

摂取量の推定と現在 PeCDF 濃度の比から、一律に半減期 4.0 年を求めこの半減期を用いて、発生当時の体内負荷量を推定し、累積暴露量を推定した。今回の分析の結果、色素沈着に関して、累積暴露量よりも PeCDF 濃度との関連が強い可能性があることが分かった。

15. 油症患者および油症患者より出生した児の初経年齢について血中ダイオキシン類濃度との解析

油症患者および油症患者より出生した児の初経年齢について血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を中心に統計学的に解析した。2005 年に行った婦人科問診調査回答者から 104 名を解析対象とした。油症時に 5 歳以上、0-4 歳、油症後に出生の 3 群間で初経年齢平均値に違いが見られたが、初経年齢を生年で調整するとその違いは統計的な有意水準の境界域にとどまった ($p = 0.05$)。血中ダイオキシンレベルが測定され、初経年齢との解析対象となったのは 25 名であった。油症発生時と初経年齢時の推定血中ダイオキシン類濃度と初経年齢の関連を、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF、3, 3', 4, 4', 5-PeCB (CB-126)、3, 3', 4, 4', 5, 5'-HxCB (CB-169) の 3 異性体について解析したが、統計学的に有意な関連は認められなかった。

16. 妊婦の喫煙状態が血中ダイオキシン類濃度に及ぼす影響に関する研究

1) 妊婦の喫煙状態、AhR 遺伝子多型と PCB・ダイオキシン類濃度との関連

妊婦の喫煙状態と化学物質代謝に関与する AhR R554K 遺伝子多型と血中のダイオキシン類濃度との関連について調べた。出産前血中ニコチン値により妊婦を喫煙群 42 名、非喫煙群 198 名 (低環境的喫煙曝露群 99 名、高環境的喫煙曝露 99 名) とした。その結果、RK/KK 型においては低

環境的喫煙曝露群と比較して、喫煙群では Total non-ortho PCBs 値、Total coplanar PCBs 値、Total PCDDs TEQ 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total coplanar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた (それぞれ $p < 0.05$)。また、RR 型で高環境的喫煙曝露群では、Total non-ortho PCBs 値、Total mono-ortho PCBs 値、Total coplanar 値、Total 値、Total PCDFs TEQ 値、Total PCDD/PCDFs TEQ 値、Total non-ortho PCBs TEQ 値、Total mono-ortho PCBs 値、Total coplanar PCBs TEQ 値、Total TEQ 値で有意な負の関連がみられた (それぞれ $p < 0.05$)。妊婦の喫煙状況が血中の PCB・ダイオキシン類 TEQ 値に影響を与えることが明らかになった。

2) 胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響 — 妊娠中の喫煙の関与について —

喫煙が母体血中ダイオキシン類濃度を与える影響を検討し、胎児期ダイオキシン類曝露と出生体重との関連に与える、喫煙の交互作用の検討を行った。交絡因子で調整した重回帰分析の結果では、Total non-ortho PCBs、Total non-ortho PCBs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ において有意に喫煙群の母体血中濃度が非喫煙群より低い傾向であった。妊娠中の母親の喫煙により、ダイオキシン類とりわけ Coplanar-PCB 類の代謝が促進されている可能性が示唆された。また、喫煙習慣別に母体血中ダイオキシン類濃度が児の出生体重へ与える影響を、重回帰分析にて検討を行った結果、非喫煙群に比べ喫煙群は、出生体重がより減少する傾向が PCDD 類及び PCDF 類濃度において認められ、とりわけ 1, 2, 3, 7, 8-PeCDD、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF において顕著にみられた。一方、Coplanar-PCB 類においてはそ

のような傾向はみられなかった。ダイオキシン類の出生体重への影響が喫煙によって修飾されている可能性が示唆された。

17. 油症検診以外の油症患者の生体試料中のダイオキシン類実態調査

1) 油症患者の母親 12 名から生まれた 18 名の子供(1948 年から 1995 年の出産)のへその緒、油症未認定の母親 3 名方生まれた 5 名の子供(1973 年から 2002 年の出産)及び対象として一般人の母親 10 名から生まれた 12 名の子供(1973 年から 1996 年の出産)のへその緒中のダイオキシン類(PCDDs 7 種、PCDFs 10 種、ノンオルソ Co-PCBs 4 種、モノオルソ Co-PCBs 8 種類)濃度を測定し、異性体ごとの濃度を明らかにした。

分析の結果、油症患者のへその緒中のダイオキシン濃度は一般人に比べ Total TEQ で約 8 倍高く、油症患者に特有に見られる 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 及び 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF の高濃度汚染が認められた。また、出生年とダイオキシン濃度の関係を解析すると油症発生 13 年以内(1970-1981 年)に出生した児のへその緒中に高濃度のダイオキシン類が検出された。

2) 油症被害者 3 名および一般健常者 11 名の女性が出産した時の保存さい帯(へその緒) 28 試料を対象として、ダイオキシン様 PCB (DL-PCB) を分析し、その分析値を基準にして、出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した。その結果、油症発症当時の 1968~70 年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く、それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた。しかし、両化合物の汚染濃度や組成は、油症被害者と一般健常者との間では有意的な差異は認められなかった。

18. 胎児性油症の原因物質に関する研

究

カネミ油症中毒事件発生後 2 年~5 年で出生した 2 名の黒い新生児を含む 6 名の胎児性油症患者と同時期に誕生した 5 名の健常児の保存臍帯を用いて、PCDFs、PCDDs、ダイオキシン様 PCBs および PCBs の濃度を分析・定量した。その結果、胎児性油症の 90% は PCDFs が原因の PCDFs 中毒であることが明らかになった。また、PCDDs とダイオキシン様 PCBs の毒性もそれぞれ 8% と 2% 寄与していることが判明した。

19. PeCDF の体外排出速度と半減期に関する研究

1) 現在の油症患者ごとの排出速度を考慮した PeCDF 排出モデルに関する研究

2001 年度~2006 年度の油症患者一斉検診を受診し、PeCDF 値を測定した油症患者では、患者ごとに半減期が異なっていた。半減期のバリエーションの研究により PeCDF の半減期が患者ごとに異なることがみつかった。特に、200 pg/g 以上の患者では、半減期が 7 年程度の患者と、半減期が無限大、つまり減少していない患者群がいる可能性が示された。このような状況は、今までの研究成果だけでは説明がつかない。これらの現象について、数理モデルを組立て、可能性を見つけ出すことを目的とした。

各患者が二つの吸収機構を有するモデルを想定した数理モデルを組み立て、シミュレーションを実施した。今回想定したモデルは次の二つの吸収機構を有すると仮定した。

(1) 吸収能力は低い、吸収能力の限界が存在しない吸収機構

(2) 吸収能力は高い、吸収能力の限界が存在する吸収機構

これらの二つの吸収機構を想定したことにより、現在の血中濃度の状況を適切に表現可能であると考えられた。これらの二つ吸収機構が存在する可能性を示し

たものとする。これらの吸収機構のうち、(1)の機構は、純粋に浸透圧に主要因とする機構が想定でき、(2)は特定の化合物を選択的に回収する機構が想定できるものとする。

2) 油症の各患者の血中 PeCDF 濃度の半減期のバリエーションに関する研究

油症患者の PeCDF 濃度を 2 を底とする対数に変換したものを従属変数とし、計測年を独立変数として、線形回帰分析が行われた。この線形回帰分析でえられた 1 次の係数は、半減期の逆数である。

PeCDF の半減期は、患者間で非常に大きなばらつきがあった。特に、油症患者の診断基準の一つである PeCDF 濃度 50pg/g 以上の患者群には、既存の報告と同等の半減期 7 年程度を示す患者群と、PeCDF 濃度が減っていない患者群の 2 群が存在した。

これまでの研究は、PeCDF の半減期が約 7 年と報告している。しかし、本研究は、PeCDF 濃度が減少する群と PeCDF 濃度が高濃度で維持されている群の 2 群が存在することを示した。つまり、これまでに提唱されているような濃度に依存した PeCDF の排出モデルのみでは説明ができない患者群が存在することを示している。ゆえに、我々の研究は、ヒトにおける PeCDF の排出を説明するためには、さらに複雑なモデルが必要なことを示唆している。

2 0. 油症原因物質等の体外排泄促進に関する研究

食物繊維と葉緑素に富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 (FBRA) に PCB/ダイオキシン排泄作用が認められるかどうか、油症患者の協力により検討した。その結果、FBRA を 1 年目のみ摂取した A グループと 2 年目のみ摂取した B グループでそれぞれ FBRA の摂

取により、カネミ油症の原因物質である PCDFs が 108ng と 24ng、PCDDs が 16ng と 4ng、PCDFs/DDs が 120ng と 24ng それぞれ体内残留量が低下し、PCDFs、PCDDs の排泄促進が示された。

2 1. 油症認定患者における酸化ストレスの評価

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。

1) 油症認定患者血清中の SS-A 抗体、SS-B 抗体と血中 Catalase 活性の検討

酸化ストレスによる修飾は自己抗体の出現を懸念させる。油症認定患者における自己免疫反応を観察するための対象自己抗原として長崎・玉之浦地区油症検診において、2006 年に同意の得られた油症患者 57 名の SS-A 抗体、および 2007 年は 56 名の SS-B 抗体の血清中の出現頻度を検討した。油症患者において出現頻度は高いものの健常人との間に有意差を認めなかった。

2) 油症認定患者血中 Catalase 活性の検討

油症患者と正常健常人の血清を用いて scavenger enzyme である catalase の活性を測定した。2006 年玉之浦地区油症検診受診者のうち同意の得られた油症患者 45 名および年齢を合わせた健常人 35 名の血中 catalase 活性は各々 31.9 ± 5.7 nmol/min/ml、 26.0 ± 2.3 nmol/min/ml で対照群と油症患者の間に有意差を認めなかった。

3) 油症認定患者の尿中 Hexanoyl-Lysine (HEL) の検討

油症認定患者と正常健常人の尿を用いて初期脂質酸化ストレスの新しいマーカー

一である HEL を測定した。2007 年の玉之浦地区油症検診受診者のうち同意の得られた認定患者 57 名と健常人 51 名において尿 creatinine で補正した値を比較したが、有意差を認めなかった。

4) 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

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。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。その結果、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。

5) 油症患者血中カルボニル化蛋白の検討

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。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。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。

2.2. 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) ダイオキシン曝露による気道上皮傷害の検討

A549 細胞に PCB/ダイオキシン類を曝露した後に酸化ストレスを検討した結果、コントロールと比較して酸化ストレスが増強した。また マウスの実験系にて 7 日間の TCDD 投与後の検討では肺での酸化ストレスの発生は認めなかった。投与量、期間などの問題があると考えられた。今後は組織の TCDD 濃度の測定などを行い、投与量の調節を行い、酸化ストレス、気道の炎症について再評価する必要があると考えられた。

気道上皮由来の細胞株 BEAS2B にダイオキシン類 (TCDD) を曝露の結果、細胞内の aryl hydrocarbon receptor (AhR)、CYP1A1 の蛋白発現レベルは亢進し、酸化ストレスも増強していることがわかった。AhR のアンタゴニストである ANF により CYP1A1 の発現を抑えることにより、酸化ストレスの発生は現弱した。抗酸化作用をもつ Vitamine E の併用により酸化ストレスは減弱したものの CYP1A1 の発現には変化が認められなかった。

2) PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害モデル作成に関する研究

PCB/ダイオキシン類による呼吸器障害の機序解明のため、動物モデルの作成を検討した。

2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) をコーンオイルで溶解し、C57B1/6 マウス雌、6 週齢に以下の 2 通りの経路で投与した。(1) TCDD 100 μ g/kg あるいは 200 μ g/kg を day1 から day5 までマウスに経口摂取させた。コーンオイルのみを経口摂取した群をコントロールとした。Day 7 に肺を取り出し、HE 染色組織標本を作製、評価した。(2) TCDD 15 μ g/kg を day1 から day5 までマウスに腹腔内投与した。コントロール群はコーンオイル

のみを腹腔内投与した。day6にBAL液を回収して炎症細胞数、細胞分画について測定した。またに肺を取り出し、HE染色組織標本を作製して評価した。

経口投与モデルでは、TCDD 100 µg/kg 群(n=4)あるいは200 µg/kg 群(n=4)においてコントロール群(n=4)と比較し、肺組織所見に有意差は認めなかった。腹腔内投与モデルでは、TCDD投与群とコントロール群の間でBAL液中の炎症細胞数と細胞分画に有意差はみられなかった。TCDD群7匹中1匹の肺組織所見で、肺胞隔壁肥厚、肺胞出血が認められたが、のこり6匹では異常所見がなく、コントロール群との比較で有意差は認められなかった。

3) ダイオキシンの aryl hydrocarbon receptor signaling を介したケモカイン・サイトカインの産生

喫煙者の血中濃度と報告される40 nMのbenzo(a)pyrene (BaP)をヒト表皮細胞に投与したところ、コントロールと比較して有意なIL-8の産生量の増加が認められた。IL-8の産生量は、BaPの用量依存性の増加が認められた。また、aryl hydrocarbon receptor (AhR)の選択的なantagonistであるresveratrolをBaPと同時に投与したところ、IL-8の産生量が減少したことから、ヒト表皮細胞におけるBaPによるIL-8の産生は、AhR signalingを介していることが示唆された。

4) Proteasome 阻害剤が芳香族炭化水素レセプターを介したシグナル伝達に及ぼす影響

HSP70 誘導能と proteasome 阻害能をもつ

N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal (ALLN)により、AhR 依存的なタンパク質発現が抑制されることが明らかとなっている。AhRによる遺伝子発現活性化は、ダイオキシンの毒性発現において最も

重要な要因の一つである。このため、この制御機構を明らかにすることは、その毒性発現機構の解明に新たな知見を与えると共に、ダイオキシン類中毒の治療法、もしくは予防法の開発に向けて重要な知見となると考えられる。以上のような背景のもと、本研究では、ALLNによるAhRを介したシグナル伝達に対する影響の詳細を明らかにするため検討を行った。ヒト乳ガン細胞であるT47D細胞にAhRのリガンドである

3-methylcholanthrene (3MC) および ALLN を処理し、AhR の細胞内動態と発現量変動、並びに CYP1A/1B を標的とした転写活性化能を検討した。その結果、ALLN は AhR の発現量に変化を与えることなく、3MC による AhR の核内蓄積を促進することが明らかとなった。一方、ALLN は、CYP1A1 および 1B1 の mRNA の発現量に影響しないにもかかわらず、その活性指標である ethoxyresorufin O-deethylase 活性の AhR 依存的な増加を抑制することも明らかとなった。また、このような現象は、proteasome 阻害剤である lactacystin を処理した場合では観察されたが、HSP70 のシャペロン機能阻害剤 gentamicin では観察されなかった。以上の結果から、ALLN による AhR のシグナル伝達に対する影響は、proteasome 阻害作用に起因している可能性が示唆された。

5) Cholebine によるダイオキシン排泄促進

Cholebine のダイオキシン排泄促進作用について検討を行った。5週令のWistar系雄性ラットに

¹⁴C-2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PenCDF, 2.9 MBq/mg) を 0.5 mg/kg body weight/3 mL corn oil 経口投与し、cholebine 含有飼料を与え1週間飼育した。その結果、cholebine 摂取1日日において、PenCDFの糞中排泄量が対照群

に比べ約 15% 増加した。2 日目以降については、有意差は認められるもののその差はいずれも 1% 以下であった。一方、臓器中の PenCDF 残存量については、脳を除いて、cholebine により 20~30% の低下が観察された。次に、観察期間を 28 日間に延長し、同様の検討を行った。その結果、糞中排泄促進効果については短期処理実験の結果と同様であったが、臓器中の PenCDF 残存量は、脳を除き、cholebine による軽減効果は認められなかった。さらに、cholebine は、PenCDF と直接結合せず、胆汁酸などの因子を介して結合し、糞中排泄を促進している可能性が考えられた。以上の結果から、cholebine はダイオキシンの初回吸収は効果的に抑制するが、ラットを用いた本検討からみる限り、再吸収に関しては顕著な抑制効果を示さなかった。

6) ダイオキシン後世代影響の抗酸化物質による軽減

ダイオキシン後世代影響を軽減する物質の探索を目的として、2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 母体曝露によって惹起される胎児ステロイドホルモン合成酵素発現低下に対する抗酸化物質の影響を観察した。妊娠 15 日目の Wistar 系ラットに抗酸化物質を尾静脈内投与し、そのうち TCDD を経口投与した。その翌日より妊娠 20 日目まで初回と同用量の抗酸化物質を尾静脈内投与し、胎児の精巣と脳下垂体におけるステロイドホルモン合成関連タンパク質の mRNA 量を定量した。その結果、TCDD 母体曝露による胎児精巣のステロイドホルモン合成酵素 mRNA の低下は、 α -リポ酸 (LA) の併用によりほぼ完全に回復することが明らかとなった。また、胎児脳下垂体における性腺刺激ホルモン mRNA の発現低下も、LA を併用することによりコントロールレベルまで回復した。

一方、LA 以外の抗酸化物質では、同様の回復効果は認められなかった。以上の結果から、LA は胎児の性腺刺激ホルモンの回復を介してステロイドホルモン合成系の障害を消去するものと考えられ、これは抗酸化的ストレス作用以外の機構を介して惹起される可能性が示された。

7) 食物成分 resveratrol によるダイオキシン中毒症状軽減の試み：

resveratrol の投与による

2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 毒性への影響を、特に誘発性脂肪肝および酸化的ストレス発生を中心として検討した。その結果、TCDD とレスベラトロールを併用投与したマウスにおいて、TCDD 単独投与したマウスに比べ体重増加抑制の軽減、並びに肝トリグリセリド蓄積の軽減が観察された。一方、TCDD による酸化的ストレスの発生、並びに肝障害に対しては顕著な改善効果は見られなかった。また、resveratrol 単回投与による影響を観察した結果、TCDD 誘発性脂肪肝に対する resveratrol の軽減効果において、酸化的ストレスの関与は低いものである可能性が示された。

代謝酵素の阻害剤である piperine を併用することにより、TCDD のマウス体重増加抑制に対する resveratrol の軽減効果が増強された。また、resveratrol を皮下投与した場合、TCDD 処理マウスの体重増加抑制はコントロール群と同程度まで回復することが明らかとなった。また、TCDD による酵素誘導の指標である *erhoxiresorufin O*-deethylase 活性、並びに酸化的ストレスの指標であるチオバルビツール酸反応生成物量に関しても、resveratrol の皮下投与では経口投与時に比べ顕著に低下した。この場合、resveratrol 皮下投与時における血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積は、経口投与時に比べ約 4 倍増加した。以上より、

resveratrol の bioavailability を改善することにより、ダイオキシン類毒性軽減効果を増強することができる可能性が強く示唆された。

resveratrol の臨床応用を目指す基礎研究の一環として、resveratrol の経口、皮下および経皮投与における bioavailability を比較・検討した。

Wistar 系雄性ラットに resveratrol を投与した場合、血漿中薬物濃度 - 時間曲線下面積 (area under the curve extrapolated infinity, AUC_{inf}) は、経口投与 < 皮下投与 < 経皮吸収の順番で増加する傾向が認められた。また、平均滞留時間と半減期についても、同様の傾向が認められた。ダイオキシン中毒症状に対する resveratrol の適用には、さらなる吸収効率の改善は必要不可欠であるが、経皮吸収法は有望な手段の一つであると考えられた。

8) 食物成分 piperine によるダイオキシン類毒性軽減の試み

ダイオキシン類の中毒症状に対する有効な予防法の開発を目的として、黒胡椒の辛味成分である piperine に注目し、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 毒性に対する効果を検討した。その結果、piperine 自体は、高用量をマウスに与えた場合、体重増加抑制、脾臓や胸腺の重量低下が観察された。しかし、このような影響が現れない用量では、TCDD による体重増加抑制および脂肪肝の誘発を軽減することが明らかになった。また、piperine の作用機構について検討した結果、TCDD により増加する酸化ストレスの軽減を通じて発揮される可能性が示された。一方、piperine と curcumin を併用して curcumin の最高血中濃度、およびその維持時間を改善した場合、curcumin による酸化ストレス除去能、および遊離脂肪酸代謝能が減弱することが明らかに

なった。この研究にて、piperine はダイオキシン類の中毒症状に有効であると考えられたが、他の有効成分と併用した場合、その効果を減弱させる可能性も示唆された。

9) ダイオキシンの精巣ステロイドに対する影響の解析

2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 母体曝露時に胎仔脳下垂体において生成される性腺刺激ホルモンの分泌量が低下し、胎仔精巣において、ステロイドホルモン合成酵素の発現量が顕著に低下すること、この TCDD による作用は胎仔特異的なものであり、成獣雄ラットへの TCDD 曝露では惹起されないことが明らかにされている。

TCDD 曝露による後世代影響の胎仔期特異性の原因を明らかにするため、TCDD を脳室内投与した成獣雄ラットの精巣におけるステロイドホルモン合成酵素の発現量の変化を検討した。その結果、TCDD の直接的な脳への曝露にもかかわらず、成獣では精巣のステロイドホルモン合成酵素の発現量に変化は認められなかった。また、脳下垂体より分泌される黄体形成ホルモンと濾胞刺激ホルモンの発現量も、TCDD による低下は観察されなかった。以上の結果から、TCDD による胎仔期特異的な後世代影響は、胎仔の脳自身の反応性に起因して発症する可能性が示唆された。

10) 2,2',3,4',4,5',6-七塩素化ビフェニル(CB183)のin vitro代謝の動物種差

本代謝物の親 PCB としては CB187 と CB183 が考えられるが、昨年までに CB187 代謝を数種類の実験動物で検討したところ、主代謝物ではないがラットおよびモルモットで生成されることを確認した。そこで本研究では、CB183 から生成されるか否か明らかにするため、ラット、モルモットおよびハムスター肝ミクロゾーム

(Ms)による *in vitro* 代謝を調べた。その結果、いずれの動物肝でも2種類の代謝物 (M-1, M-2) が生成された。これらの代謝物の化学構造は、GC-MS および別途合成した標準品との比較から、それぞれ $3' -CH_3O-CB183$ および $5-CH_3O-CB183$ であると同定され、上記 $4-OH-CB187$ はいずれの動物肝 Ms によって、全く検出されなかった。また、M-1 と M-2 の生成活性はラットで最も高いこと、すべての動物で PB 前処理により生成が促進されることも明らかとなった。

以上の結果から、 $4-OH-CB187$ の親 PCB は、 $CB187$ であり、 $CB183$ からは生成されないことが示唆された。

1 1) 2,2',3,4',5,5'-六塩素化ビフェニル (CB146) の動物肝による *in vitro* 代謝

4 -水酸化 (OH)- $CB146$ は PCB 代謝物のうち、哺乳動物血液中で、 $4-OH-CB187$ に次いで、2番目に高濃度で検出されている。 $CB146$ からの生成の有無を明らかにするため、ラット、モルモット、ハムスターおよびヒト肝マイクロゾームによる *in vitro* 代謝を調べた。その結果、3種類の一水酸化体 (M-1, M-2 および M-3) が生成され、このうち、M-1 と M-2 はそれぞれ $3' -OH-CB146$ と $4-OH-CB146$ であることが明らかとなった。特に $4-OH-CB146$ (M-2) はラットで生成活性が高いこと、ラットに次いでヒト肝で高いことも明らかとなった。なお、 $4-OH-CB146$ の生成はモルモットを除き、フェノバルビタールおよび3-メチルコラントレン前処理ラットおよびハムスター肝 Ms でほとんど増加しなかった。この結果は、 $4-OH-CB146$ の生成にフェノバルビタール誘導性の P450、すなわち CYP2B 酵素があまり関与していないことを示唆している。一方、 $3' -OH-CB146$ の生成はフェノバルビタール前処理ラット、モルモットおよびハムスター肝マイクロゾームのいずれでも著しく増加したことから、CYP2B 酵素の強い関与が示唆された。

1 2) 2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル (CB149) の動物肝マイクロゾームによる代謝

ヒト血液中には、 $CB153$ や $CB138$ などの未変化体に加え、PCB 代謝物として 4 -hydroxy (OH)- $CB187$ や $4-OH-CB146$ などが高濃度で検出されている。最近、ヒト血液中から新たに $4,5$ -diOH- $CB149$ が検出されたことから、本研究では、この代謝物の母化合物を明らかにするため、 $CB149$ の *in vitro* 代謝をラット、モルモットおよびハムスター肝マイクロゾーム (Ms) を用いて調べた。その結果、主代謝物として2種類の OH 体 (M-1, M-2) と、1種類の diOH 体 (M-3) が生成された。さらに、GC-MS により別途合成した標品と比較した結果、M-1, M-2 および M-3 はそれぞれ $5-OH$ 体、 $4-OH$ 体および $4,5$ -diOH 体であることが明らかとなった。主代謝物の M-1 および M-3 の生成は、ラットで最も多く、ハムスター、モルモットの順であった。また、両代謝物の生成は、PB 前処理により、促進され、特にラットでは未処理の数100倍以上であった。なお、M-2 は M-1 に比べ、非常に少ないものの PB 前処理のラットとハムスターで生成された。以上の結果より、ヒト血中で検出された

$4,5$ -diOH- $CB149$ は $CB149$ から少なくとも $5-OH$ 体を経由して生成されることが確認された。また、 $CB149$ 代謝には PB 誘導性の P450、すなわち CYP2B 酵素が強く関与することが明らかになった。

D. 結論

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2006年度に14名、2007年度に6名、2008年度に6名を新たに油症患者と認定でき、全認定患者は1,924名になった(2008年12月末現在)。油症検診では全科とも患者の高齢化に伴い、油症特有の症状に加齢による影響が

伴っており注意深い観察を要する。油症相談員による患者の健康相談の他、聞き取りや文書により、癌などの既往歴、骨粗鬆症や関節障害の有無、家族構成の情報聴取、アレルギー疾患の既往歴および食生活に関するアンケートを聴取でき、患者の健康実態の調査も進んでいる。検診でダイオキシン類濃度を測定することができるようになり6年が経過した現在、油症患者に今なお残存する症状とダイオキシン類濃度、各種検査項目との相関について解析し、ダイオキシン類の長期にわたる生体への影響が解明されつつある。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を開発するための基礎的研究にて、新たな知見が得られている。

E. 健康危険情報

なし