

200501036 AB

平成17年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進究事業

熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究

平成15～17年度 総合研究報告書
平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 古江 増隆

平成18(2006)年3月

平成17年度研究班構成員氏名

- 主任研究者 古江 増隆 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授)
- 分担研究者 赤峰 昭文 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座
歯内疾患制御学研究分野 教授)
- 飯田 隆雄 (福岡県保健環境研究所保健科学部 部長)
- 飯田 三雄 (九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野 教授)
- 石橋 達朗 (九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)
- 石丸 忠之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生殖病態生理学 教授)
- 今村 知明 (東京大学医学部附属病院企画情報運営部 助教授)
- 岩本 晃明 (聖マリアンナ医科大学泌尿器科 教授)
- 片岡 恭一郎 (福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 課長)
- 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)
- 隈上 武志 (長崎大学医学部・歯学部附属病院眼科 講師)
- 古賀 信幸 (中村学園大学栄養科学部 教授)
- 佐藤 伸一 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学 教授)
- 谷脇 考恭 (九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科 助教授)
- 辻 博 (北九州津屋崎病院内科 部長)
- 徳永 章二 (九州大学大学院医学研究院予防医学分野 助手)
- 中西 洋一 (九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 教授)
- 中野 仁雄 (九州大学 副学長)
- 中堀 豊 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部
分子予防医学分野 教授)
- 中山 樹一郎 (福岡大学医学部皮膚科 教授)
- 長山 淳哉 (九州大学医学部保健学科 助教授)
- 山田 英之 (九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野 教授)
- 吉村 健清 (福岡県保健環境研究所 所長)
- 吉村 俊朗 (長崎大学医学部保健学科 教授)

(五十音順)

研究協力者 旭 正一 (産業医科大学 名誉教授)
芦塚 由紀 (福岡県保健環境研究所 主任技師)
東 晃一 (九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野)
石井 祐次 (九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野 助教授)
石田 卓巳 (九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野 助手)
上ノ土 武 (新小倉病院皮膚科 医員)
大八木 保政 (九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科 講師)
小川 文秀 (長崎大学医学部・歯学部附属病院皮膚科 講師)
小野塚 大介 (福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 技師)
梶原 淳睦 (福岡県保健環境研究所 専門研究員)
神奈川 芳行 (東京大学大学院医学系研究科
(医学部附属病院企画情報運営部) 大学院生)
北岡 隆 (長崎大学大学院医歯薬総合科学研究科眼科・視覚科学教室 教授)
吉良 潤一 (九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科 教授)
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)
柴田 智子 (厚生労働省 リサーチレジデント)
清水 和宏 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学 助教授)
高尾 佳子 (福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 技師)
田島 文一 (日本 NCR 株式会社)
月森 清巳 (九州大学病院産科婦人科 講師)
戸高 尊 (厚生労働省 リサーチレジデント)
飛石 和大 (福岡県保健環境研究所 研究員)
中川 礼子 (福岡県保健環境研究所 生活化学課長)
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)
中野 治郎 (長崎大学医学部保健学科 助手)
中山 大介 (長崎大学医学部・歯学部附属病院産科婦人科 助手)
橋口 勇 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座
歯内疾患制御学研究分野 助手)
平川 博仙 (福岡県保健環境研究所 専門研究員)
堀 就英 (福岡県保健環境研究所 研究員)
松枝 隆彦 (福岡県保健環境研究所 専門研究員)
松本 伸哉 (日本 NCR 株式会社)
安武 大輔 (福岡県保健環境研究所 主任技師)

(五十音順)

目 次

I. 平成15～17年度総合研究報告書

- 「熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究」・・・・・・・・・・ 01
主任研究者 古江 増隆

II. 平成17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」・・・・・・・・・・ 16
主任研究者 古江 増隆

III. 平成17年度分担研究報告

- 「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」・・・・・・・・・・ 26
分担研究者 赤峰 昭文
研究協力者 橋口 勇

- 「皮膚重症度と血液中 polychlorinated biphenyl (PCB) 濃度・
2, 3, 4, 7, 8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 濃度の関係についての
統計学的検討」・・・・・・・・ 33

分担研究者 古江 増隆, 中山 樹一郎
研究協力者 上ノ土 武, 柴田 智子, 旭 正一

- 「2005年度福岡県油症患者の皮膚症状に対する臨床的評価」・・・・・・・・ 37

分担研究者 古江 増隆, 中山 樹一郎
研究協力者 柴田 智子, 上ノ土 武, 旭 正一

- 「油症患者における網膜血管の高血圧性および細動脈硬化性変化
に関する研究」・・・・・・・・ 42

分担研究者 隈上 武志
研究協力者 北岡 隆

- 「熱媒体の人体影響とその治療等に関する研究」・・・・・・・・・・ 44

分担研究者 石橋 達朗

- 「油症患者における婦人科疾患の研究」・・・・・・・・・・ 45

分担研究者 中野 仁雄, 石丸 忠之
研究協力者 月森 清巳, 中山 大介

- 「油症発症地域における血清脂質と認知機能との関連」・・・・・・・・ 47

分担研究者 谷脇 考恭
研究協力者 吉良 潤一, 大八木 保政

「油症における性ホルモン影響」	50
分担研究者 辻 博	
「油症患者の脂質代謝に関する研究」	53
分担研究者 飯田 三雄	
研究協力者 東 晃一	
「油症認定患者血中 glutathione peroxidase の検討」	54
分担研究者 佐藤 伸一	
研究協力者 清水 和宏, 小川 文秀	
「油症認定患者血中 nitrotyrosine の検討」	56
分担研究者 佐藤 伸一	
研究協力者 清水 和宏, 小川 文秀	
「カネミ油症検診者の末梢神経、筋の変化および・糖尿病の合併について」	58
分担研究者 吉村 俊朗	
研究協力者 中野 治郎	
「熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究 (総括)	
1. 油症患者の追跡に関する研究	
2. 高齢者の比較対照群における血中ダイオキシン類濃度測定に関する研究	67
分担研究者 吉村 健清	
研究協力者 小野塚 大介, 片岡 恭一郎, 飯田 隆雄	
「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」	80
分担研究者 今村 知明	
研究協力者 神奈川 芳行, 松本 伸哉, 田島 文一	
「データマイニング手法の関連性分析を用いた、 油症患者の血液検査結果及び最近及び過去の臨床症状等の 組み合わせの検証に関する研究」	90
分担研究者 今村 知明	
研究協力者 神奈川 芳行, 松本 伸哉, 田島 文一	
「油症患者のダイオキシン類血中濃度と健康状態との関連」	98
分担研究者 徳永 章二	

- 「熱媒体の人体影響とその治療法等に関する研究
—油症一斉検診の全国集計結果及び油症患者データベースの構築—」・・・104
分担研究者 片岡 恭一郎
研究協力者 高尾 佳子, 小野塚 大介
- 「油症患者および一般住民体内の PCDF 類実態調査」・・・・・・・・・・110
分担研究者 飯田 隆雄
研究協力者 中川 礼子, 片岡 恭一郎, 松枝 隆彦,
梶原 淳睦, 平川 博仙, 堀 就英,
飛石 和夫, 芦塚 由紀, 安武 大輔,
小野塚 大介, 吉村 健清, 戸高 尊
- 「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」・・・118
分担研究者 飯田 隆雄
研究協力者 堀 就英, 中川 礼子, 片岡 恭一郎,
松枝 隆彦, 梶原 淳睦, 平川 博仙,
飛石 和夫, 芦塚 由紀, 安武 大輔,
小野塚 大介, 吉村 健清, 戸高 尊
- 「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」・・・125
分担研究者 岸 玲子, 飯田 隆雄
研究協力者 西條 泰明, 佐田 文宏, 中島 そのみ,
中川 礼子, 戸高 尊, 平川 博仙,
堀 就英, 飛石 和夫, 梶原 淳睦
- 「ダイオキシンが男性生殖機能に与える影響に関する予備的検討」・・・・・・・・131
分担研究者 岩本 晃明
- 「ダイオキシンが男性生殖機能に与える影響に関する予備的検討」・・・・・・・・134
分担研究者 中堀 豊
- 「油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究」・・・・・・・・・・137
分担研究者 長山 淳哉

「食品成分によるダイオキシン毒性軽減の試み：レスベラトロールによる
ダイオキシン誘発性脂肪肝の軽減」・・・141

分担研究者 山田 英之
研究協力者 石井 祐次, 石田 卓巳

「ダイオキシンの精巢ステロイドに対する影響の解析」・・・154

分担研究者 山田 英之
研究協力者 石井 祐次, 石田 卓巳

「2, 2', 3, 4', 5, 5', 6-七塩素化ビフェニル(CB187)の
モルモットにおける in vivo 代謝」・・・173

分担研究者 古賀 信幸

「気道上皮における PCB/ダイオキシン類による細胞障害/
酸化ストレスの検討」・・・179

分担研究者 中西 洋一

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 ・・・184

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 古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授

研究要旨 油症患者の検診を行うことにより、今なお継続する症状を把握し、原因とされる化学物質との相関を検討した。また、基礎的研究を行い、その化学物質による生体への影響、および、油症症状の緩和をもたらす、健康食品などの効果を検討した。油症検診ではデータベースを検診の現場で使用し、専門的で効率のよい検診体勢を整えるとともに、患者の健康状態の把握が容易となり、的確な健康指導ができるようになった。油症は polychlorinated biphenyl (PCB) と polychlorinated dibenzofuran (PCDF) の混合中毒であるが、PCDF については、体内に微量にしか含まれていないため、その正確な定量が不可能であった。本研究班の技術改良により、少ない採血量で、しかも正確に測定することが可能となり、2001年度の福岡県検診時から、また2002年度からは全国検診において、PCDFを含めた血液中ダイオキシン類濃度検査が始まり、2004年9月29日に2,3,4,7,8-polychlorinated dibenzofuran (PeCDF)に関する項目を追加した新しい診断基準を作成した。この診断基準に基づいて現在までに24名を新たに認定することができた。また未認定患者を含めた検診受診者はダイオキシン類濃度測定を開始してから増加傾向にあり、依然、油症についての関心の高さがうかがえる。しかし、一方で油症認定患者の検診受診率は2002年をピークに低下傾向にあり、状態の把握が困難な面もある。全体的には検診受診患者の臨床症状は徐々に軽快している傾向がみられるが、現在も油症特有の症状に悩まされる患者も少なからずおり、今後とも注意深く経過を観察する必要がある。また、検診受診者のPCDF、PCB、各検査項目との相関についても検討が加えられ、油症発生後30年以上が経過した現在でも多くの検診所見、検査項目と相関がみられた。また、同時に統計学的な解析によりPCDF測定精度は非常に優れていることが明らかになった。近年、検診を受診する患者数の減少によって、検診を受診していない患者の健康状態や近況などが把握できない状態であったが、油症相談員事業を導入することで、相当数の情報を得ることができた。また、年々徐々に症状は軽減していくものの健康に対する不安を抱く患者は少なからずいる。そのような患者の健康相談も行いながら、健康状態を調査している。SevesoやYu-chengをはじめとするその他のダイオキシン曝露例では20歳以前、もしくは、20代前半にダイオキシン類に曝露された男性から出生した児の男女比が有意に低下した、との報告もあり、2004年には、油症相談員による聞き取り調査を行い、相当数の児の出生数、出生男女比が明らかとなった。統計学的に解析した結果、油症においては他の曝露例のような男女比の低下は認められなかった。また、油症の発症機序についての基礎的研究を行い、ダイオキシン類の曝露により、Aryl hydrocarbon receptor (AhR)を介する経路で酸化ストレス

が発生することがわかった。また、ダイオキシンにより性成熟の遅延や精子数の減少などの異常が現れるが、その要因の一つとして脳下垂体における LH の合成阻害により、性ホルモンバランスの崩壊、特に精巣におけるステロイドホルモン合成能の低下による可能性が示唆された。また、体内に残存するダイオキシン類の排泄方法や、様々な症状を緩和する方法についての基礎的研究もすすめており、レスベラトロール投与によりマウスのダイオキシン毒性を軽減することが示され、また健康なボランティアの協力により食物繊維と葉緑素を多量に含むキューサイ青汁やハイ・ゲンキの摂取によりダイオキシン類を体外に排泄する作用が約 1.4~2 倍高まることが認められた。また、油症の症状を緩和する目的で油症患者を対象に漢方療法の臨床試験が 2005 年から始まり、現在のところ大きな副作用は認められていない。

このように研究を通じて明らかになった様々な事実については論文化し、また、日本語、英語でホームページに掲載した。また患者への情報提供のために、油症新聞を創刊した。

【平成 15 年度分担研究者(五十音順)】

赤峰昭文(九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯内疾患制御学研究分野 教授)
飯田隆雄(福岡県保健環境研究所保健科学部部長)
飯田三雄(九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野 教授)
石橋達朗(九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)
石丸忠之(長崎大学医学部産科婦人科学教室教授)
今村知明(東京大学医学部附属病院企画情報運営部 助教授)
片岡恭一郎(福岡県保健環境研究所管理部情報管理課 課長)
片山一朗(長崎大学医学部皮膚科 教授)
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)
古賀信幸(中村学園大学栄養科学部 教授)
辻 博(北九州津屋崎病院 内科部長)
徳永章二(九州大学大学院医学研究院予防医学分野 助手)
中西洋一(九州大学大学院医学研究院附属胸部疾患研究施設 教授)
中野仁雄(九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学 教授)
中山樹一郎(福岡大学医学部皮膚科 教授)
長山淳哉(九州大学医学部保健学科 助教授)
古谷博和(九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科 助教授)

増田義人(第一薬科大学 名誉教授)

宮村紀毅(長崎大学医学部歯学部附属病院眼科 講師)
山口直人(東京女子医科大学衛生学公衆衛生学(二)教室 主任教授)
山田英之(九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野 教授)
吉村健清(産業医科大学産業生態科学研究所臨床疫学教室 教授)
吉村俊朗(長崎大学医学部保健学科 教授)

【平成 16 年度分担研究者(五十音順)】

赤峰昭文(九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯内疾患制御学研究分野 教授)
飯田隆雄(福岡県保健環境研究所保健科学部部長)
飯田三雄(九州大学大学院医学研究院病態機能内科学分野 教授)
石橋達朗(九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)
石丸忠之(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生殖病態生理学 教授)
今村知明(東京大学医学部附属病院企画情報運営部 助教授)
今村直樹(長崎大学医学部歯学部附属病院眼科 講師)
大八木保政(九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科 講師)
片岡恭一郎(福岡県保健環境研究所管理部情

報管理課 課長)
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)
古賀信幸 (中村学園大学栄養科学部 教授)
佐藤伸一 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究
科皮膚科学 教授)
辻 博 (北九州津屋崎病院 内科部長)
徳永章二 (九州大学大学院医学研究院予防医
学分野 助手)
中西洋一 (九州大学大学院医学研究院附属胸
部疾患研究施設 教授)
中野仁雄 (九州大学大学院医学研究院生殖病
態生理学 教授)
中山樹一郎 (福岡大学医学部皮膚科 教授)
長山淳哉 (九州大学医学部保健学科 助教授)
増田義人 (第一薬科大学 名誉教授)
山田英之 (九州大学大学院薬学研究院分子衛
生薬学分野 教授)
吉村健清 (福岡県保健環境研究所 所長)
吉村俊朗 (長崎大学医学部保健学科 教授)

【平成17年度分担研究者(五十音順)】

赤峰昭文 (九州大学大学院歯学研究院口腔機
能修復学講座歯内疾患制御学研究分野 教
授)
飯田隆雄 (福岡県保健環境研究所保健科学部
部長)
飯田三雄 (九州大学大学院医学研究院病態機
能内科学分野 教授)
石橋達朗 (九州大学大学院医学研究院眼科学
分野 教授)
石丸忠之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究
科生殖病態生理学 教授)
今村知明 (東京大学医学部附属病院企画情報
運営部 助教授)
岩本晃明 (聖マリアンナ医科大学泌尿器科 教
授)
片岡恭一郎 (福岡県保健環境研究所管理部情
報管理課 課長)
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)
隈上武志 (長崎大学医学部・歯学部附属病院
眼科 講師)
古賀信幸 (中村学園大学栄養科学部 教授)
佐藤伸一 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究
科皮膚科学 教授)
谷脇考恭 (九州大学大学院医学研究院脳神経
病研究施設神経内科 助教授)
辻 博 (北九州津屋崎病院内科 部長)

徳永章二 (九州大学大学院医学研究院予防医
学分野 助手)
中西洋一 (九州大学大学院医学研究院附属胸
部疾患研究施設 教授)
中野仁雄 (九州大学 副学長)
中堀 豊 (徳島大学大学院ヘルスバイオサ
イエンス研究部分子予防医学分野 教授)
中山樹一郎 (福岡大学医学部皮膚科 教授)
長山淳哉 (九州大学医学部保健学科 助教授)
山田英之 (九州大学大学院薬学研究院分子衛
生薬学分野 教授)
吉村健清 (福岡県保健環境研究所 所長)
吉村俊朗 (長崎大学医学部保健学科 教授)

A. 研究目的

油症発生後、37年が経過しようとして
いるが、多くの患者はその症状が徐々に
軽快している一方で、いまだに、症状が
持続する患者も認められ、二極化の傾向
が近年みられている。また、高齢化に伴
い、加齢による変化や老年期障害が加わ
って、症状が油症によるものか加齢によ
るものか識別するのはなかなか困難な状
況になりつつある。今後はその傾向が顕
著になることが予想される。ここで、現
在の患者の状態を把握し、様々な角度か
ら再評価する必要がある。

油症はPCBとPCDFの混合中毒で
あることは以前から知られていたが、生
体内に微量に存在するPCDFを正確に
測定することが困難であった。本研究班
の技術改良により、血中に微量に存在す
るPCDFを測定できるようになり、4
年前から検診に導入している。今後、よ
り多くの患者を繰り返し測定し、検診項
目、各検査項目との検討を行い、PCDF
が症状形成にいかに関与したかを確認
する必要がある。

また、最近では検診を受診する患者の
数は年々減少し、検診を受診していない
患者の健康状態や、近況など把握できず、
患者の全体像を的確に把握するのは困難
であった。また、症状は徐々に軽快して

いるものの健康に対する不安を抱く患者は少なくなく、そのような患者の健康相談を行いながら、検診を受診していない患者の健康状態を把握するために、油症相談員事業を導入した。今後もこの油症相談員事業を継続し、患者の全体像の把握に努めると同時に患者の健康相談に乗ることで、健康増進に寄与する。

油症は人類がPCBとダイオキシン類に曝露した、人類史上きわめてまれな事例である。様々な検討を通じて得られた知識は人類にとっても非常に貴重なものであり、これらの知識については患者のプライバシーに十分配慮しながら、公表可能なものは極力公表する必要がある。PCBやPCDF等のダイオキシン類が曝露後長期間経過した場合にどのような影響を人体にもたらすのかは明確になっておらず、今後も検診を継続し、注意深い観察と検討が必要である。また、症状は徐々に軽快しているとはいえ、いまだ、何らかの症状を抱える患者も多数存在しており、有効な薬剤がない現在、臨床応用可能な健康食品を含めた薬剤の臨床試験が望まれている。以上のことを踏まえながら、現在の患者像を把握し、それに基づいて健康を増進することが求められている。

B. 研究方法

I. 班長が担当する研究

1. 班の総括と研究班会議開催
2. 油症検診の実施（各自治体に委託）と検診結果の全国集計
3. 油症診断基準の再評価 「油症診断基準再評価委員会」を開催し、PCDF類を含むダイオキシン類と、患者の所見、症状、検査値との相関を検討する。その知見をもとに、現在の油症診断基準の再評価を行う。

4. 油症相談員制度

健康の問題を含め、様々な不安を抱く患者の相談を行う。また、近年検診を受診していない患者の健康状態を調査する。

5. 台湾油症との情報交換

これまでの研究を通じて得た知識を相補的に交換し、互いの患者の健康増進につとめる。また、これからの研究の方向性を議論し、よりよい研究を目指す。

6. 情報の提供

本研究を通じて得られた知識で、情報公開可能なものについては極力情報公開につとめる。パンフレット、ホームページ、新聞の発行、あるいは直接書面で情報を患者に伝達する。また、患者集会で説明をする。

7. 全国班診定委員会の開催 昨今の油症に対する社会的関心の高まりを反映し、認定をうけていない検診受診希望者が増加している。原因の油を摂取した可能性を持つ希望者に対し検診を行い、得られた所見、検査値等を総合的に評価し、診定を行う。

8. 検診体制の見直し

患者の症状の変遷にあわせて検診科目も変化させる必要がある。神経科、整形外科、内分泌科等の専門的、かつ医学的にも質の高い検診も望まれている。

9. 漢方療法の臨床試験を実施

漢方方剤を用いて、油症の全身倦怠感、痛みやしびれなどの症状を緩和することができるかどうかの臨床試験をスタートさせる。

II. 九州大学油症治療研究班と長崎油症研究班が行う調査、治療および研究

1. 検診を実施し、油症患者の皮膚科、眼科、内科、歯科症状について詳細な観察を行い、従来との比較を行うとともに、各検査項目、検診項目について

他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の有無や変化の傾向について調査する。

2. 油症患者血液検査（総コレステロール、中性脂肪、アルドラーゼ、クレアチニン、 β リポ蛋白、空腹時血糖、インスリン、黄体形成ホルモン、総テストステロン、遊離テストステロンなど）、尿検査、神経学的検査から健康影響を調査する。

3. 油症患者体内に残存する PCBs, PCQ や PCDF を含めたダイオキシン類を把握するために、血中濃度分析を行う。

4. 油症の次世代に及ぼす影響に関する検討 男性生殖機能に与える影響や母体中のダイオキシン類の濃度と乳児の発達異常との関係について検討を行う。

5. 婦人科問診による婦人科疾患と油症、油症と出生との関係についての検討を行う。

6. 油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。

7. 油症発症機構に関する基礎的研究として、TCDD が気導上皮に与える影響や生殖毒性を検討する。高残留性 PCB である 2,2',3,4',5,5',6-七塩素化ビフェニルの代謝経路について検討する。

8. ダイオキシン毒性軽減に関する基礎的研究として、植物成分レスベラトロールによるダイオキシン毒性軽減の有無や、heat shock protein 70 と arylhydrocarbon receptor (AhR) との関係を検討する。

C. 結果および考察

1. 油症患者検診結果

データベースの構築に伴い、検診時にデータベースを用いることが可能となり、検診会場で、患者の健康増進指導に

非常に有用なものとなった。現在までにデータベースには 1986 年度から 2004 年度検診までの検診受診者 1106 人が登録された。検診受診者数は 2003、2004 年度はそれぞれ、359、330 名の受診者があり、ダイオキシン類測定が始まって以来、受診者数は 300 名を越えている。2005 年度も同様の受診者数が見込まれている。福岡県での一斉検診において、歯科では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。眼科では自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かったが、症状は徐々に軽くなっている。しかし、今後も慎重な経過観察が必要である。長崎県での眼科検診では網膜血管の高血圧性変化及び動脈硬化性変化を Scheie 分類を用いて、認定患者と未認定患者の間で比較検討した。高血圧性変化は都市部と離島では差はなかったが、細動脈硬化性変化は都市部のほうが軽い傾向にあった。また高血圧性変化も動脈硬化性変化も、共に認定患者が重い傾向であったが、有意差は見られなかった。産科・婦人科疾患については調査票を用いて、調査を行った。月経異常・不妊症、妊娠中の母体・胎児の異常、および良性悪性女性生殖器疾患についての発生頻度は一般の日本人女性と比較して高くはなかった。しかし、油症後の妊娠における自然流産率と早産率は一般発現頻度より高く認められた。現在、血液中 PCB/ダイオキシン類との相関を検討中である。皮膚科では徐々に皮膚症状は軽快傾向にある患者が大多数であるが、3 割の患者にはいまだに油症特有の症状が認められており、今後とも注意深く観察を続ける必要がある。

2. 油症相談員制度および、アンケート調査

油症発症から30年以上経過し、年月の経過とともに検診受診者も減少し、健康状況を含め、患者情報を取得することが困難な状況が続いていた。しかしながら、2002年から導入した油症相談員事業により、様々な悩みに相談に乗ると同時に、近年検診を受診していない患者の健康状況をはじめとして、様々な情報を取得することができるようになった。SevesoやYu-chengをはじめとするその他のダイオキシン曝露例では20歳以前、もしくは、20代前半にダイオキシン類に暴露された男性から出生した児の男女比が有意に低下した、との報告もあり、2004年には、油症相談員による聞き取り調査を行い、相当数の児の出生数、出生男女比が明らかとなった。統計学的に解析した結果、油症においては他の曝露例のような男女比の低下は認められなかった。また産科・婦人科疾患のアンケートを実施し、現在、解析が進んでる。2005年度は癌をはじめとする疾患の罹患状況、特に、骨粗しょう症や関節障害の有無についてアンケート調査を行っており、油症とそれらの疾患との相関を検討する予定である。

3. 油症診断基準再評価委員会の開催および新しい診断基準の作成

患者が摂取した原因の油にはPCDFも含まれ、現在ではPCBとPCDFの混合中毒であることは広く認められている。実際、患者血液、組織よりPCDFが検出されている。PCBは比較的早期に定量化され、濃度と検査値、診察所見などの相関が検討され、油症診断基準にも取

り入れられている。その一方で、PCDFは体内に微量にしか存在しないため、多量の血液が必要であり、定量化は困難であった。しかしながら、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測定が可能となった。それを受けて平成13年度より福岡県の検診からPCDFを含めた血中ダイオキシン類検査を開始し、平成14年度には全国で行った。血中ダイオキシン類濃度と、検査値、検査所見との相関を「油症診断基準再評価委員会」で検討し、血中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF)濃度を追補することが妥当と考えられ、2004年9月29日に新たな診断基準が作成された。その新しい診断基準に則って診定会議が開催され、未認定者のうち現在までに、25名が新たに認定された。

4. 漢方療法による臨床試験

2005年11月から漢方薬による臨床試験を九州大学皮膚科において開始した。現在10名の患者に実施中であり、現在のところ大きな副作用は認められていない。さらに、24名の臨床試験登録者を確保しており、今後、多施設において漢方療法による臨床試験を実施する予定である。

5. 情報の提示

これまでの研究内容を患者に公表する会を開催し、研究内容をより判りやすく公表するとともに、様々な相談も受けた。パンフレット、ホームページ、あるいは直接書面にて患者に伝達した。また、油症研究の概要、ダイオキシン類濃度の測定を通じて明らかとなったものを、英文学術誌であるJournal of Dermatological Scienceのsupplementとして、刊行した。

また、これまでの研究内容をひろく知らしめることを目的として、油症の検診と治療の手引きは、<http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html> に掲載し、油症研究 - 30 年の歩みは http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html として掲載した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞第 1 号を発行した。

6. 油症一斉検診結果の全国集計および油症患者データベースの構築

人体におけるダイオキシン類の摂取影響を明らかにする上で、認定患者の追跡調査は不可欠であるが、転居先不明で連絡不可能になる患者や、油症担当行政機関からの連絡を断る患者も少なくない。そこで、油症相談員制度が導入され、1) 行政による追跡情報、2) 油症検診による追跡情報、3) 相談員による追跡情報、4) 産業医科大学による追跡情報、5) その他の追跡情報により、全認定患者 1898 名のうち 453 名が死亡との情報が得られた。また油症認定患者の血中ダイオキシン類濃度を評価する上で不可欠な高齢者の比較対照群について、一般住民の協力を得て 128 名の採血を実施することができ、一般住民における血中ダイオキシン類の分析結果が得られた。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。

7. 血液検査、尿検査、神経学的検査、および腹部超音波検査からの健康影響調査

一斉検診時の身体所見、臨床検査値、腹部超音波検査所見より、油症患者の脂質代謝異常・糖代謝異常と肥満・脂肪肝の関連について検討した。BMI は総コレステロール (以下 T.C)、LDL コレステロール (以下 LDL-C) とは相関を認めなかったが、コリンエステラーゼ、中性脂肪、 β リポ蛋白、尿酸、空腹時血糖、血中 IRI、HOMA 指数とは正の相関を、HDL コレステロール (以下 HDL-C) とは負の相関を認めた。腹部超音波検査で BL を認める群 (BL 群) と認めない群 (非 BL 群) に分けて比較・検討すると、BL 群は非 BL 群に比し BMI、中性脂肪、 β リポ蛋白、血中 IRI、HOMA 指数が有意に高かったが、T.C、HDL-C、LDL-C、コリンエステラーゼ、尿酸、空腹時血糖に有意差は認められなかった。

油症患者の甲状腺自己抗体を測定し、油症原因物質の甲状腺機能に対する慢性的影響について検討した。抗サイログロブリン抗体は PCB 高濃度患者の 7.0% に認められたが、PCB 低濃度患者にはみられなかった。抗甲状腺マイクロゾーム抗体は PCB 高濃度患者の 10.5% に、PCB 低濃度患者の 5.2% に認められ、PCB 高濃度患者に多い傾向を認めたが、有意差はみられなかった。

2004 年度福岡県検診受診男性患者の 58 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、遊離テストステロンと血中 PCB 濃度との関連について検討した。油症患者と未認定者では、血中 PCB 濃度と FSH の間に有意の正の相関が認められた。しかしながら、そのほかのホルモンでは相関は認められなかった。また、血中 PCB 濃度が低い患者と比較すると高い濃度の患者では FSH が有意に高かった。

患者検診で、血清クレアチニン・キナーゼ (血清 CK) の上昇や血清アルドラーゼ (血清 ALD) の低下がしばしば認められる。過去 8 年間のカネミ油症検診者データを

用い、個人の血清 CK の経過と血清 ALD、ならびに血中 PCBs、PCQs、PCDF 濃度、血中 TQE 濃度との関係について検討した。毎年の検診で血清 CK が上昇していた群では、血中 PCQ、PCB、PCDF、TQE 濃度が必ずしも高値を示さなかった。しかし、時に血清 CK が上昇した群においては、PCQ、PCB、PCDF、TQE が高値を示した。過去 3 年間のデータを用いて血清 ALD 値の低下について検討したところ、地区間に差が認められた。測定方法の影響を受けている可能性が示唆されたため、採血、保存条件等、アルドラーゼ測定値に及ぼす影響の有無に関して検討を行ったが、アルドラーゼ測定値は、血清保存温度、採血から測定までの時間での影響はなかった。また高脂血症の薬やクルクミン（ウコン）の服薬の有無をアンケート調査し、血中 CK、PCB、PCQ、総コレステロール、アルドラーゼ濃度との関係について検討したが、有意な差は認められなかった。

代謝の過程で superoxide を発生する PCB の中毒症である油症は、慢性酸化ストレス状態と考えられる。一方、酸化ストレスは老化の原因の一つと考えられており、油症患者では老化が促進される可能性が考えられる。近年 IL-6 が老化のマーカーである報告がなされている。油症患者血液中濃度を健常人と比較したが、油症患者血中 IL-6 値は $2.20 \pm 0.28 \text{ pg/ml}$ 、健常人は $2.04 \pm 0.23 \text{ pg/ml}$ で有意差は認められなかった。また、酸化ストレスの指標である尿中 Acrolein 濃度を測定した。油症患者尿中 Acrolein は $355.4 \pm 37.2 \text{ nmol/ml}$ 、健常人は $314.5 \pm 54.6 \text{ nmol/ml}$ であり、有意差は認められなかった。また同様に酸化ストレスの指標である 8-hydroxy deoxyguanosine (8-OHdG) の尿中濃度を ELISA 法にて測定した。対照群と油症患者

の間に有意な差を認めなかった。油症患者血中の一酸化窒素代謝物である NO_2 (nitrite) が有意に高い事はすでに報告されているが、今回採取がより簡単な尿を用いて nitrite の計測比較検討を行った。前回の報告同様、有意に油症患者が高値を示した。また、油症患者の血中において nitric oxide (NO) の代謝産物である nitrite の有意な高値を認めている。NO は superoxide 存在下で直ちに peroxynitrite となりアミノ酸の窒化を起こし nitrotyrosine (NT) を生じることが知られており、油症患者血中における NT の測定を行った。油症患者血中 NT 値は $1.322 \pm 0.544 \text{ nM}$ 、健常人は $0.681 \pm 0.260 \text{ nM}$ で有意差を認めなかった。また油症患者と正常健常人の血清を用いて scavenger enzyme である glutathione peroxidase 濃度を ELISA 法にて測定した。油症患者 49 名および健常人 19 名の血中濃度は各々 $17.224 \pm 0.942 \mu\text{g/ml}$ 、 $16.363 \pm 1.084 \mu\text{g/ml}$ で対照群と油症患者の間に有意差を認めなかった。

慢性 PCB 中毒に合併する末梢神経障害や神経根障害の疫学的検討を行うために、短時間に出来るだけ多くの症例を正確に検討する必要がある。そのために、これまでの筋力検査に加えて、感度の高い円回内筋、回外筋の左右差を検出する方法 (LPS) を採用した。LPS は感度が高く、頸部病変では画像上大きな異常の無い症例まで検出してしまうものの、病変レベルの同定が容易に出来る事、その改善経過を追う事で、病変の程度を推測する事が出来るなど、検診等で神経根障害を検出するためには優れた方法であった。神経学的症候と血清中 PCB 濃度の相関関係を検討したところ、神経学的に感覚障害を認める頻度は、年齢一致対照群に比べて有意に高かった (男性 $p = 0.014$ 、女性 p

= 0.001)。一方、血清 PCB パターンと神経学的所見に有意な相関は認めなかったが、女性油症患者で、PCB 濃度が高い群で有意に腱反射低下が認められた(男性 $p=0.994$; 女性 $p=0.014$)。PCB の長い半減期と脂肪組織蓄積が、PCB 曝露後の慢性的な軽度の末梢神経系障害に影響していると考えられた。また、油症発症地域における血清脂質と認知機能との関連について、九州大学病院のもの忘れ外来患者 43 例の血清脂質値と神経心理学検査との相関を解析した。血清総コレステロール値は、改訂長谷川簡易認知症評価スケール ($r = -0.360$, $p = 0.018$) および Mini-Mental State Examination ($r = -0.313$, $p = 0.043$) と有意な逆相関を認めた。一方、血清中性脂肪値はいずれの神経心理検査値とも有意な相関は認めなかった。油症患者が発生した福岡地区において、血清総コレステロール高値は認知機能低下のリスクとなる可能性があり、油症患者でも注意する必要があることが示唆された。

8. 患者血液中 PCB/ダイオキシン類と検査項目、検診所見との相関

2001 年度から 2003 年度まで全国油症検診を受診した福岡、長崎、広島のお症認定患者 307 名について、血中 2,3,4,7,8-Penta-chlorinated dibenzofuran (PeCDF) レベル及び血中総 Polychlorinated biphenyls (PCB) レベルと血清脂質濃度、皮膚科・眼科症状との関連を調べた。血中 2,3,4,7,8-PeCDF レベルの増加と血清 HDL コレステロール濃度の減少は統計学的に有意な関連を示した。一方、血中総 PCB レベルは、中性脂肪濃度、黒色面皰と眼瞼結膜色素沈着の有症状割合と統計学的に正の有意な関

連を示した。これらの統計学的関連は、血中 PeCDF など油症原因物質が、現在でも油症患者の健康状態に影響を与えている事を示唆している。これらの結果から、原因物質により影響を受ける臨床検査値や症状が異なっている可能性が示された。

9. 皮膚重症度と血液中 PCB 濃度・PeCDF 濃度の関係についての統計学的検討

2001 年から 2004 年までの間で福岡県一斉検診を受診した患者を対象とし、血液中 PCB 濃度・血液中 PCDF 濃度と皮膚重症度との関係について統計学的に検討を試みた。2002 年度においては血液中 PCB 濃度・PCB パターン・%CB 比・血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度・血液中ダイオキシン類濃度すべてに係数そのものはきわめて弱い相関を示す程度のものであったが相関係数が成立した。PCB パターンについては 4 年中 3 年で、PCB 濃度・%CB 比では 4 年中 2 年で相関係数が成立した。その一方で、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度・血液ダイオキシン類濃度においては 1 年のみ相関係数が成立した。PCB と皮膚重症度との間により密接な関連があるようにも考えられるが、発生から 30 余年を経過した時点での検討であり、今後の検討が必要と考えられる。皮膚重症度各群間では有意差がみとめられた項目もあったが顕著な傾向は認められなかった。

10. データマイニング手法を関連性分析を用いた油症患者の血液検査結果および最近、過去の臨床症状等の組み合わせの検証

1986 年度から 1989 年度と 2001 年度から 2004 年度の両期間において油症患者一斉検診を各々 1 回以上受診し、PeCDF 値を測

定した油症患者の内科検診、血液検査等検査、皮膚科検診、歯科検診、眼科検診における症状の有無を対象データとし、PeCDF との関連を網羅的に調査し、最近と過去の症状の比較を行った。最近の症状より過去の症状の方が、より診断基準に近い項目について関連性が強く出る傾向がみられた。

1 1. 油症患者および、健常人体内の PCDF 類実態調査

平成 16 年度に採血された油症一斉検診受診者 317 名および 60-70 歳代の一般人 128 名の血中ダイオキシン類濃度を測定した。この結果、平成 14~16 年の 3 年間で総数約 1150 件の油症患者の血中ダイオキシン類濃度のデータベースが構築でき、他の検診項目や一般健常人との比較により長期間経過時の患者の実態とダイオキシン類の影響が解析されている。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、一定の値であり、再現性よく精密に測定できた。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。また、平成 17 年度調査 (350 名) は分析実施中である。

1 2. 油症患者血液中 PCB 等追跡調査における分析法の改良およびその評価に関する研究

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。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定、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。

1 3. 油症患者における婦人科疾患の研究

福岡県および長崎県油症患者 605 名を対象として婦人科疾患罹患の実態についてアンケート形式による調査を行った。336 名より回答が得られ、油症暴露前と暴露後における月経に関する異常 (初経年齢、過多月経、月経痛、閉経年齢)、婦人科疾患の合併頻度、および妊娠・分娩の異常 (自然流産、早産) について検討を加えた。現在、統計学的な解析を用いて油症暴露とこれらの異常 (疾患) との関連について検討をすすめている。

1 4. ダイオキシン類曝露による次世代影響の評価

環境化学物質曝露と尿道下裂の関連についての疫学研究

尿道の形成はアンドロゲン依存性であることから、尿道下裂と PCB やダイオキシン類など内分泌攪乱物質との関連が疑われ問題となっている。そこで、現在まで

に、尿道下裂の有病率の現状と内分泌攪乱物質との関連がどこまで明らかにされているかを検討し、さらに、尿道下裂と内分泌攪乱物質に関わる遺伝子多型との関連について解析した。質問紙調査では化学物質の曝露量評価が困難である。両者の因果関係を適切に評価するためには、今後、信頼性の高い前向き研究で器官形成期の化学物質濃度の測定を実施する必要があると考えられた。次いで分子生物学的研究から病因を探る目的で症例対照研究を実施した。尿道下裂の母親 31 例と先天異常を持たない男児を出産した母親 64 名で遺伝子解析を実施し、出産時年齢、出生児体重、妊娠中喫煙で調整したところ、GSTM1, GSTT1 に有意な関連は見られなかったが、CYP1A1 野生型と比較して、変異型ヘテロ、変異型ヘテロ+ホモで有意なオッズ比の低下が見られた（各 OR=0.2, 95%CI=0.04-0.7 OR=0.3 95%CI=0.1-0.97）。低出生体重児の比率が有意に高かったが妊娠中の母の喫煙には差がなかった。CYP1A1 はダイオキシンを代謝する aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) 活性に関わっているのみならず、エストロゲン不活性の 2-OH エストロゲンの代謝を産生することでエストロゲン代謝に関わるので、尿道下裂では母のエストロゲン代謝面への関与が大きいことが示唆されたが、今後は、前向き研究で器官形成期の化学物質濃度の測定を行った上で、関連遺伝子の多型を調べる必要があると考えられた。

停留精巣と PCB をはじめとする環境化学物質曝露との関連についての症例対照研究を行った。症例の母および父の内分泌攪乱物質（有機塩素系殺虫剤、PCB、医薬品、食物性エストロゲンなど）への曝露の有無、種類などを調査し、その因果関係を明らかにすることを目的として、症

例対象研究を行った。1990 年以降に停留精巣の手術を受けた男児 91 名を症例とし、停留精巣・尿道下裂をもたない男児 106 名を病院対照とした。その結果、つわり (OR=1.8 95%CI:0.95-3.5)、異常分娩（帝王切開・吸引分娩・鉗子分娩）(OR=2.3 95%CI:1.2-4.4)、妊娠初期の父のガンリン・ディーゼル曝露 (OR=2.0 95%CI:0.9-4.6)、妊娠初期、妊娠中の父の喫煙 (OR=1.9 95%CI:0.98-3.5, OR=2.0 95%CI:1.1-3.7) であった。今回の調査からは、父親の喫煙などの化学物質との関連が示唆された。食物由来の化学物質やエストロゲン曝露との関連について、魚の摂取、植物エストロゲン摂取について解析したが、有意な差はみられなかった。さらに調査を継続し症例数を増やし解析するとともに生体資料を用いた直接的な曝露評価が重要と考えられた。

母体血中の異性体レベルで測定した PCB・ダイオキシソ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・ダイオキシソ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・ダイオキシソ類濃度および 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。

15. 油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究

動物実験では、食物繊維と葉緑素にダイオキシソ類の体外排泄促進作用が示され

ている。食物繊維と葉緑素を多量に含む栄養補助食品である玄米発酵食品ハイ・ゲンキ葉緑素入り (F B R A) がダイオキシン類の体外排泄促進作用があるか、9組の夫婦の協力により検討した。摂取群と非摂取群を比較すると、2年間の摂取により、油症の主要な原因物質である2,3,4,7,8-PeCDFの体外排泄が約1.8倍高まることが認められ、患者の健康障害改善に有効と考えられた。

また栄養補助食品である(株)キューサイの青汁にそのような作用が認められるかどうか、健康なボランティアの夫婦10組の協力により検討した。その結果、1年間の青汁摂取によりカネミ油症の原因物質であるノンオルソPCBsの体内負荷が1人当りにして平均22 TEQ-ng減り、またダイオキシン類でも128 TEQ-ng減少した。一方、青汁を摂取していないグループでは同じ期間でノンオルソPCBsは1人当たり11 TEQ-ng、ダイオキシン類は91 TEQ-ngの体内負荷の改善が認められた。青汁の摂取により油症原因物質であるノンオルソPCBsとダイオキシン類の体外への排泄がそれぞれ2倍と1.4倍高まることが認められ、青汁が患者の健康障害改善に有効と考えられた。

16. ダイオキシンが男性生殖機能に与える影響に関する予備的検討

健常若年男性のダイオキシン類の曝露状況を把握し、併せてダイオキシン類の男性生殖機能への健康影響を評価することを目的に、43名の男子大学生ボランティアに対し、身体的所見(精巣容積の測定、男性生殖奇形の有無等)の診察、ダイオキシン類の測定ならびに内分泌検査のための採血、および精液検査を行った。採血と精液検査は、個人内変動をみるため

に1か月以内に3回実施した。現在、解析中である。

17. 油症発症機構とPCB/ダイオキシン類の毒性軽減に関する基礎的検討

1) 気道上皮におけるPCB/ダイオキシン類による細胞障害/酸化ストレスの検討

気道上皮由来の細胞株A549にPCB/ダイオキシン類を曝露し、細胞の酸化ストレスを測定した結果、コントロールと比較して酸化ストレスが増強した。TCDD曝露と比較しTCDF曝露では酸化ストレスが弱い傾向にあった。またその酸化ストレスはAhRをノックダウンするsiRNAをA549細胞へ導入することにより減弱した。つまりダイオキシンの曝露により気道の上皮細胞においてAhRを介する経路で酸化ストレスが発生することがわかった。抗酸化作用を有するとされる(-)-epigallocatechin gallateやVitmine Eをダイオキシン類と共に曝露すると、酸化ストレスは低下した。この酸化ストレスは抗酸化作用をもつ(-)-epigallocatechin gallateやVitmine Eを用いることによって減弱できることが明らかになった。

2) ダイオキシン毒性軽減に関する基礎的検討: Heat shock protein 70がarylhydrocarbon receptorを介した転写活性化に及ぼす影響、

これまでにheat shock protein 70 (HSP70)の誘導剤であるgeranylgeranylacetone (GGA)がC57BL/6J雄性マウスにおいて、体重増加抑制などのダイオキシン類毒性の一部を軽減する可能性を明らかにしている。HSP70とarylhydrocarbon receptor (AhR)のタンパク質間相互作用により、ダイオキシン類などのリガンド存在下に起こるAhR活性化をHSP70が抑制するとい

う作業仮説を立て、HSP70 を介したダイオキシン類の毒性軽減について基礎的な検討を行った。HSP70 の特異的誘導剤である

N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal (ALLN) により誘導された HSP70 によって AhR を介した転写活性化が抑制される可能性が強く示唆された。HSP70 レベルを適切に増加させることを通じてダイオキシン毒性が軽減できる可能性が示唆された。

3) 食品成分によるダイオキシン毒性軽減の試み：レスベラトロールによるダイオキシン誘発性脂肪肝の軽減

C57BL/6J 雄性マウスにレスベラトロールを前投与したのち、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) を投与した。その後、レスベラトロール投与を行い、体重変化肝臓の ethoxyresorufin-*o*-deethylase (EROD) 活性、チオバルビツール酸反応性物質 (TBARS) およびトリグリセリド含量について比較検討を行った。レスベラトロールの併用は、TCDD による体重増加抑制作用を弱いながら有意に軽減したが、Ah-レセプターを介したシトクロム P450 1a1 (Cyp1a1) の誘導指標である EROD 活性の誘導の抑制は認められなかった。TCDD 処理により肝トリグリセリド含量が有意に、また著しく増加しており、脂肪肝が惹起されたことが示唆された。しかし、興味深いことに、レスベラトロール併用により TCDD による肝トリグリセリド含量の上昇は有意に軽減された。また、酸化ストレス、脂質過酸化の指標である肝 TBARS は TCDD 処理により有意に増加したが、レスベラトロール併用により有意に低下した。このようにレスベラトロールが、*in vivo* でもダイオキシン毒性を一部軽減し得ることが初めて明らかになった。レス

ベラトロールは抗酸化作用によりダイオキシンによる酸化的ストレスを軽減することを通じて、脂肪肝軽減作用を示す可能性が考えられた。

4) ダイオキシンの精巣ステロイドに対する影響の解析

ダイオキシン類の毒性は、多岐に亘る事が知られているが、中でも妊娠中に 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に曝露された母獣より生まれる胎仔において、性成熟の遅延や性行動不全、さらに精子数の減少といった異常が現れることが明らかとなっている。この機構を明らかにするため、TCDD 曝露胎仔の精巣および副腎におけるステロイドホルモン生合成因子およびステロイドホルモンレセプターの遺伝子発現について半定量的 reverse transcriptional-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて検討した結果、TCDD 曝露胎仔雄の精巣において、steroidogenic acute regulatory (StAR) タンパク質、CYP11A1、CYP17 および CYP11B1 の各 mRNA 量が有意に減少することが明らかとなった。さらに、ステロイドホルステロイドホルモンレセプターの一つである estrogen receptor (ER)- α mRNA 量も有意に低下することが明らかとなった。また、培養ラット胎仔精巣細胞における TCDD 曝露では、StAR、並びに CYP17 の発現低下は観察されなかった。一方、TCDD 曝露胎仔の脳下垂体における黄体形成ホルモン (luteinizing hormone : LH) β subunit の mRNA の発現量の低下も観察されたが、その制御因子である視床下部における gonadotropin releasing hormone の mRNA の発現量は変化しなかった。以上の