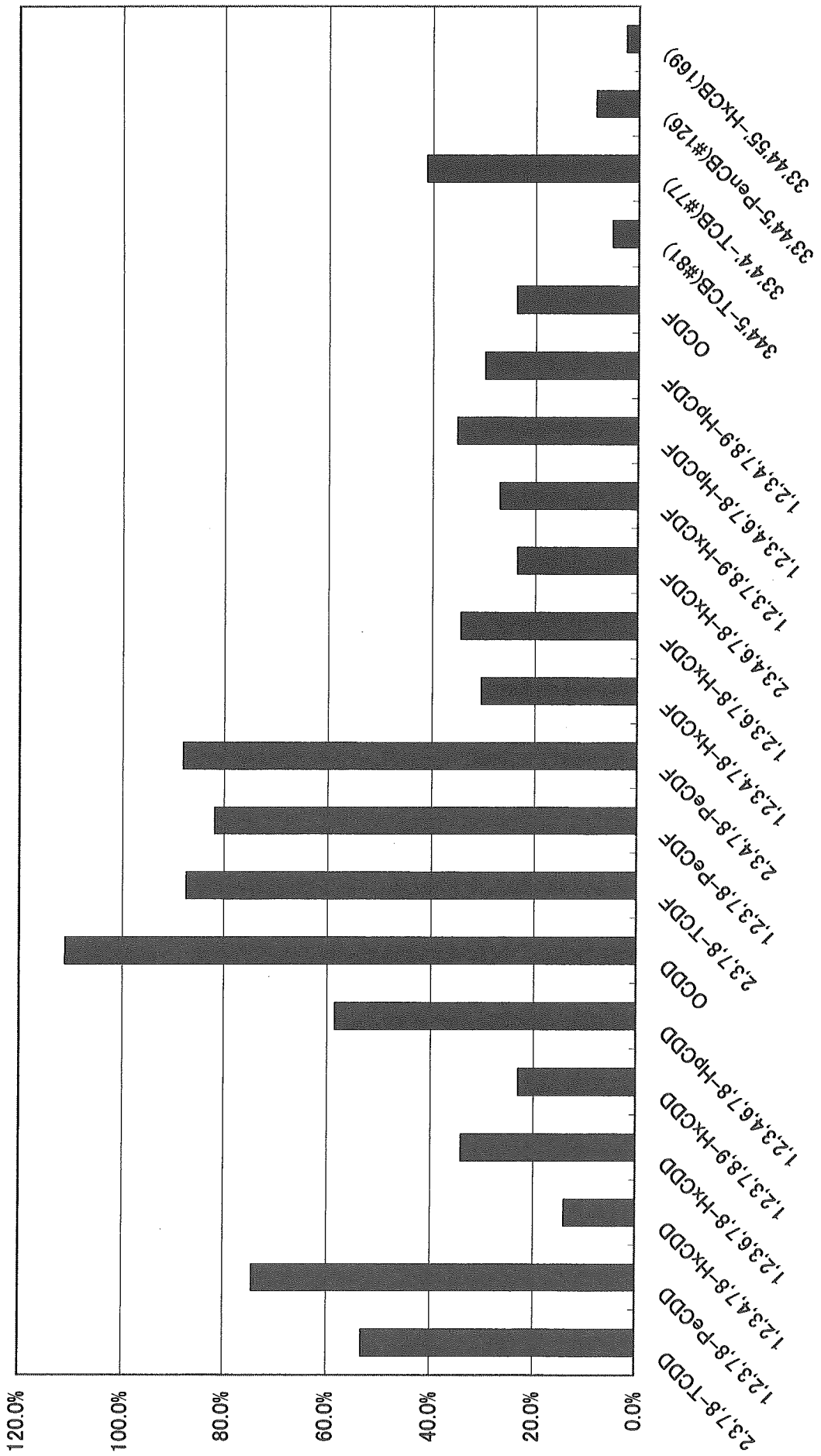
	ガラス	①PT	②PT	③PT	④PT
	5日冷蔵	5日冷蔵	12日冷蔵	4日冷凍	4日冷凍
脂肪含量	100%	99.6%	103.2%	80.3%	79.3%
2,3,7,8-TCDD	100%	109.1%	118.1%	98.8%	104.2%
1,2,3,7,8-PeCDD	100%	101.1%	103.2%	89.8%	98.0%
1,2,3,4,7,8-HxCDD	100%	102.8%	114.4%	94.9%	96.2%
1,2,3,6,7,8-HxCDD	100%	99.8%	108.8%	80.3%	81.3%
1,2,3,7,8,9-HxCDD	100%	98.6%	106.8%	104.5%	96.6%
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100%	95.8%	102.9%	86.3%	92.8%
OCDD	100%	97.4%	103.9%	97.0%	102.6%
2,3,7,8-TCDF	100%	98.2%	92.6%	91.7%	92.2%
1,2,3,7,8-PeCDF					
2,3,4,7,8-PeCDF	100%	100.2%	101.1%	99.6%	100.1%
1,2,3,4,7,8-HxCDF	100%	98.8%	104.9%	116.8%	126.7%
1,2,3,6,7,8-HxCDF	100%	101.2%	110.2%	95.6%	104.6%
2,3,4,6,7,8-HxCDF					
1,2,3,7,8,9-HxCDF					
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100%	—	103.4%	81.5%	102.8%
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF					
OCDF					
344'5-TCB(#81)					
33'4'4'-TCB(#77)					
33'44'5-PeCB(#126)	100%	95.6%	109.0%	99.7%	102.8%
33'44'55'-HxCB(169)	100%	100.5%	111.5%	98.8%	100.3%
2'344'5-PeCB(#123)	100%	81.2%	82.5%	78.4%	71.6%
23'44'5-PeCB(#118)	100%	103.6%	103.1%	92.1%	89.4%
2344'5-PeCB(#114)	100%	104.4%	110.5%	101.5%	103.7%
233'44'-PeCB(#105)	100%	106.4%	104.3%	94.1%	91.4%
23'44'55'-HxCB(#167)	100%	108.1%	114.5%	102.9%	93.7%
233'44'5-HxCB(#156)	100%	109.0%	115.2%	98.9%	92.7%
233'44'5'-HxCB(#157)	100%	105.3%	114.1%	100.9%	90.9%
233'44'55'-HpCB(#189)	100%	99.6%	105.7%	92.7%	77.7%
Total PCDD	100%	97.4%	104.0%	96.0%	101.5%
Total PCDF	100%	98.7%	106.4%	102.2%	104.1%
Total PCDD/PCDF	100%	97.5%	104.1%	96.1%	101.5%
Total Non-ortho PCBs	100%	97.9%	109.1%	101.5%	106.9%
Total Mono-ortho PCBs	100%	105.1%	107.3%	95.2%	90.5%
Total Coplanar PCB	100%	97.9%	109.1%	101.5%	106.9%
Total	100%	97.5%	104.6%	96.7%	102.1%

表3 油症患者血中のPCDDs, PCDFs 及びノンホルゾブナラナーPCB濃度 (2001-2004)

Congeners	Concentration (pg/g lipid)											
	Yusho patients						Normal controls					
	2001 (n = 78)		2002 (n = 279)		2003 (n = 269)		2004 (n = 242)		2004 (n = 127)			
Mean	SD	Min.	Max.	Mean	SD	Min.	Max.	Mean	SD	Min.	Max.	
2,3,7,8-TCDD	1.8	1.1	0.5	4.1	1.7	0.8	0.5	5.6	1.4	0.8	0.5	4.4
1,2,3,7,8-PeCDD	20.4	11.0	3.3	53.5	11.1	5.9	1.5	46.8	9.7	5.4	0.5	45.2
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.4	1.8	1.0	7.7	2.9	1.8	1.0	10.8	2.6	1.6	1.0	8.5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	56.7	43.4	4.4	230.1	53.0	41.7	6.0	290.7	50.4	42.6	3.8	348.5
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.6	2.3	1.0	11.0	5.1	3.8	1.0	41.0	3.9	2.7	1.0	17.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	26.6	20.7	5.4	143.6	63.4	53.7	10.8	556.3	38.6	22.9	8.5	167.2
OCDD	667.7	750.5	137.5	6226.3	877.2	728.2	172.5	9158.6	763.3	438.9	147.6	3706.1
2,3,7,8-TCDF	1.8	2.5	0.5	14.4	1.4	0.9	0.5	6.3	1.2	0.7	0.5	4.9
1,2,3,7,8-PeCDF	1.1	0.9	0.5	4.2	0.9	0.8	0.5	6.3	0.8	0.7	0.5	5.6
2,3,4,7,8-PeCDF	256.1	315.3	6.7	1770.6	192.0	252.1	3.1	1889.7	176.2	240.2	2.6	1953.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	82.7	117.2	2.0	632.3	59.0	99.6	1.0	769.9	52.0	87.2	1.0	737.7
1,2,3,6,7,8-HxCDF	29.7	34.4	1.0	176.1	22.4	29.1	1.0	210.0	20.4	27.0	1.0	231.8
2,3,4,6,7,8-HxCDF	ND				ND				ND			
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	3.9	2.3	1.0	10.8	3.2	4.0	1.0	39.8	2.8	2.6	1.0	22.8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND				ND				ND			
OCDF	2.0	0.0	2.0	2.0	2.0	0.4	2.0	9.1	2.0	0.2	2.0	5.6
3,4,4',5'-TCB(81)	5.4	2.3	5.0	20.6	5.6	3.1	5.0	41.0	5.3	1.8	5.0	21.8
3,3',4',4'-TCB(77)	7.8	4.7	5.0	28.5	11.0	7.2	5.0	46.1	8.6	6.4	5.0	71.8
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	84.4	58.5	17.8	319.5	103.1	71.7	5.0	560.9	98.1	65.3	11.2	531.7
3,3',4,4',5',5'-HxCB(169)	207.1	166.0	31.0	964.0	200.0	154.5	12.7	1131.4	183.8	139.2	12.7	1115.6
Total PCDD	780	766	177	6423	1014	782	212	9802	870	470	181	3924
Total PCDF	381	461	18	2594	284	375	13	2744	259	352	12	2938
Total PCDD/PCDF	1161	840	308	6493	1299	866	232	9886	1129	602	242	3991
Total coplanar PCBs	305	168	66	1006	320	186	28	1220	296	168	37	1218
Total	1466	921	373	6822	1618	948	313	10294	1425	703	293	4933
PCDDs-TEQ	28.9	14.0	5.7	70.2	19.5	10.4	3.3	78.5	17.6	9.9	2.2	82.5
PCDFs-TEQ	139.8	171.8	4.1	966.7	104.6	137.9	2.1	1029.4	95.8	131.1	1.8	1074.4
PCDDs/PCDFs-TEQ	168.7	180.4	11.7	1036.9	124.1	146.7	5.4	1107.9	113.3	139.7	3.9	1156.9
Coplanar PCBs-TEQ	10.5	5.8	2.2	32.6	12.3	7.7	0.6	59.4	11.7	6.9	1.4	56.0
Total TEQ	179.3	180.5	13.9	1049.7	136.4	148.3	7.0	1126.1	125.0	141.2	5.5	1176.6
Lipid (%)	0.3	0.1	0.2	0.6	0.3	0.1	0.2	0.6	0.4	0.1	0.2	0.6
Age (years)	65.3	11.2	33.0	84.0	63.6	12.6	30.0	88.0	65.7	11.7	32.0	89.0

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; SD: standard deviation; TCDD: tetrachlorodibenzo-p-dioxin; TCDF: tetrachlorodibenzofuran; TEQ: toxic equivalent quantity.

図1 検出限界に対するブランクレベル



分担研究報告書

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/高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) による油症患者の血中 PCB 同族体及びダイオキシン類の一斉分析法の検討

分担研究者	飯田隆雄	福岡県保健環境研究所	保健科学部長
研究協力者	堀 就英		研究員
	中川礼子		生活化学課長
	片岡恭一郎		情報管理課長
	松枝隆彦		専門研究員
	梶原淳睦		専門研究員
	平川博仙		専門研究員
	飛石和大		研究員
	芦塚由紀		主任技師
	安武大輔		主任技師
	小野塚大介		主任技師
	吉村健清		所長
	戸高 尊	厚生労働省	リサーチレジデント

研究要旨 平成 15 年 9 月の油症診断基準の改定により血中ダイオキシン類濃度が診断基準に加えられた。このため、従来から油症診断基準の重要な所見とされている「血中 PCB 濃度および性状」と血中ダイオキシン類濃度を系統的に分析する方法を検討した。その結果、血中から検出される 70 種類の PCB 同族体を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/高分解能質量分析法 (HRGC/HRMS) により迅速・精密に分離分析できることが明らかになった。さらに、血中ダイオキシン類と血中 PCB が一回の分析操作で抽出精製され測定することが可能となった。この分析法を用いて油症患者の年齢に一致させた 127 名の一般人について個別に PCB 異性体の濃度を測定し、油症患者と一般人の異性体の存在比を比較した。

A. 研究目的

「血中 PCB 濃度及び性状の異常」は油症診断基準の重要な所見のひとつである。「PCB の性状」とは、PCB のガスクロマトグラムピークパターン (GC パターン) を示しており、その異常は一般人の PCB GC パターンと異なる油症患者

に特有の GC パターンをさしている。GC パターン法は、油症患者では血中 PCB GC クロマトグラムパターンの PCB#118 を主成分とするピークが相対的に低く、PCB#156 を主成分とするピークが相対的に高いことに基づいており、PCB#153 を主成分とするピークを基準

として、これに対する比を取ることで、油症患者と一般人の違いを非常に明確にすることができる。われわれは、これまでに、PCBのパックドカラムによるGCパターン法がPCB#118およびPCB#156のPCB#153に対する相対比で置き換えられることを明らかにしてきた¹⁾。すなわち、PCB#118、PCB#156およびPCB#153の3つのPCBを分離定量することで、PCB同族体パターン解析をより厳密に行うことができる。一方、我々は、全国の油症患者の血中ダイオキシン類(PCDD:7種、PCDF:10種、ノンオルソPCB:4種およびモノオルソPCB:8種)を測定している^{2,3)}。これらの異なるPCB分析(モノオルソPCB分析とPCB同族体パターンおよび総濃度分析)とダイオキシン類分析を統合的に行なうことができれば効率的である。本来、正確なPCB分析はPCBの同族体(209成分)の完全な分離分析を意味するが、完全なPCBの分離分析は最新の技術をもってしても非常に困難である。ヒト試料に検出されるPCBは70種類程度に限られているので、一回のHRGC/HRMSによる測定でダイオキシン類の一部である「モノオルソPCB」と「PCB同族体パターンおよびPCB濃度」の分析に必要なPCB#153を含むPCB同族体の分析を統合的に行うことは可能と考えられる。また、検診後できるだけ速やかにデータを確定するため、迅速で正確・精密な分析方法が必要である。

本研究では血中PCBのHRGC/HRMSによる異性体別分析方法の検討を行った。また試料クリーンアップ操作の効率化、迅速化を目的として多検体の自動連続精

製が可能なゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)を導入し、条件検討を行った。さらに、これらの検討結果をもとに、従来別個で行われていた血液中の「総PCB濃度および性状」測定、「モノオルソPCB濃度」測定及び「ダイオキシン類濃度」測定を一元化した系統的な分析法の確立を目的とした。本分析法を用いて、平成16年度油症一斉検診および油症患者の年齢に一致させた60-70代の一般人についての血中PCB分析を行ったので、この結果についても併せて報告する。

B.研究方法

1. 試料

平成16年度に福岡県内の油症一斉検診を受診した66名および油症患者の年齢に一致させた60-70代の一般人(127名)について血中PCB測定を実施した。

2. 試薬

n-ヘキサン、アセトン、ジクロロメタンはダイオキシン分析用(関東化学(株)製)を用いた。n-ノナン、PCDD/DF及びPCB標準品はWellington Laboratories社製を用いた。

3. 装置及び条件

GPCシステムはGLサイエンス(株)製を用いた。システム構成はオートサンプラー(MIDAS)、デガッシングユニット(DG660B)、送液ポンプ(PU614-F)、UVディテクター(UV702)、フラクションコレクター(FC693)及び汎用レコーダーである。GPCカラムはMSpak GF-310 4D(内径4.6mm、長さ150mm、昭和電工(株)製)を用いた。移動相はアセトンを、流速は0.1ml/minとした。

HRGC/HRMSにはHP6890ガスクロ

マトグラフ (Agilent 社製) /質量分析計 Auto Spec Ultima (Micromass 社製) を用いた。

HRGC/HRMS の測定条件は以下の通りである。

カラム: HT8-PCB (内径 0.25mm、長さ 60m、関東化学 (株) 製) を用いた。

カラム温度: 130°C (1.0min) - 20.0°C /min - 220°C (0min) - 3.0°C/min - 280°C (0min) - 20.0°C/min - 300°C (3.5min)

キャリアーガス (流量): ヘリウム (1.3ml/min)

注入口温度: 280°C

注入量: 1µl

インターフェース温度: 280°C

イオン源温度: 280°C

イオン化エネルギー: 40eV

加速電圧: 8kV

分解能: 10000 以上

4. 分析試料の調製

血液 5g を正確に量り取り、クリーンアップスパイクとして $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル標識の 2,3,7,8 位塩素置換体の PCDD/DF17 種類及びノンオルソ PCB 4 種類を各 50pg、さらに PCB の 3 から 10 塩素置換体 21 種類 (IUPAC#28、37、52、70、95、101、123、118、114、105、153、138、157、178、180、170、189、202、194、206、209) 各 500 pg を添加した。これを既報に従い精製を行った¹⁾²⁾。活性炭カラムの第 1 画分 (10% (v/v) ジクロロメタン/n-ヘキサン画分) を減圧濃縮した後、ガラス製マイクロバイアルに移し、室温常圧下クリーンベンチ内で濃縮乾固した。アセトン 100µl を加えてミキサーで攪拌、この 50µl を GPC 精製に供した。精製後の試料にシリンジスパイ

クとして $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル標識の 2,3,3',5,5'-pentaCB (IUPAC#111) 250pg を添加し、全量 50µl として HRGC/HRMS 測定試料とした。

C. 結果及び考察

1. GPC 及び HRGC/HRMS による血中 PCB 分析法の検討

PCB には 1 から 10 塩素化物の 209 種類の異性体が存在する。血液抽出物の活性炭カラム第 1 画分 (以下 PCB 画分) には、強い共平面性を有するいわゆるノンオルソ PCB (4 種) を除く大部分の PCB が含まれるので、本画分を分析することで血中 PCB の性状を調べることができる。但し、この画分には脂肪族炭化水素類が含まれており機器分析上の妨害となるため、通常何らかの精製を追加して行う必要がある。既報¹⁾²⁾では、共平面性化合物に対して強い吸着力を有する活性炭分散シリカゲルを用い、PCB 画分に含まれるモノオルソ体 8 種類を分離し測定している。しかし、本研究ではモノオルソ体に加え非共平面性の PCB までを網羅する必要があるため、新しい精製方法を検討する必要があった。分子篩効果による分離法である GPC は既に食品中残留農薬分析等に適用例も多く、環境分析では PCB 分析に用いた報告もある⁴⁾。また、システム構築により多検体を連続して半自動的に精製することが可能であることから、血液試料の効率的かつ効果的な精製法として条件検討を行った。

まず PCB 標準品 (3 から 10 塩素化物) の溶出挙動を調べた結果、移動相の流速を 0.1ml/min に設定した場合、PCB の溶出は注入後 22 分から始まり、25~26 分付近で溶出が最大となって減少に転じ、

30 分までには完了することがわかった。PCB の塩素数による溶出パターンの違いはほとんど認められなかった。次に実際の血液試料から得られた活性炭カラム第 1 画分を同条件で注入、溶出させた。その結果、妨害成分（マトリックス成分）の溶出は PCB よりも早く、注入開始から 21 分で始まり、22～23 分で最大となって、24 分には完了することがわかった。そこで、注入開始から 23 分までを捨て（ドレイン）、それ以降を測定試料として回収すれば、PCB の回収率に大きな影響を与えない範囲内で大部分のマトリックス成分を分離除去でき、測定が可能になると考えられた。

このようにして調製した GPC 精製試料の測定結果は、全設定質量数及び全走査時間におけるロックマスチャンネルに妨害ピークやベースラインの変動は認められず、良好なクロマトグラムが得られた。特に油症診断上重要である 2,3',4,4',5'-PeCB (#118、パックドカラム分析におけるピーク No.1 に相当)、2,2',4,4',5,5'-HxCB (#153、ピーク No.2 に相当) 及び 2,3,3',4,4',5'-HpCB (#156、ピーク No.5 に相当) に相当するピーク形状、その周辺ピーク（ヒト試料に検出される 66 種類の PCB に相当）との分離性及び当該ピークの定量性のいずれも良好であった。また、全操作ブランクも定量値に影響を与えない範囲内であった。全操作回収率は 80～90%（5 塩化物ベース）と良好であった。シグナル/ノイズ比（S/N 比）=3 に相当する量を標準品のクロマトグラムから求めた定量限界値は血液中ダイオキシン類分析ガイドラインにおける目標定量下限値（0.03pg/g）を満足していた。

2. 平成 16 年度油症一斉検診受診者と一般人の血中 PCB 分析とパターン解析結果

油症受診者 66 名と一般人 127 名の分析結果を表 1 にまとめた。66 名の内訳は認定患者 37 名、未認定者 29 名であった。PCB 分析とパターン解析の結果、認定患者 37 名のうち 10 名は A パターンに、7 名が B パターンに、5 名が BC パターンに、15 名が C パターンに分類された。未認定者は 2 名が B パターンに、残りの 27 名は C パターンに分類された。総 PCB 濃度は A パターン（10 名）で 1.01～5.79ppb（平均 2.95ppb）、B パターン（9 名）では 0.53～2.58ppb（平均 1.31ppb）、BC パターン（5 名）で 0.12～1.14ppb（平均 0.64ppb）、C パターン（42 名）で 0.06～2.48 ppb（平均 0.95ppb）の範囲であった。一方、一般人の血中 PCB 濃度は 0.52～4.60ppb（平均 1.39 ppb）であった。PCB#118、PCB#156 および PCB#153 の 3 つの PCB 同族体の存在比を図 1 に示した。油症患者は PCB#118 が低く、PCB#156 が高い特徴的なパターンを示している。

D. まとめ

GPC 装置でクリーンアップ操作を行うことにより、血中 PCDD、PCDF およびノンオルソ PCB 分析と同時に、モノオルソ PCB 分析と PCB パターン並びに総濃度の分析が系統的に行えるようになった。その結果、モノオルソ PCB を含むダイオキシン類、PCB 濃度および PCB パターンのすべての油症診断、追跡調査のデータを同時に確定することが出来るようになった。

一般人 127 名と平成 16 年度油症一斉

検診受診者 66 名の血中 PCB 濃度を比較したところ、油症患者の年齢に一致させた 60-70 代の一般人の総 PCB 濃度レベルに対し油症患者の A パターンの総 PCB 濃度レベルは約 3 倍であった。PCB 同族体の存在比を比較すると油症患者は一般人に比べ PCB#118 が低く、PCB#156 が高い特徴的なパターンを示した。

E. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

F. 参考文献

1) 中川礼子、芦塚由紀、堀 就英、平川博仙、飛石和大、飯田隆雄：血中 PCB

パターン判定における従来法と異性体分析法の同等性について、福岡医誌 94：144-147, 2003.

2) 飯田隆雄、戸高 尊、平川博仙、飛石和大、松枝隆彦、堀 就英、中川礼子：油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査（2001 年）。福岡医誌 94：126-135, 2003.

3) Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Iida T: New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Acta Med. 94：148-157, 2003.

4) 劔持堅志他：第 11 回環境化学討論会要旨集 P164-165, 箱根町, 2002 年 6 月 3 日～5 日.

図1 油症患者と一般人のPCB異性体の濃度比較

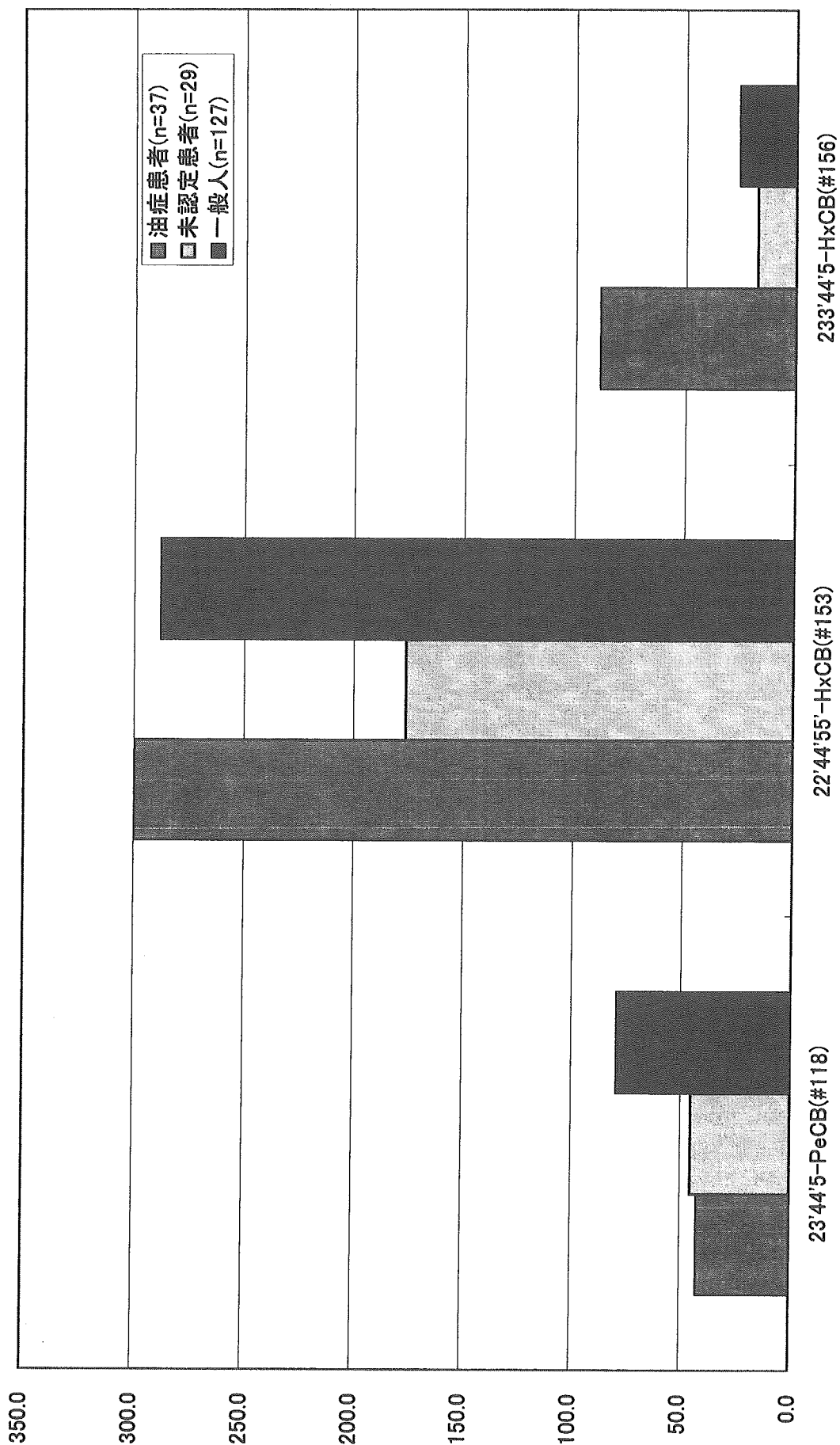


表1 油症患者及び一般人の血中のPCB濃度 (pg/g)

	油症患者 (n=37)				未認定患者 (n=29)				一般人 (n=127)			
	平均	標準偏差	最小	最大	平均	標準偏差	最小	最大	平均	標準偏差	最小	最大
245-TrCB(#29)	0.1	0.0	0.1	0.2	0.1	0.0	0.0	0.2	0.1	0.1	0.0	0.3
244'-TrCB(#28)	6.3	3.8	2.2	19.2	6.6	3.9	1.4	17.5	8.5	6.2	2.3	43.3
344'-TrCB(#37)	1.0	1.5	0.0	7.8	1.1	1.2	0.0	4.7	0.0	0.0	0.0	0.0
22'55'-TeCB(#52)	4.4	2.2	1.5	12.5	4.3	2.5	1.2	12.5	4.1	2.6	1.3	16.1
22'45'-TeCB(#49)	1.1	0.4	0.5	2.7	1.1	0.5	0.4	2.3	1.0	0.4	0.3	2.3
22'44'-TeCB(#47)	2.1	0.7	1.0	4.7	2.0	0.9	0.9	4.2	1.9	0.6	0.8	4.6
22'35'-TeCB(#44)	1.5	0.4	0.7	2.5	1.6	0.6	0.5	2.9	1.5	0.5	0.3	3.3
23'46'-TeCB(#71)	0.7	0.3	0.0	1.5	0.7	0.4	0.1	1.9	0.6	0.2	0.0	1.2
23'45'-TeCB(#63)	0.3	0.2	0.1	0.8	0.3	0.3	0.0	1.0	0.5	0.3	0.1	2.0
244'5'-TeCB(#74)	33.7	36.0	0.0	165.3	37.6	29.4	0.1	132.3	63.4	36.4	12.1	235.0
23'45'-TeCB(#70)	1.0	0.3	0.5	1.7	1.0	0.4	0.4	2.1	0.8	0.3	0.2	2.2
23'44'-TeCB(#66)	4.9	3.7	1.1	17.6	5.3	4.6	0.8	18.8	7.7	6.6	1.4	40.2
233'4'-/2344'TeCBs(#56/60)	2.0	1.2	0.4	4.7	2.0	1.6	0.3	6.1	2.9	2.6	0.5	16.2
22'35'6'-PeCB(#95)	2.8	1.3	1.0	6.9	2.6	1.2	0.7	5.7	2.7	1.3	0.9	9.5
22'355'-PeCB(#92)	2.0	1.5	0.3	7.3	1.8	1.5	0.3	6.2	2.8	2.2	0.5	15.6
22'455'-PeCB(#101)	5.5	4.0	1.1	17.0	4.6	3.1	0.8	12.0	6.1	4.1	1.3	26.3
22'44'5'-PeCB(#99)	47.2	46.5	2.4	257.6	24.6	15.9	2.1	60.8	40.4	22.3	10.2	120.7
23'4'56'-PeCB(#117)	4.7	6.3	0.4	28.3	2.0	1.3	0.2	4.7	3.0	2.2	0.6	14.0
22'345'-PeCB(#87)	2.2	1.6	0.6	6.7	1.6	0.8	0.4	3.5	2.2	1.2	0.6	8.2
22'344'-PeCB(#85)	0.5	0.3	0.1	1.8	0.4	0.3	0.1	1.4	0.7	0.4	0.2	2.8
233'4'6'-PeCB(#110)	1.2	0.6	0.5	3.5	1.1	0.5	0.3	2.6	1.3	0.5	0.4	2.9
233'4'5'-PeCB(#107)	1.9	1.4	0.2	5.3	2.0	1.7	0.1	6.6	3.2	2.5	0.6	16.7
2'344'5'-PeCB(#123)	0.8	0.7	0.0	2.6	0.9	0.9	0.0	4.4	1.5	1.1	0.2	8.0
23'44'5'-PeCB(#118)	42.3	31.6	1.9	127.3	45.3	35.7	3.2	156.7	79.2	50.0	15.9	362.4
2344'5'-PeCB(#114)	5.6	4.7	0.0	22.5	3.7	3.0	0.0	13.4	5.5	2.8	1.6	16.6
233'44'-PeCB(#105)	9.3	6.5	0.6	25.6	10.0	7.7	0.9	31.2	16.6	11.9	3.0	77.8
22'355'6'-HxCB(#151)	3.6	3.8	0.4	21.4	2.7	1.9	0.5	9.3	4.0	2.9	0.8	18.2
22'33'56'-HxCB(#135)	1.3	0.9	0.2	5.1	1.0	0.6	0.1	2.3	1.5	0.9	0.4	6.3
22'34'56'-HxCB(#147)	1.6	1.2	0.3	4.9	1.1	0.8	0.1	3.0	1.6	1.0	0.1	6.1
22'344'6'-HxCB(#139)	2.5	2.1	0.5	11.4	1.8	1.0	0.4	4.2	2.6	1.5	0.4	9.5
22'33'56'-HxCB(#134)	0.1	0.1	0.0	0.4	0.1	0.1	0.0	0.3	0.1	0.1	0.0	0.5
233'55'6'-HxCB(#165)	0.7	3.9	0.0	23.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
22'34'55'6'-HxCB(#146)	54.1	42.5	3.1	192.4	29.4	19.4	1.4	71.4	44.5	21.2	15.2	152.9
22'33'46'6'-HxCB(#132)	0.9	0.7	0.2	3.6	0.6	0.4	0.1	1.7	0.9	0.6	0.0	3.7
22'44'55'6'-HxCB(#153)	299.5	209.3	18.2	899.6	176.3	110.6	9.0	407.1	288.1	130.0	93.5	879.2
22'3455'6'-HxCB(#141)	0.8	0.6	0.2	3.3	0.7	0.4	0.2	1.7	1.0	0.7	0.1	4.9
22'344'5'-HxCB(#137)	18.9	23.5	0.5	117.3	6.0	3.8	0.3	15.1	9.6	4.7	2.9	32.8
22'33'45'6'-HxCB(#130)	14.0	17.0	0.8	81.0	5.4	3.5	0.4	12.5	8.4	5.1	1.9	34.8
233'4'5'6'-HxCB(#164)	76.6	63.9	4.9	295.6	36.5	23.5	1.8	98.0	62.0	32.0	0.0	194.5
22'344'5'-HxCB(#138)	168.5	156.8	7.0	810.2	80.7	48.4	4.8	180.4	131.6	64.4	40.9	421.3
22'33'44'6'-HxCB(#128)	1.9	1.3	0.2	6.5	1.7	1.2	0.2	5.1	2.8	1.7	0.4	9.2
23'44'55'6'-HxCB(#167)	7.8	4.9	0.4	19.6	6.9	4.9	0.4	20.3	11.8	5.9	3.4	46.7
233'44'5'-HxCB(#156)	88.7	128.1	1.7	611.1	17.4	12.0	0.7	47.2	25.7	12.7	8.9	91.8
233'44'5'-HxCB(#157)	24.2	35.1	0.3	163.5	4.4	3.0	0.2	11.9	6.5	3.0	2.3	21.3
22'33'566'-HpCB(#179)	0.6	0.5	0.2	2.5	0.5	0.3	0.1	1.4	0.7	0.4	0.1	3.0
22'33'55'6'-HpCB(#178)	18.2	11.8	0.9	49.7	11.7	8.0	0.5	29.5	19.9	9.6	7.4	62.0
22'344'5'6'-HpCB(#182)	85.9	53.2	6.0	226.9	56.3	38.6	1.8	134.0	89.9	43.9	31.9	276.0
22'344'5'6'-HpCB(#183)	21.3	14.6	1.9	67.8	12.4	8.2	0.7	28.9	19.8	10.0	6.5	58.9
22'344'5'6'-HpCB(#181)	1.1	1.9	0.0	9.1	0.2	0.2	0.0	0.9	0.2	0.2	0.0	0.8
22'33'4'5'6'-HpCB(#177)	20.4	15.1	2.1	61.7	11.9	8.0	0.7	29.5	18.5	9.7	5.1	60.0
22'33'455'6'-HpCB(#172)	14.7	13.6	0.7	65.3	6.1	3.9	0.2	13.7	9.5	4.7	3.4	31.3
22'344'55'6'-HpCB(#180)	241.1	185.0	10.5	803.7	118.8	73.8	4.5	263.0	189.8	91.7	74.0	650.3
233'44'5'6'-HpCB(#191)	5.1	6.3	0.1	30.9	1.4	0.9	0.0	3.1	2.4	1.1	0.9	6.6
22'33'44'5'-HpCB(#170)	88.1	88.6	2.4	427.4	33.5	20.4	1.3	77.3	55.2	27.0	21.8	183.7
233'44'55'6'-HpCB(#189)	11.8	16.1	0.1	73.6	2.3	1.5	0.1	5.7	3.4	1.6	1.3	11.2
22'33'55'6'6'-OcCB(#202)	9.6	11.5	0.2	54.7	8.0	12.8	0.1	53.0	9.0	14.8	0.0	129.5
22'33'45'6'6'-OcCB(#200)	1.6	1.8	0.1	9.2	1.2	1.9	0.0	10.0	2.1	4.9	0.0	38.6
22'33'45'6'6'-OcCB(#201/198)	35.8	26.0	0.5	95.3	20.8	14.5	0.3	51.7	32.2	17.1	12.4	131.0
22'344'55'6'-OcCB(#203)	32.8	25.7	0.5	115.8	16.4	10.4	0.5	36.8	25.0	12.8	8.9	90.8
22'33'44'5'6'-OcCB(#195)	8.9	7.8	0.5	36.4	3.9	2.4	0.1	9.1	5.8	3.0	1.9	20.9
22'33'44'55'6'-OcCB(#194)	36.8	28.4	1.0	121.9	17.1	11.3	0.6	39.5	27.4	15.3	8.6	129.3
233'44'55'6'-OcCB(#205)	1.6	1.5	0.2	6.9	0.6	0.4	0.0	1.4	1.0	0.4	0.3	2.7
22'33'455'6'6'-NoCB(#208)	2.6	1.6	0.1	6.4	1.4	0.9	0.1	3.3	2.5	1.2	0.4	7.4
22'33'44'5'6'6'-NoCB(#207)	1.3	0.9	0.1	4.0	0.7	0.4	0.0	1.6	1.1	0.6	0.2	3.2
22'33'44'55'6'-NoCB(#206)	7.4	5.4	0.2	24.2	3.7	2.3	0.1	8.3	6.3	2.8	2.2	19.8
22'33'44'55'6'6'-DeCB(#209)	3.8	2.2	0.2	11.1	2.5	1.6	0.2	6.8	4.4	1.8	1.6	12.1
Total TrCBs	7.4	4.0	2.9	19.6	7.7	4.0	2.3	18.3	8.6	6.2	2.4	43.5
Total TeCBs	51.6	40.1	10.6	191.6	55.8	37.3	9.3	167.0	84.4	46.3	18.2	317.9
Total PeCBs	125.9	79.9	11.3	359.9	100.6	69.9	12.5	277.5	165.2	96.0	41.2	676.9
Total HxCBs	765.7	660.5	39.9	3197.1	372.7	230.2	21.9	859.5	603.0	275.7	201.3	1908.4
Total HpCBs	508.3	390.7	25.2	1742.9	255.0	161.4	10.3	571.9	409.4	195.7	159.2	1294.0
Total OcCBs	127.1	91.4	3.0	385.8	68.1	48.6	2.2	197.8	102.6	57.7	37.8	416.0
Total NoCBs	11.2	7.9	0.4	34.7	5.8	3.7	0.4	13.2	9.9	4.4	2.8	29.1
DeCB	3.8	2.2	0.2	11.1	2.5	1.6	0.2	6.8	4.4	1.8	1.6	12.1
Total PCBs	1601.1	1218.9	116.2	5792.5	868.3	542.5	63.4	2048.8	1387.3	643.4	518.7	4600.7
脂肪含量(%)	0.34	0.04	0.27	0.42	0.33	0.07	0.23	0.59	0.33	0.05	0.22	0.49
年齢	61.7	14.39	26	87	52.1	19.88	7	82	68.1	5.42	60	86

分担研究報告書

低濃度ダイオキシン類曝露による次世代影響の評価 小児神経発達への影響

分担研究者 岸 玲子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授
飯田隆雄 福岡保健環境研究所 保健科学部長
研究協力者 西條泰明 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助手
佐田文宏 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授
中島そのみ 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野
中川礼子 福岡保健環境研究所 保健科学部生活科学課 課長
戸高 尊、平川博仙、堀 就英、飛石和大、梶原淳睦 福岡保健環境研究所

研究要旨 母体血中の異性体レベルで測定した PCB・ダイオキシン類濃度と乳児の神経発達との関連性を検討した。解析対象者は 134 名の母子ペアであった。母体血中 PCB・ダイオキシン類の異性体毎の濃度と生後 6 ヶ月児の神経発達評価との関連性では、いくつかの異性体において濃度が高くなると、精神発達および運動発達の得点が有意に低くなり、運動発達でより多くの異性体に有意な結果が得られた。

これらの結果から、本調査のような低い曝露濃度では、総 PCB・ダイオキシン類濃度および Total TEQ 値では運動発達への影響はないが、運動発達に負の影響を及ぼす特定の化学物質がある可能性を示唆する結果と考えられた。

A. 研究目的

バックグラウンドレベルの PCB やダイオキシンのような環境化学物質の出生前および出産後の曝露は、小児の神経発達に悪影響を示すことがいくつかの研究で示されている。しかし、神経発達への有害な影響をほとんど示さない報告もある。さらに、これらの先行研究では PCBs とダイオキシン類の詳細な曝露評価に基づいた調査が行われておらず、明確な結果が得られていないのが現状である。そこで我々は、バックグラウンドレベルの PCB やダイオキシン類による次世代の精神・運動発達や認知機能への影響を明らかにすること目的とし、出生前曝露が乳児期の神経発達に与える影響を検討する。

B. 研究方法

札幌市の 1 産院をベースに妊婦を対象に前向きコホート調査を設定し、対象となる妊婦をリクルートし、妊娠 23-35 週にインフォームドコンセントを得た。質問紙票により妊婦とそのパートナーの食習慣・生活職業上の化学物質曝露状況・住居環境・喫煙・病歴を把握し、妊婦や児の妊娠・出産時の情報はカルテより収集した。児の神経発達評価は、生後 6 ヶ月にベイリー乳幼児発達検査－第 2 版 (BSID-II) により精神発達 (Mental)、運動発達 (Motor) を評価した。BSID-II は、1 ヶ月～42 ヶ月児に実施可能で、アメリカで標準化され、臨床や研究領域で広く使用されている発達検査である¹⁾。BSID-II は日本で標準化されていないが、日本で標準化された K

式発達検査との高い相関が示されている²⁾。精神発達の得点(MDI)、運動発達の得点(PDI)は50~150で表され、平均100(SD15)となっている¹⁾。実施方法は札幌市東区にある福祉会館に母子共に来てもらい、母親(父親)同席のもと個室にて検査を実施した。検査は、発達障害領域で臨床経験のある作業療法士3名で実施し、採点は検査中撮影したビデオをもとに全検査者で再度確認を行った。

また、児の養育環境状況についても同時期に調査した。

曝露評価は、妊娠中期から後期に採取した母体血とした。貧血で妊娠中採血できなかった場合、出産後の入院中に血液を採取した。母体血中のPCB・ダイオキシン類の濃度は、溶媒除去大量試料注入装置(SCLV-system)を装着した高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マススペクトロメトリー(HRGC/HRMS)で測定した。PCB・ダイオキシン類の濃度は、それぞれ異性体で測定し(PCDDs 7種類、PCDFs 10種類、ノンオルソ Co-PCBs 4種類、モノオルソ Co-PCBs 8種類、ジオルソ PCBs 2種類)、Total 値、TEQ 値も算出した。また、対象者の64名については、68種類のPCB(モノオルソ PCBを含む)についてもHRGC/HRMSで測定した。これらの測定は全て福岡県保健環境研究所にて実施された^{3,4)}。

解析対象者は妊娠、分娩時に重度の病気や合併症がない、満期産で単胎、1分後のApgar-scoreが7点以上、児に先天異常や重度な病気がない、BSID-IIが6ヶ月の項目を完了している母子ペア134名であった。

BSID-IIの得点(MDIとPDI)と母体血中PCB・ダイオキシンの濃度との関連については、母体血中PCB・ダイオキシン類濃度はlog変換し、在胎日数、妊娠中の喫煙の

有無、妊娠中のカフェイン摂取量(mg/day)、採血時期(出産前と出産後)で調整し重回帰分析を行った。

(倫理面への配慮)

この研究は全ての被験者から書面でのインフォームドコンセントで実行され、北海道大学医学研究科医の倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

解析対象者134名と本邦他地域のTotal TEQ値を比較すると、北海道札幌市の妊婦のTotal TEQ値の平均値は18.8 pg-TEQ/g lipidで過去の環境省や厚生労働省で報告されている値よりもやや低い濃度であった(H10年度厚労省: Total TEQ値24.4 pg-TEQ/g lipid、H14年度環境省: Total TEQ値27.0 pg-TEQ/g lipid)⁵⁾。

表1は解析対象者とバックグラウンドレベルにおける神経発達との関連を検討した先行研究のPCB153の濃度を示した。対象者134名中64名のPCB153の濃度の平均値は、22.9 ng/g lipidでドイツ、オランダ、アメリカ・ノースカロライナ、アメリカ多施設研究よりも低い値であった⁶⁾。

表2には母体血中PCB・ダイオキシン類濃度とMDI、PDIとの関連性について重回帰分析を行った結果を示した。在胎日数、母親の喫煙状況、妊娠中のカフェイン摂取量、採血時期で調整後、MDI(精神発達)でPCDDの異性体である1,2,3,4,6,7,8-HpCDD($p<0.05$)、およびTotal値のPCDD($p<0.01$)とPCDD/PCDF($p<0.05$)で有意な負の関連性が見られた。PDI(運動発達)ではPCDDの異性体である1,2,3,7,8,9-HxCDD($p<0.05$)、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD($p<0.01$)、PCDFの異性体である2,3,7,8-TCDF($p<0.05$)、1,2,3,7,8-PeCDF($p<0.05$)、1,2,3,6,7,8-HxCDF($p<0.05$)で有意な負の

関連性が見られた。PDI については、PCDD と PCDD/PCDF の Total 値との有意な関連は見られず、TEQ 値では MDI、PDI と有意な関連は見られなかった⁷⁾。

D. 考察

本解析対象者の母体血中 PCB/ダイオキシン類濃度は、国内他地域、諸外国に比べ低かったにもかかわらず、TEQ 値と児の精神発達と運動発達には有意な関連性はなかったが、いくつかの異性体において濃度が高くなると、精神発達および運動発達の得点が有意に低くなり、より運動発達で多く示されたという結果が得られた。乳幼児期には精神発達よりも運動発達への負の影響を示している先行研究が多いが⁸⁻¹¹⁾、先行研究の曝露指標は本調査のように異性体レベルまで測定されておらず、total PCB や TEQ 値での検討であるため、本研究との比較は難しい。しかし、精神発達のみ PCDD と PCDD/PCDF の Total 値と有意な負の関連性があり、運動発達では異性体のみ有意な負の関連性があったことは、本調査のような低い曝露濃度では、総 PCB・ダイオキシン類濃度および Total TEQ 値では運動発達への影響はないが、運動発達に負の影響を及ぼす特定の化学物質がある可能性を示唆する結果と考えられた。

また、母親の total PCB レベルが同じであっても、児の神経発達に影響を示す報告と逆に示さない報告もあり、異性体の組成により児の神経発達に良性に影響する可能性があるとも指摘されている¹²⁾。よって、今回の解析対象者においても、同じ作用が起こっている可能性が考えられ、今後は異性体の組成についても検討する必要がある。さらに、内分泌攪乱物質濃度と児の神経発達との間に有意な負の関連が乳児期にあったとしても、学齢期には改善傾向を示し、母乳栄養、良好な家庭の環境で育っ

たことが、その改善要因となる可能性が指摘されている¹³⁾。本研究においてもこれらの結果を明らかにするためにも、児の継続的な発達評価を行う必要がある。

E. 参考文献

- 1) Bayley N. Manual for the Bayley Scales of Infant Development Second Edition. New York: The Psychological Corporation. 1993.
- 2) 岡知子, 鈴木恵太, 仲井邦彦, 細川徹, 佐藤洋. 【環境汚染と乳幼児の発達 そのリスクの評価法】 Bayley 式乳幼児発題検査第 2 版の日本国内での実施の試み. 医学のあゆみ 2005;212:259-263.
- 3) Iida T, Todaka T. Measurement of dioxins in human blood: improvement of analytical method. Ind Health 2003;41:197- 204.
- 4) Todaka T, Hirakawa H, Tobiihi K, Iida T. New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Igaku Zasshi 2003;94:148- 157.
- 5) 環境省環境保健部. 平成 14 年度ダイオキシン類の蓄積・暴露状況及び臭素系ダイオキシン類の調査結果について. I. ダイオキシン類の人への蓄積量調査. P23, 2004.
- 6) Longnecker MP, Wolff MS, Gladen BC, Brock JW, Grandjean P, Jacobson JL, Korrick SA, Rogan WJ, Weisglas-Kuperus N, Hertz-Picciotto I, Ayotte P, Stewart P, Winneke G, Charles MJ, Jacobson SW, Dewailly E, Boersma ER, Altshul LM, Heinzow B, Pagano JJ, Jensen AA. Comparison of polychlorinated biphenyl levels across studies of human neurodevelopment. Environ Health Perspect 2003;111:65-70.
- 7) Nakajima S, Saijo Y, Kato S, Sasaki

S, Uno A, Kanagami N, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Todaka T, Nakamura Y, Yanagiya S, Sengoku Y, Iida T, Sata F, Kishi R. Effects of Prenatal Exposure to Polychlorinated Biphenyls and Dioxins on Mental and Motor Development in Japanese Children at Six Months. *Environmental Health Perspectives* (in press).

8) Gladen BC, Rogan WJ, Hardy P, Thullen J, Tingelstad J, Tully M. Development after exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene transplacentally and through human milk. *J Pediatr* 1988;113:991-995.

9) Rogan WJ, Gladen BC. PCBs, DDE, and child development at 18 and 24 months. *Ann Epidemiol* 1991;1:407-413.

10) Huisman M, Koopman-Esseboom C, Lanting CI, van der Paauw CG, Tuinstra LG, Fidler V, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJ, Boersma ER, Touwen BC. Neurological condition in 18-month-old children

perinatally exposed to polychlorinated biphenyls and dioxins. *Early Hum Dev* 1995;43:165-176.

11) Walkowiak J, Wiener JA, Fastabend A, Heinzow B, Kramer U, Schmidt E, Steingruber HJ, Wundram S, Winneke G. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and quality of the home environment: effects on psychodevelopment in early childhood. *Lancet* 2001;358:1602-1607.

12) Gray KA, Klebanoff MA, Brock JW, Zhou H, Darden R, Needham L, et al. In utero exposure to background levels of polychlorinated biphenyls and cognitive functioning among school-age children. *Am J Epidemiol* 2005;162:17-26.

13) Vreugdenhil HJ, Lanting CI, Mulder PG, Boersma ER, Weisglas-Kuperus N. Effects of prenatal PCB and dioxin background exposure on cognitive and motor abilities in Dutch children at school age. *J Pediatr* 2002;140:48-56.