

均値を採用した。

1. 骨密度 (BMD) DPX (dual energy X-ray absorptiometry) を用いて、橈骨遠位端にて測定。
2. %YAM (young adult mean)
3. 血清 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTX)
4. 血清骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)
5. 血清カルシウム (Ca)
6. 血清リン (P)

上記、採血は通常の検診にて採血する血清を使用し、採血項目の説明は文書にて行った。

C. 結果

1. 血清 ALD と血清 CK 異常率の年次推移

2000 年から 2007 年まで述べ、916 名の検診者が対象となった。2000 年は 60% で、血清 ALD の低下を認めているが、2008 年では 0% と漸減してきている (図 1)。また、血清 CK 値も 1995 年 21% に血清 CK の上昇を認めていたが、2007 年には 9.2% と血清 CK の異常率の低下を認めている (図 2)。

2. 血中 PCBs、PCQ 濃度と骨代謝マーカーの関係

2007 年、橈骨遠位端の DPX でみた骨密度を年齢との相関みてみると、女性において相関を認めた (相関係数 0.70 $p < 0.001$) (図 3)。%YAM 値と年齢の相関も同様に、男性では相関はなく (相関係数 0.26)、女性では相関を認めた (相関係数 0.66 $p < 0.001$)。骨密度と血清 NTX は男性、女性共に負の相関を示し (男性: 相関係数 0.47 $p < 0.001$ 、女性: 相関係数 0.27 $p < 0.007$)、骨密度が低いと血清 NTX は上昇していた (図 4)。骨密度と血清 BAP は、男性では負の相関を示し (相関係数: 0.35 $P = 0.010$) 骨密度が低いと血清 BAP は上昇していた。女性では、相関は認めなかった (図 5)。骨密度と血清 Ca の関

係は明らかでなかった。骨密度と血清 P の関係は、男性では相関を示したが (相関係数: 0.32 $P = 0.015$)、女性では血清 P との関係はなかった (図 6)。血液 PCBs と骨密度の関係では、男性では負の相関を認めたが、(相関係数: 0.33 $P = 0.019$) 女性では、相関を認めなかった (図 7)。骨密度と血液 PCQ、PCDF では、全く相関関係はなかった。血液 PCB と血清 NTX の関係では、男性で正の相関を認めた (相関係数: 0.69 $P < 0.001$)。女性では相関はなかった (図 8)。血液 PCB と血清 BAP の関係では、男性、女性ともに相関を認めなかったが、閉経している 55 歳以上の女性で負の相関を認めた (相関係数: 0.23 $P = 0.02$) (図 9)。他、血液 PCB と Ca, P, 血液 PCQ と骨密度、NTX、BAP, Ca, P の関係、血液 PCDF と NTX、BAP, Ca, P の関係、血液 TEQ と骨密度、NTX、BAP, Ca, P の関係も検討したが、相関は全く認めなかった。対象となったカネミ油症検診者を男女に分けず、骨密度 (BMD) を従属変数とし、血液 PCB、血液 PCQ、Ca、P、NTX、BAP を独立変数として重回帰分析をすると、年齢 (標準回帰係数: -0.46 , $p < 0.0001$)、血液 PCB (標準回帰係数: -0.307 , $p < 0.0019$)、血清 P (標準回帰係数: -0.164 , $p < 0.0391$)、血清 NTX 標準回帰係数: -0.287 , $p < 0.005$) の関与が考えられた (表 1)。対象となったカネミ油症検診者を男女に分けて、同様に重回帰分析すると、男性では、年齢 (標準回帰係数: -0.406 , $p < 0.01$)、血清 BAP (標準回帰係数: -0.257 , $p < 0.0443$) の関与が考えられた (表 2)。女性では、年齢 (標準回帰係数: -0.744 , $p < 0.0001$)、血清 NTX (標準回帰係数: -0.312 , $p < 0.0055$) の関与が考えられた (表 3)。

D. 考案

血清アルドラーゼ値の異常率は年々減少してきており、今年は全ての者が

正常範囲であった。また、血清CK値の異常率は、年次によるばらつきは大きいものの減少傾向が認められ、PCBの影響は弱くなってきている、もしくは、事件発症後42年を過ぎ当時未成年であった油症検診者の比率が増してきたなどが推察される。

カネミ油症検診者の骨密度には年齢、NTX、血中リンの他に、血中PCB濃度の関与が示唆された。男性は年齢の関与は明らかではなかったが、女性においては、従来報告されているように、骨密度の低下には年齢の関与が最も大きかった。

骨強度は、骨密度と骨質の2因子で成り立つとされる。骨密度(bone mineral density:BMD)は、単位面積または単位体積あたりのミネラル量で表現され、あらゆるヒトの現在のBMDはその個人のピーク骨量とそこから減少速度で規定されている。一方、骨質とは、骨の微細構造、骨代謝回転、微小ダメージの蓄積、石灰化の程度およびコラーゲンなどの骨基質の特性により規定される。現時点では、骨質を数値的に比較的容易に示すことができるのは、生化学的骨代謝マーカーによる骨代謝回転の評価であり、これ以外での臨床的評価は煩雑さを伴うか十分なコンセンサスが得られていない。

骨の代謝とは基本的に古い骨が破壊され、新しい骨に入れ替わる新陳代謝で、骨の破壊を骨吸収、骨の新生を骨形成と言う。骨代謝マーカーとは骨吸収と骨形成の状態を血液や尿を用いて評価する指標の総称である。骨吸収マーカーは骨吸収を担う破骨細胞機能を、また、骨形成マーカーは骨形成を担う骨芽細胞機能をそれぞれ反映する。

今回、測定した骨代謝マーカーとして、骨吸収マーカーは骨基質の主成分であるI型コラーゲンの分解産物であるI型コラーゲン架橋N-テロペプチド(NTX)を血清で測定した。NTXは生理的に日内変動があり、午前中に高値を

呈しやすい。男女ともに骨密度が低い群は、血清NTXは高値をしめし、報告されているように骨代謝が亢進している群では骨密度も低下し、骨折の危険が増す。

アルカリホスファターゼ(alkaline phosphatase:ALP)は細胞膜に存在する糖蛋白質で、アルカリ性の条件下(pH 9~11)でリン酸エステルを無機リンおよびアルコールに分解する酵素である。この酵素は形成する遺伝子によって、4型(小腸型、胎盤型、胎盤様型、臓器非特異型)に分類することができる。このうち、臓器非特異型は肝臓、腎臓、骨組織で多く産生され、それぞれの臓器特異的に糖鎖付の修飾を受けることから、アイソザイムとして電気泳動などで分離可能である。骨組織に特異的に存在するALPは、BAPとよばれる。BAPは細胞膜に存在し、ホスファチジルイノシトール(phosphatidylinositol:PI)介をして膜に結合している。骨形成マーカーとして、本研究で測定した骨型アルカリホスファターゼは、骨芽細胞の機能を反映し、日内変動もなく血清中で比較的安定な値を呈する。PCBは骨芽細胞分化を抑制することが、知られている。血液PCB濃度と血清BAPの相関は、男女とも認められなかったが、閉経期以後の女性でみると相関係数(0.23)は低いが、PCBが高いとBAPは低値となり、PCBが骨芽細胞に作用する報告を支持する。

今回の骨密度、骨代謝マーカーの検討で、男性と女性で骨密度の低下の機序が異なる可能性が考えられる。男性では、骨密度が低いと血清NTXが上昇、血清BAPが上昇し、骨代謝の亢進が起こり、血清Pも上昇する。そして、PCBが高値だと骨密度は低下し、血清NTXは上昇する。男性検診者から見る限り、PCBは骨強度に影響を及ぼさう。

エストロゲンはカルシウム調節ホルモンを介して間接的に骨に作用するだけでなく、骨に直接的あるいは骨局所

因子を介して作用すると考えられている。また、プロゲステロンは骨芽細胞にその受容体が存在し、糖質コルチコイドによる骨吸収作用を抑制すると報告されていて、女性の場合、骨密度、骨代謝に及ぼす因子が、PCBの影響より、より強い可能性がある。

血清Pは副甲状腺ホルモン、カルシトニン VitDにより、コントロールされている。副甲状腺ホルモンは、ビタミンDの存在下でCaとリン酸塩の吸収を促進し、Caイオンが腎臓から排泄するのを防ぐ。カルシトニンは血中CaとPの低下作用があり、破骨細胞および骨細胞に直接作用し、カルシウムの骨からの放出（骨吸収）を抑制する。骨芽細胞にも作用して骨形成を促進する。また、尿細管に作用してリン酸塩の再吸収を抑制する。また、fibroblast growth factor 23は、骨から分泌され、低下すると高P血症や異所性石灰化を来す。男性において、骨密度低下群で血清Pの上昇が観察されたが、この血清Pの上昇の機序は不明である。

E. 結論

カネミ油症検診者において、骨密度の低下、骨代謝の変化が観察された。その影響は、性差によるものより、少ないと推測されるが、今後、注意が必要である。

文献

- 1) Chaki O, Yoshikata I, Kikuchi R, et al : The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res* 15 I 1398-1404, 2000
- 2) Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL : Evidence of estrogen

receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science*, 241 :84 - 86, 1988

- 3) Komm BS, Terpening CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR. : Estrogen binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science*, 241:81 -84, 1988
- 4) Oursler MJ, Osdoby P, Pyfferoen J, Riggs BL, Spelsberg TC : Avian osteoclasts as estrogen target cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88:6613-6617, 1991
- 5) Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y et al : Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 113:561-568, 2004
- 6) 田中郁子、大島久二 : 骨粗鬆症診療における骨代謝マーカー測定の意義 1—ステロイド性骨粗鬆症への骨代謝マーカーの利用。 *Osteoporosis Jpn* 14 (2) : p51-54, 2006
- 7) 吉村俊朗、沖田実、東登志夫、上山裕文、伊藤 聖 : カネミ油症検診者におけるクレアチンキナーゼ上昇の意義、福岡医誌 88 : 216-219, 1997.
- 8) 吉村俊朗、沖田実、川副巧成、中野治郎、中尾洋子 : カネミ油症検診者における血清クレアチンキナーゼ上昇の要因に関する検討、福岡医誌 90 : 246-250, 1999.

- 9) 吉村俊朗, 沖田実, 福田卓, 藤本
 武士, 中尾洋子: カネミ油症検診者
 における血清CK上昇の意義ーラ
 ット筋細胞膜の freeze fracture 法
 による変化ー, 福岡医誌
 92:123-234, 2001.
- 10) 吉村俊朗, 沖田実, 中野治郎、白
 石裕一、岩永洋、友利幸之介、岡本
 眞須美: カネミ油症検診者に見られ
 る血清クレアチンキナーゼとアル
 ドラーゼの異常, 福岡医誌
 94:97-102, 2003.
- 11) 吉村俊朗, 中野治郎、片岡英樹:
 カネミ油症検診者の血清アルドラ
 ーゼ, 福岡医誌 98:143-148, 2007.

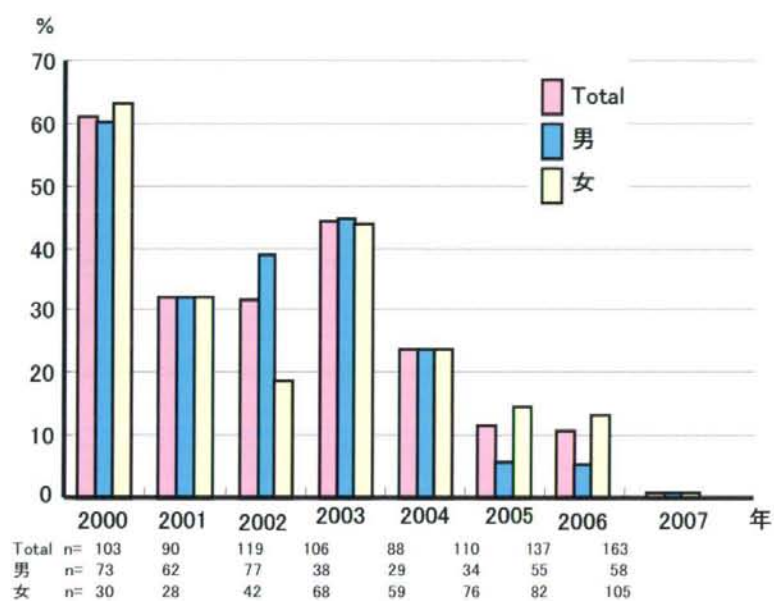


図1血清ALD異常率の年次推移

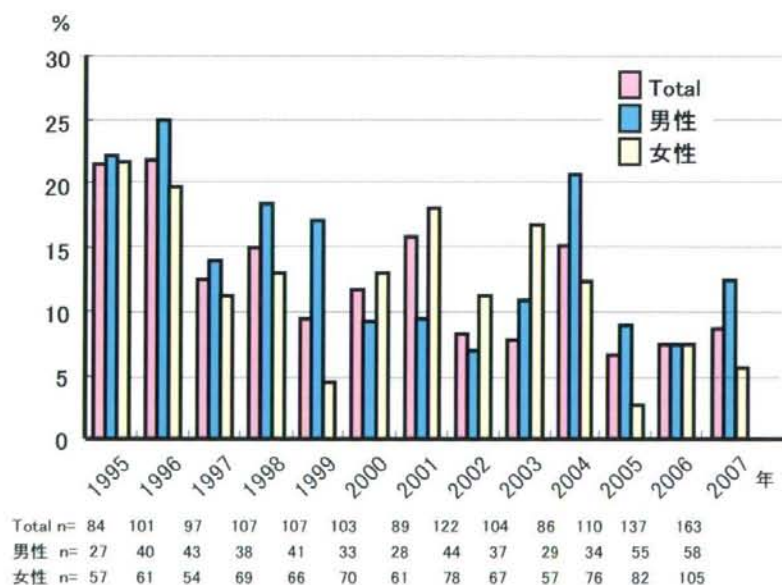


図2 CK異常率の年次推移

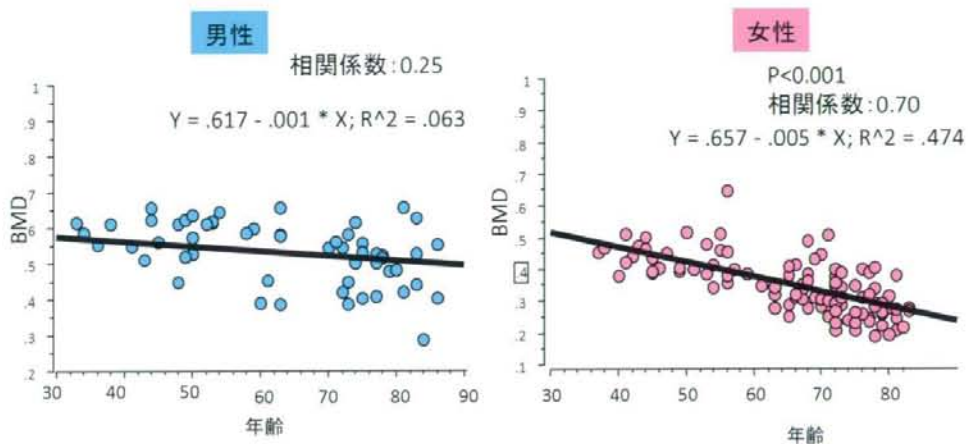


図3 年齢と骨密度

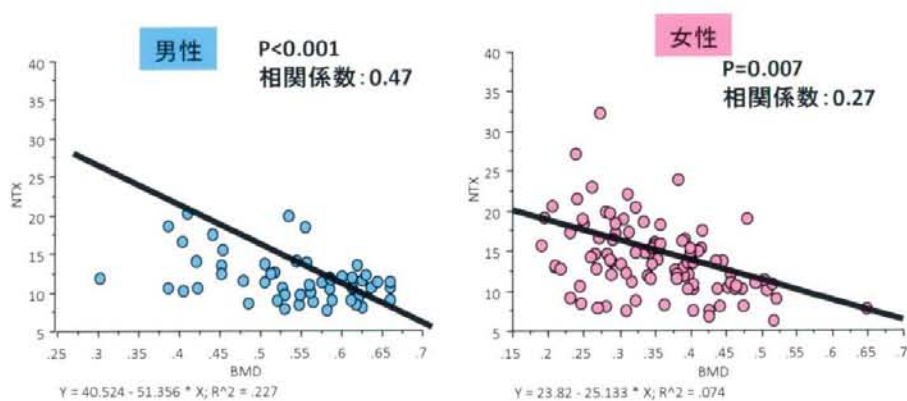


図4 骨密度と血清NTX

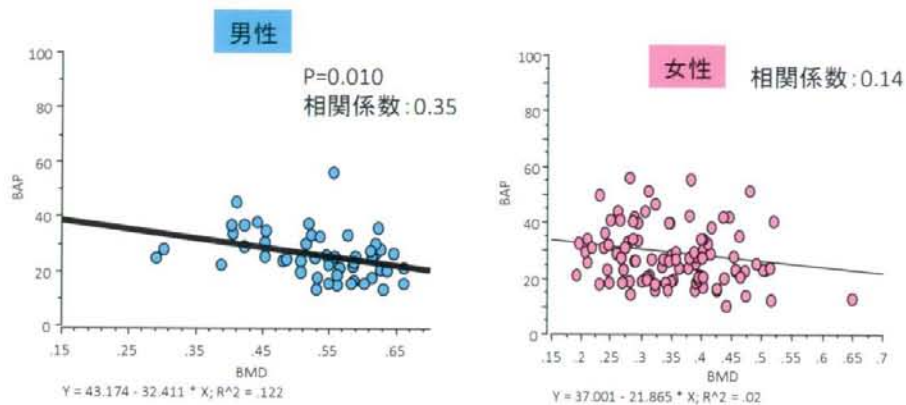


図5 骨密度と血清BAPの関係

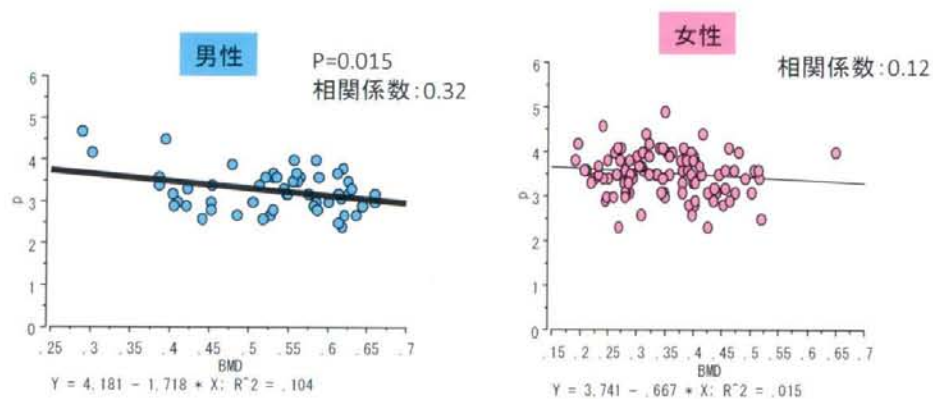


図6 骨密度と血清PTHとの関係

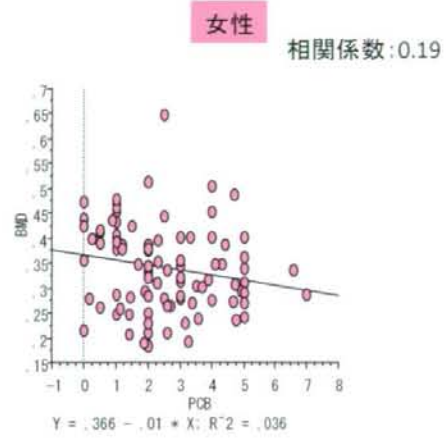
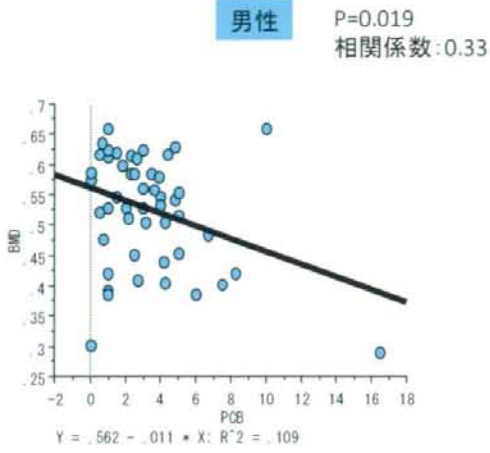


図7 血液PCBと骨密度

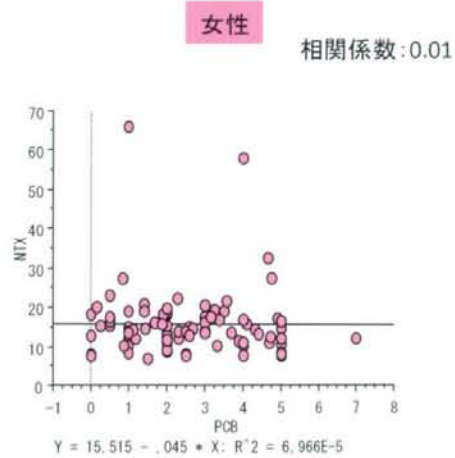
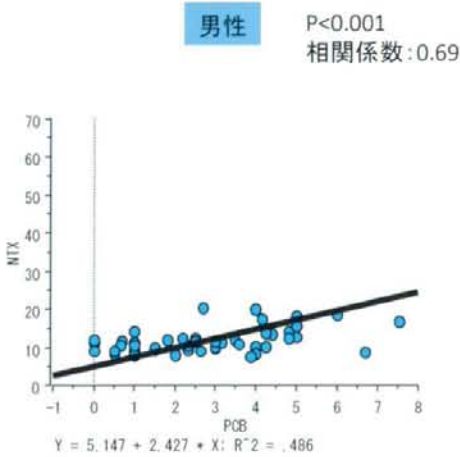


図8 血液PCBと血清NTX

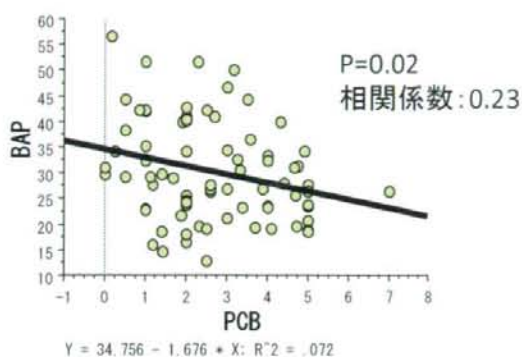


図9 閉経後女性のPCB と BAP

回帰分析概要
BMD 対 7 独立変数

例数	134
欠測値数	78
相関係数 (R)	.560
R 2 乗	.314
自由度調整 R2乗	.276
RMS 残差	.108

分散分析表
BMD 対 7 独立変数

	自由度	平方和	平均平方	F値	p値
回帰分析	7	.676	.097	8.230	<.0001
残差	126	1.479	.012		
合計	133	2.155			

回帰係数
BMD 対 7 独立変数

	回帰係数	標準誤差	標準回帰係数	t値	p値
切片	.862	.080	.862	10.722	<.0001
年齢	-.004	.001	-.460	-5.299	<.0001
PCB	.018	.006	.307	3.166	.0019
PCQ	-.004	.008	-.037	-.479	.6330
Ca	-.001	.001	-.090	-1.218	.2257
p	-.044	.021	-.164	-2.085	.0391
BCE	-.004	.001	-.287	-2.856	.0050
BAP	-1.922E-4	.001	-.019	-.206	.8375

表1 男女混合の重回帰分析結果

回帰分析概要
 BMD 対 7 独立変数
 分割変数：性別
 群：M
 例数
 欠測値数
 相関係数 (|R|)
 R²乗
 自由度調整 R²乗
 RMS 残差

例数	46
欠測値数	35
相関係数 (R)	.706
R ² 乗	.498
自由度調整 R ² 乗	.406
RMS 残差	.068

分散分析表
 BMD 対 7 独立変数
 分割変数：性別
 群：M

	自由度	平方和	平均平方	F値	p値
回帰分析	7	.173	.025	5.395	.0002
残差	38	.174	.005		
合計	45	.347			

回帰係数
 BMD 対 7 独立変数
 分割変数：性別
 群：M

	回帰係数	標準誤差	標準回帰係数	t値	p値
切片	1.083	.327	1.083	3.309	.0021
年齢	-.002	.001	-.406	-2.711	.0100
PCB	.002	.006	.054	.275	.7848
PCQ	-.004	.005	-.088	-.710	.4822
p	-.011	.029	-.054	-.381	.7055
Ca	-.028	.033	-.119	-.843	.4042
BAP	-.002	.001	-.257	-2.080	.0443
BCE	-.003	.002	-.354	-1.727	.0922

表2 男性の重回帰分析結果

回帰分析概要
 BMD 対 7 独立変数
 分割変数：性別
 群：F
 例数
 欠測値数
 相関係数 (|R|)
 R²乗
 自由度調整 R²乗
 RMS 残差

例数	87
欠測値数	43
相関係数 (R)	.709
R ² 乗	.503
自由度調整 R ² 乗	.459
RMS 残差	.064

分散分析表
 BMD 対 7 独立変数
 分割変数：性別
 群：F

	自由度	平方和	平均平方	F値	p値
回帰分析	7	.327	.047	11.415	<.0001
残差	79	.323	.004		
合計	86	.650			

回帰係数
 BMD 対 7 独立変数
 分割変数：性別
 群：F

	回帰係数	標準誤差	標準回帰係数	t値	p値
切片	.609	.060	.609	10.197	<.0001
年齢	-.005	.001	-.744	-7.907	<.0001
PCB	.009	.005	.167	1.729	.0877
PCQ	-.004	.014	-.024	-.291	.7715
p	.028	.016	.152	1.814	.0736
Ca	-.001	.001	-.071	-.881	.3810
BAP	.001	.001	.106	.951	.3447
BCE	-.003	.001	-.312	-2.856	.0055

表3 女性の重回帰分析結果

油症患者における末梢血リンパ球亜集団の検討

研究分担者 辻 博 北九州津屋崎病院内科

研究要旨 2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 156 例について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 濃度および血中 PCB 濃度との関連について検討した。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間には相関を認めず、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度油症患者と高濃度油症患者の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞に差をみなかった。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかったが、血中 PCB 低濃度油症患者に比べ血中 PCB 高濃度油症患者において helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇を認めた。

A. 研究目的

本邦において 1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北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¹⁾。PCDF は、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ・パラ・ジオキシン(PCDD)およびコプラナー PCB とともにダイオキシン類と総称され、これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である²⁾。油症発生以来 40 年が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される³⁾。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。

最近、PCB、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。油症における免疫機能影響については、1996 年度福岡県油症一斉検診において血中 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油症患者における免疫機能の障害が推測された⁴⁾。そして、2007 年度福岡県油症一斉検診において、血中 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に有意の相関を、抗核抗体を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に有意に高頻度に認め、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 PCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する PCDF の慢性的影響が示唆された。

今回我々は、2008 年度福岡県油症一斉検診において末梢血リンパ球亜集団

を測定し、油症原因物質である PCDF の細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

B. 方法

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 157 例中、末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた 156 例を対象者とした。

リンパ球亜集団の測定は抗ヒトマウスモノクローナル抗体を用いフローサイトメトリー法により、helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞、suppressor/ cytotoxic T 細胞を示す CD8 陽性細胞および B 細胞を示す CD20 陽性細胞を T4-FITC、T8-RDI および CD20-FITC(ベックマンコールター(株))を用いて FACS Calibur フローサイトメーター(日本ベクトン・ディッキンソン(株))にて測定した。リンパ球亜集団は、総リンパ球に対する比率で表した。

血中 PCB 濃度は 2008 年度福岡県油症一斉検診において測定した 156 例の測定値を用い、血中

2,3,4,7,8-pentachloro-dibenzofuran

(PeCDF) 濃度は 2007 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2001 年度 2 例、2002 年度 1 例、2003 年度 3 例、2004 年度 5 例、2005 年度 9 例、2006 年度 89 例、2007 年度 26 例の計 135 例の測定値を用い、リンパ球亜集団との関連について検討した。

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

C. 結果

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診し、末梢血リンパ球亜集団の測定に

同意が得られた油症患者 156 例の内訳は女性 81 例、男性 75 例で、平均年齢は 63.4 ± 13.5 (36-91) 歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関($r=0.4831$, $P<0.001$)を、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.4074$, $P<0.001$) を認めた。

油症患者 156 例について血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球亜集団の相関について検討した。血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞 ($r=0.1043$)、CD8 陽性細胞 ($r=0.0141$) および CD20 陽性細胞 ($r=-0.1114$) の間に相関をみなかった。血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の 106 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の 50 例を血中 PCB 高濃度群として、両群間の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞について検討を行なった。血中 PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 1.02 ± 0.47 ppb、血中 PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 3.05 ± 1.21 ppb であった。CD4 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 $43.5 \pm 8.6\%$ に対し血中 PCB 高濃度群 $46.5 \pm 8.4\%$ と有意の上昇を認めた ($P<0.05$)。CD8 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 $29.9 \pm 8.1\%$ に対し血中 PCB 高濃度群 $28.9 \pm 8.5\%$ 、CD20 陽性細胞は血中 PCB 低濃度群 $10.8 \pm 4.5\%$ に対し血中 PCB 高濃度群 $9.6 \pm 3.8\%$ と差をみなかった。

2008 年度福岡県油症一斉検診を受診し、末梢血リンパ球亜集団の測定に同意が得られた油症患者 156 例中、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 135 例について血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球亜集団の相関について検討した。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞

($r=0.0233$)、CD8 陽性細胞 ($r=-0.0319$) および CD20 陽性細胞 ($r=0.0226$)の間に相関をみなかった。そして、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 未満の 58 例を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 以上の 77 例を高濃度群として両群間の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞について検討を行なった。血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 15.4 ± 6.7 pg/g lipids、高濃度群の平均血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 256.1 ± 230.9 pg/g lipids であった。CD4 陽性細胞は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群 $44.8 \pm 7.6\%$ に対し高濃度群 $44.5 \pm 9.0\%$ 、CD8 陽性細胞は低濃度群 $30.0 \pm 7.0\%$ に対し高濃度群 $29.1 \pm 9.1\%$ 、CD20 陽性細胞は低濃度群 $10.1 \pm 4.0\%$ に対し高濃度群 $10.3 \pm 4.6\%$ であり、両群間に差をみなかった。

D. 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⁴⁾。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、

IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0%に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9%に、抗核抗体を 45.6%と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された⁵⁾。また、末梢血リンパ球亜集団の検討において血中 PCB 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ helper/ inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められ、油症患者に高頻度にみられる免疫グロブリン上昇や自己抗体出現の原因となっている可能性が示唆された。

今回の検討では、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間には相関を認めず、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度油症患者と高濃度油症患者の CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度と CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞および CD20 陽性細胞の間に相関をみなかった。しかし、血中 PCB 低濃度油症患者に比べ血中 PCB 高濃度油症患者において helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇を認め、1997 年度と同様の結果であった。PCB 高濃度油症患者における helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の上昇が、油症発生以来 40 年経過した現在においても継続しているものと思われる。今後は油症患者の細胞性免疫機能検査としてフィトヘムアグルチニン(PHA)およびコンカナバリン A(Con-A)などのマイトジェン刺激によるリンパ球幼若化反応を測定し油症原因物質である PCDF の慢性的影響について検討する必要があると考えられる。

E. 参考文献

1. Masuda Y, Yoshimura H: Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance: A Review. *Amer J Ind Med* 5: 31-44, 1984.
2. Gonzalez FJ, Liu SY, Yano M: Regulation of cytochrome P450 genes: molecular mechanism. *Pharmacogenetics* 3: 51-57, 1993.
3. 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ール異性体. *福岡医学雑誌* 76: 150-152, 1985.
4. 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. *福岡医学雑誌* 88: 231-235, 1997.
5. 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. *福岡医学雑誌* 90: 147-149, 1999.

油症認定患者における抗酸化酵素 peroxiredoxin I (Prx I) に対する自己抗体の検討

研究分担者	佐藤伸一	長崎大学医学部皮膚科 教授
研究協力者	梶山雄一郎	九州大学病院油症ダイオキシン 研究診療センター 助教
	清水和宏	長崎大学医学部皮膚科 准教授

研究要旨 PCBの代謝過程で superoxide が発生することが報告され、実際に高PCB血症である油症認定患者において酸化ストレスが亢進していることも報告されている。しかし油症認定患者における酸化ストレスの原因解明には至っていない。今回我々は、抗酸化酵素である Prx I に対する自己抗体が油症認定患者に発現していないか油症認定患者と健常人の血清を用い検討を行った。油症認定患者 56 名、健常人 36 名において抗 Prx I 抗体価はそれぞれ 0.592 ± 0.160 、 0.601 ± 0.152 であり有意差を認めなかった。

A. 研究目的

1968年カネミ油症事件発生後40年以上経過し、初期に認められた激しい症状は消退傾向にあるが、今でも掻癢様の皮膚症状、咳や痰などの呼吸器症状、しびれや頭重などの神経症状、全身倦怠感などの全身症状など多彩な症状で悩まされている。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB), Polychlorinated quarterphenyls (PCQ) 及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF) を含む dioxin 類の混在している事がわかっている。PCBはその代謝過程において superoxide を産生する事が報告されており¹⁾、PCB高値を示す油症患者は酸化ストレスを長期間受け続けていることになる。実際我々は油症患者尿中に脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane が有意に高い事を報告している²⁾。また酸化ストレスに対する防御能を知る目安となる Total Antioxidant Power 値は油症患者におい

て有意な上昇を認めており³⁾、油症は慢性酸化ストレス状態であると考えられる。また一方、酸化ストレスの関与が考えられている全身性強皮症においても 8-Isoprostane の有意な上昇が認められている⁴⁾。全身性強皮症はそれ自体酸化ストレス状態であるが、酸化ストレスにより様々な組織障害が引き起こされ、自己抗体を産生する可能性がある。実際に、全身性強皮症において、抗酸化酵素である peroxiredoxin I (Prx I) に対する自己抗体の存在が認められ、酸化ストレスが増悪する一因と考えられている⁵⁾。そこで今回我々は、油症患者における酸化ストレスの原因を解明すべく、油症認定患者における Prx I に対する自己抗体の検討を行った。

B. 研究方法

①対象:2008年7月に施行された長崎県玉之浦地区油症検診受診者のうち同意を得られた認定患者56名及び年齢をあ

わせた健常人 36 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し抗 Prx I 抗体測定用サンプルとした。

②抗 Prx I 抗体価の測定；ヒト Prx I (Sigma-Aldrich 社製) にてプレートコートし、2 次抗体としてアルカリフォスファターゼ標識ヤギ抗マウス IgG 抗体 (Chemicon 社製) を用いて enzyme-linked immunosorbent assay にて測定した。

③統計的処理：測定した抗 Prx I 抗体値を Mann-Whitney's U test にて検討した。

C. 研究結果

玉之浦より油症患者 56 名、健常人 36 名の平均年齢は各々 70.7 ± 10.4 及び 66.4 ± 12.6 歳で有意差を認めなかった。抗 Prx I 抗体価は ELISA による相対値で各々 0.592 ± 0.160 及び 0.601 ± 0.152 で油症認定患者と健常コントロール間に有意差は認められなかった。(図)

D. 考察

Prx I は近年発見された抗酸化酵素で、他に 5 個の subtype が確認されている⁶⁾。ペルオキシダーゼ活性を有し、酸化ストレスの過程で生じる有害な過酸化水素 (H_2O_2) を還元して、 H_2O を生ずる反応を触媒する。Prx I は様々な臓器で同定され、細胞内に多く含まれることが明らかにされたことことから、生体にとって重要な役割を担っているのではないかと注目を集めている⁷⁾。つまり、Prx I は生体に生じた有害な酸化ストレスを軽減させることによって、酸化ストレスによる組織障害を防御する役割を担っていると考えられている。以前我々は玉之浦地区油症患者において脂質酸化のマーカ

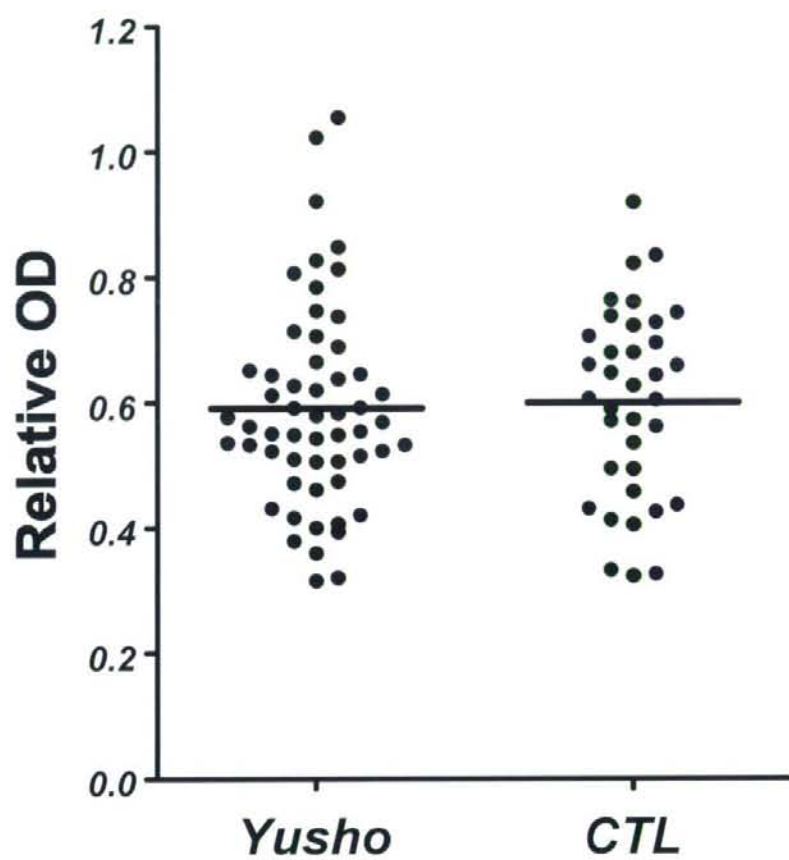
ーである 8-Isoprostane 値の有意な上昇を尿で確認し、油症が酸化ストレス状態である事を報告した²⁾。酸化ストレスは自己抗原を切断し、トレランスが導入されていない抗原エピトープを自己抗原上に露出させることによって、自己免疫反応を誘導することが知られている。酸化ストレス状態である全身性強皮症において Prx I に対する自己抗体が検出され、酸化ストレス増悪の一因と考えられている⁸⁾。そこで今回我々は、油症患者における Prx I に対する自己抗体の検討を行ったが、健常人と比較し有意差は認められなかった。油症患者において脂質酸化のマーカーである尿中 8-Isoprostane 値の有意な上昇を確認し²⁾、また油症認定患者血清中の Total Antioxidant Power が健常人より有意に高いことが確認されている³⁾。今回の検討において油症認定患者における抗 Prx I 抗体は認められず、抗 Prx I 抗体を酸化ストレス増悪の原因の 1 つとするには至らなかった。superoxide に対する生体の抗酸化酵素として他にもスーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼなどが存在する。油症は慢性酸化ストレス状態であることが分かっているため、今後も他の抗酸化システムに関して検討を行い、酸化ストレスの原因解明に努め、更なる検討が油症患者の QOL 向上、治療法の開発に繋がる様に役立てていきたい。

参考文献

- 1) Oakley GG, et al.: Oxidative DNA damage induced by activation of polychlorinated biphenyls (PCBs): implications for PCB-induced oxidative

- stress in breast cancer. *Chem Res Toxicol* 9: 1285-92, 1996.
- 2) Shimizu K, et al.: Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning with polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. *J Appl Toxicol* 27: 195-7, 2007.
 - 3) Shimizu K, et al.: [Estimation of total antioxidant power in the serum of Yusho victims]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 98: 141-2, 2007.
 - 4) Ogawa F, et al.: Serum levels of 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, are elevated in patients with systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)* 45: 815-8, 2006.
 - 5) Iwata Y, et al.: Autoantibody against peroxiredoxin I, an antioxidant enzyme, in patients with systemic sclerosis: possible association with oxidative stress. *Rheumatology (Oxford)* 46: 790-5, 2007.
 - 6) Rhee SG, et al.: Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med* 38: 1543-52, 2005.
 - 7) Wood ZA, et al.: Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends Biochem Sci* 28: 32-40, 2003.

Anti-Prx I Ab



(図)

分担研究報告書

油症患者血中カルボニル化蛋白の検討

研究分担者	佐藤伸一	長崎大学医学部皮膚科 教授
研究協力者	清水和宏	長崎大学医学部皮膚科 准教授
	穂山雄一郎	九州大学病院油症ダイオキシン 診療研究センター 助教

研究要旨 PCBはその代謝過程で superoxide を発生する。高PCB血症である油症は酸化ストレスであり、酸化ストレスの亢進により蛋白は種々の酸化修飾をうける。その中でも蛋白質のカルボニル化修飾は酸化損傷生成物の一つであり油症認定患者と正常健常人の血清を用いて血中カルボニル化蛋白を測定した。油症認定患者 55名、健常人 22名においてカルボニル化蛋白値はそれぞれ 1.087 ± 0.015 nmol/mg、 0.845 ± 0.091 nmol/mg を示し有意差を認めなかった。

A. 研究目的

1968年のカネミ油症事件発生後40年以上経過し、初期に認められた激しい症状はほとんど認められなくなっている。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB)、Polychlorinated quaterphenyls (PCQ) 以外に Polychlorinated dibenzofurans (PCDF) を含む dioxin 類の混在している事がわかっていた。以前は測定できなかった血中 dioxin 類の微量濃度が近年測定可能になった事により油症患者認定の新たな認定基準として PCB、PCQ 以外に血中 PCDF 値が追加されている。¹⁾ PCB はその代謝過程において superoxide を産生する事が報告されており²⁾、血中 PCB 高値を示す油症患者は酸化ストレスを長期間受け続けていることになる。我々はすでに脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane が油症患者尿中において有意に高値を示している事を報告し、油症が酸化ストレスである事を証明している。³⁾ 酸化ストレスの亢進により蛋白は種々の酸化修飾をうける。その中で、蛋白質のカルボニル化修飾は酸化損傷生成物の一つ

であり種々の疾患でその上昇が報告されている。今回酸化ストレスにさらされている油症患者においてカルボニル化蛋白の値を測定し、正常対照と比較する事により油症患者の酸化ストレスの状況を評価検討した。

B. 研究方法

①対象：2008年7月の玉之浦地区油症検診受診者のうち同意を得られた認定患者55名を対象とし、検診時に採血を行い、血清を分離後凍結保存しカルボニル化蛋白測定用サンプルとした。また、年齢を合致させた健常人22名を対照とした。

②血中カルボニル化蛋白値測定：血中カルボニル化蛋白値はカルボニル化蛋白測定キット(日研ザイル(株)日本老化研究所)を用いて測定した。③統計的処理：測定したカルボニル化蛋白値は Mann-Whitney's U test にて比較検討した。

C. 研究結果

玉之浦の油症患者55名、健常人22名の平均年齢は各々 73.2 ± 1.0 及び 72.8 ± 1.3 才で有意差を認めなかった。血中カル

ボニル化蛋白値は各々 1.087 ± 0.015 nmol/mg 及び 0.845 ± 0.091 nmol/mg で、有意差を認めなかった。(図)

D. 考察

蛋白のカルボニル化は酸化ストレスによる酸化修飾生成物の一つであり、種々の酸化ストレスにおいてその高値が報告されている。⁴⁾近年 Winterbourn ら⁵⁾によって簡便な測定法が開発されますます病態におけるその変動が検討されやすくなってきている。一方我々は脂質酸化ストレスのマーカーである 8-Isoprostane の油症尿中における有意な高値を確認し、油症が酸化ストレスであることを報告している。³⁾更に一昨年は初期の酸化をとらえるマーカーとされる Hexanoyl-Lysine の油症患者血中における高値を確認している。即ち油症患者は 40 年の長きにわたり酸化ストレスにさらされてきた事になる。今回の解析では油症患者において平均値は年齢をあわせた正常対照より高値ではあるが有意差を認めなかった。油症が慢性の酸化ストレス状態であるのは間違いなく、酸化修飾も蛋白質のカルボニル化以外に蛋白質のフラグメント化、アミン酸化などありまだまだ検討の余地がある。今後酸化ストレスの影響を細かに検討していく事により油症患者の QOL 改善に役立てれば幸いである。

E. 文献

- 1) 油症の健診と治療の手引き 2004 全国油症治療研究班・追跡調査班
- 2) Gregory G. Oakley et al, Oxidative DNA Damage Induced by Activation of Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Implications for PCB-Induced Oxidative Stress in Breast Cancer. *Chem. Res. Toxicol.*, 9, 1285-1292, 1996
- 3) Shimizu K. et al. Lipid peroxidation is enhanced in Yusho victims 35 years after accidental poisoning of polychlorinated biphenyls in Nagasaki, Japan. *J Appl. Toxicol.*, 27: 195-197, 2007
- 4) Firuzi O. et al, Oxidative stress parameters in different systemic rheumatic diseases. *J Pharmacy Pharmacol* 58: 951-957, 2006
- 5) Buss H. et al, Protein carbonyl measurement by a sensitive ELISA method. *Free Radic Biol Med* 23(3): 361-366, 1997