

500 種以上の異性体が存在するが、生体内で主に検出される 5 異性体 (4-OH-CB107、4-OH-CB146、3-OH-CB153、4-OH-CB172、4-OH-CB187) を測定対象とした。表 1 に使用した OH-PCB 標準物質、内部標準を示した。また、表 2 に LC/MS/MS の測定条件(装置)、表 3 に LC/MS/MS の測定条件(Mass)を示した。

分析対象は平成 22 年度油症一斉検診のダイオキシン類測定対象の油症認定患者 230 名の中から任意に抜き出した 180 名である。

(倫理面への配慮)

研究結果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。また、本研究は「福岡県保健環境研究所疫学研究倫理審査委員会要綱」に基づき、審査を受け承認されたものである(受付番号第 21-3 号(1)平成 22 年 5 月 10 日承認)。

### C. 研究結果・考察

OH-PCB の一部異性体は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内で甲状腺ホルモンレセプターと結合し、残留あるいはホルモン作用をかく乱する可能性があることが報告され、健康影響が危惧されている。OH-PCB 類の分析法は血液から抽出、精製後誘導体化し高分解能 GC/MS 等を用いて測定する方法が報告されている。しかし、①誘導体化の際に異性体により反応性が異なる可能性があること、②LC/MS/MS を用い分離測定が出来れば誘導体化を省略できること、③我々の血液中ダイオキシン、PCB 類一斉分析法で同時に OH-PCB も分析することができればより簡便に多種類の化学物質の測定が可能になるため新たな分析法を開発した。従来の OH-PCB 分析法である誘導体化し高分解能 GC/MS を用いた測定を行っている国内の他機関と同一試料を用いたクロスチェックを実施したが分析結果はほぼ同等であった。

平成 22 年度油症一斉検診の油症認定患者の一部(180 名)の血液中 OH-PCB 濃度を

測定した結果を表 4 に示した。総 OH-PCB 濃度の平均値は 310pg/g (49-3295pg/g) で最も濃度の高い OH-PCB の異性体は 4-OH-CB187 であった。油症認定患者は PCB に汚染された食用油を摂取しているため血液中総 PCB 濃度の平均は約 5ppb と一般人の平均値より数倍高い。油症認定患者の血液中総 OH-PCB 濃度も 先行研究で報告されている一般人血液中総 OH-PCB 濃度 (16-92 pg/g) の 3.4-19 倍であった。OH-PCB 濃度は生体の代謝機能や体内の化学物質濃度・組成により異なることが推測され今後の解析が必要と考えている。今後、油症認定患者の血液中 OH-PCB 濃度と臨床症状との関係の解明並びにダイオキシン、PCB 類との関連を解析する予定である。

### D. 結論

少量の血液からダイオキシン、PCB、OH-PCB 類を同時に測定できる一斉分析法を開発し、平成 22 年度油症一斉検診の油症認定患者の一部(180 名)の血液中 OH-PCB 濃度を測定した。その結果、油症認定患者の血液中総 OH-PCB 濃度は一般人の 3.4-19 倍であることが明らかになった。今後、油症認定患者の血液中 OH-PCB 濃度と臨床症状との関係の解明並びにダイオキシン、PCB 類との関連を解析する予定である。

E. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant women by LC/MS/MS. Organohalogen Compounds. 74. 43-45. 2012.

2. Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. *Organohalogen Compounds*. 74. 763-766. 2012.
3. Miyawaki T, Hori T, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M. CONCENTRATIONS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS COLLECTED FROM MEDICAL CHECK-UPS IN 2010. *Organohalogen Compounds*. 74. 885-887. 2012.
2. 学会発表
1. Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant women by LC/MS/MS. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
2. Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
3. Miyawaki T, Hori T, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M. CONCENTRATIONS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS COLLECTED FROM MEDICAL CHECK-UPS IN 2010. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
4. 梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀就英、宮脇崇、飛石和大、高尾佳子、平田輝明、岸玲子、古江増隆：血液中 PCB 類濃度のクロスチェック，第 21 回環境化学討論会（松山市）、2012 年 7 月 11-13 日
- G. 知的所有権取得
1. 特許取得 なし
  2. 実用新案登録 なし
  3. その他 なし

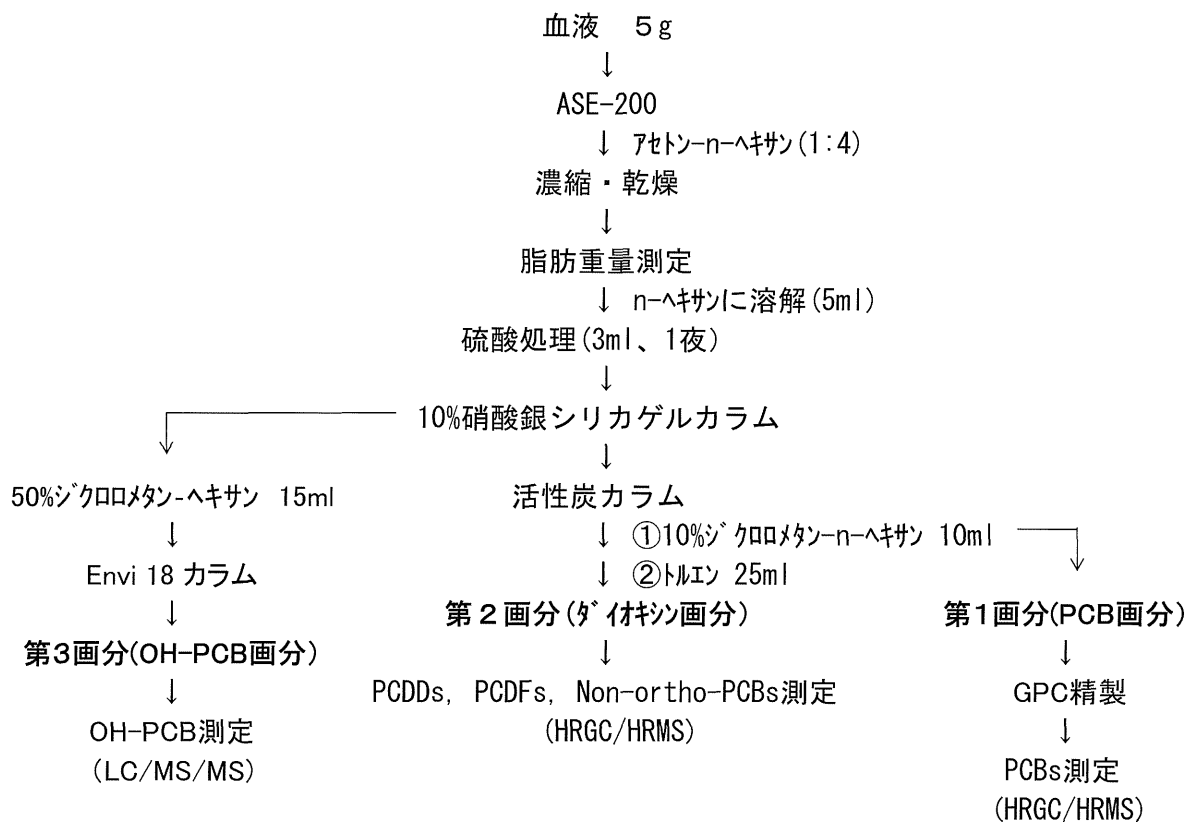


図1. 血液中PCDDs, PCDFs, PCBs及びOH-PCB一斉分析法

表 1. OH-PCBs standards

Compounds	Abbreviation	
4-OH-2,3,3',4',5-PeCB	4-OH-CB107	4H107
3-OH-2,2',3',4,4',5-HxCB	3'-OH-CB138	3H138
4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	4-OH-CB146	4H146
4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB	4'-OH-CB172	4H172
4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB	4-OH-CB187	4H187

OH-[<sup>13</sup>C<sub>12</sub>]-PCBs for internal standards

Compounds	Abbreviation	
4-OH-2,3,3',4',5-PeCB	4-OH-CB107	M4H107
4-OH-2',3,4',5,5'-PeCB	4'-OH-CB120	M4H120
3-OH-2,2',3',4,4',5-HxCB	3'-OH-CB138	M3H138
4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	4-OH-CB146	M4H146
4-OH-2',3,3',4',5,5'-HxCB	4-OH-CB159	M4H159
4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB	4'-OH-CB172	M4H172
4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB	4-OH-CB187	M4H187

表 2 LC/MS/MS による OH-PCB 測定条件(装置)

Instrument	LC: UPLC (Waters) MS/MS: XEVO (Waters)
Column	L-column2 ODS 2.1x100mm, 2 μm
Flow Rate	0.2 mL/min.
Injection Volume	20 μL
Column Temperature	50 °C
Mobile Phase	2mM Ammonium acetate : Methanol = 60 : 40 → 5 : 95 linear gradient
Temperature; Source	120 °C
Desolvation	350 °C
Gas Flow; Cone	Nitrogen, 50 L/hr
Desolvation	Nitrogen, 600 L/hr
Voltage; Cone	40 V
Capillary	2.0kV
Collision	Argon, 10kV
Ionization	ESI-Negative

表 3 LC/MS/MS による OH-PCB 測定条件(Mass)

Compounds		Precursor ion → product ion m/z
OH- PeCB	<sup>12</sup> C	340.87 → 34.97
	<sup>13</sup> C	352.91 → 34.97
OH- HxCB	<sup>12</sup> C	374.83 → 34.97
	<sup>13</sup> C	386.87 → 34.97
OH- HpCB	<sup>12</sup> C	408.79 → 34.97
	<sup>13</sup> C	420.83 → 34.97

表 4 油症認定患者の血液中 OH-PCB 濃度(2010 年、n=180)

	OH-PCB	Mean	Median	Min.	Max.	SD	CV
PeCB-OH	<b>4-OH-CB107</b>	67	48	ND	525	69.10	1.03
HxCB-OH	<b>4-OH-CB146</b> + 3-OH-CB153	95	69	8.4	1163	106.88	1.12
HpCB-OH	<b>4-OH-CB187</b>	115	77	10	1271	130.48	1.13
	4'-OH-CB172	29	20	ND	383	35.26	1.24
Total OH-PCB		311	233	41	3295	312.36	1.00

ND:Not detected, SD:Standard deviation,CV:Coefficient Variation (pg / g)

## 分担研究報告書

## PCB149代謝に関与する新たなチトクロムP450分子種の解明

研究分担者 古賀 信幸 中村学園大学栄養科学部 教授  
 研究協力者 太田 千穂 中村学園大学栄養科学部 講師

**研究要旨** PCBの代謝(水酸化反応)には、チトクロムP450のCYP1A、CYP2BおよびCYP2A酵素が関与することが知られている。本年度は、新たにCYP3A酵素の関与を明らかにするため、CYP3A酵素の誘導剤(DEX)および阻害剤(KCZ)を用いてPCB149の代謝に及ぼす影響を調べた。DEX前処理ラット肝ミクロゾーム(Ms)を用いて、PCB149代謝を調べたところ、未処理Msに比べ、5-OH体の顕著な増加と4,5-diOH体の新たな生成が観察された。さらに、これら代謝物の増加は、CYP3A1タンパクの顕著な増加とよく一致した。また、阻害剤KCZを添加したところ、5-OH体と4,5-diOH体の生成が強く阻害された。これらの結果から、ラットにおけるPCB149代謝には、CYP2B1とともに、CYP3A1が関与することが示唆された。

## A. 研究目的

2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (PCB101) や2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (PCB149)のようなmeta-para位に塩素が未置換のベンゼン環を有するPCB異性体は、塩素数が多いにもかかわらず、比較的容易に代謝される<sup>1-4)</sup>。最近、ヒト血中から4,5-dihydroxy (diOH)-2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (PCB149)が新たに検出されたことから、当研究室ではラット肝ミクロゾーム(Ms)によるPCB149の代謝を調べたところ、主代謝物として5-OH体が、また微量代謝物として4-OH体および4,5-diOH体が生成されること、さらにphenobarbital (PB)前処理により、いずれの生成も著しく促進されることを明らかにした<sup>3)</sup>。これまでPCBの水酸化反応にはチトクロムP450のCYP1A、CYP2BおよびCYP2A酵素の関与が知られているが<sup>4)</sup>、一方、PBはCYP2B酵素以外にCYP3A酵素も誘導することから<sup>5)</sup>、PCB代謝におけるCYP3A酵素の関与に興味を持たれる。また、CYP3A酵素はヒト肝において最も含量が多いだけでなく、薬物代謝の約50%に関与する重要な代謝酵素である。そこで、本年度は、PCB149代謝におけるCYP3A酵素の関

与を明らかにするため、CYP3A酵素の特異的な誘導剤および阻害剤を用いてPCB149代謝に及ぼす影響を調べた。

## B. 研究方法

- ① 実験動物および薬物処理: Wistar 系雄性ラット(体重約 250g)を用いた。肝 Ms の調製は未処理、PB および dexamethazone (DEX) 前処理ラットより肝を摘出し、常法により行った。PB は 80mg/kg(生理食塩水に溶解)の用量を、また MC は 20mg/kg(コーン油に溶解)の用量を毎日1回、3日間腹腔内に投与した。DEX は 100mg/kg(コーン油に溶解)の用量を毎日1回、3日間腹腔内に投与した。最終投与後翌日に屠殺し、直ちに肝を摘出した。
- ② PCB149代謝活性: PCB149、5-OH体あるいは4-OH体をNADPH存在下、好氣的にラット肝 Ms とともに HEPES 緩衝液(pH 7.4)中で、37°C、60分間インキュベート後、chloroform-methanol (2:1, v/v)および *n*-hexane で抽出し、diazomethane でメチル化後、GC-ECDにて測定した。代謝物の定量はPCB149の検量線を用いて行った。
- ③ 代謝阻害実験: PCB149 代謝の阻害は、C

YP3A 阻害剤の ketoconazole (KCZ)を用いて行った。

④肝 Ms の Western blotting: ラット肝 CYP2B1 および CYP3A1 に対する抗体を用いて、DEX および PB 前処理 Ms 中の CYP2B および CYP3A 酵素の免疫染色を行った。

(倫理面への配慮)

「中村学園大学における動物実験のための指針」に従い、ラットの屠殺に際しては、苦痛をできるだけ軽減するため、軽くエーテル麻酔後後頭部を強打して気絶させ、頸動脈からの脱血により死亡させた。

### C. 研究結果

未処理Msでは、5-OH体のみ(11 pmol/min /mg protein)が検出されたが、DEX前処理Msにより、5-OH体は未処理Msの22倍に増加した(Fig. 1および2)。さらに、微量であるが、4,5-diOH体および4-OH体も新たに生成された。また、5-OH体と4-OH体を基質として用い、DEX前処理Msによる4,5-diOH体の生成を調べた結果、5-OH体および4-OH体からの生成はいずれも、未処理Msの約2~3倍に増加した(データ未掲載)。

次に、KCZ添加によるPCB149代謝の阻害を試みた。その結果、25  $\mu$ M添加により、DEX前処理Msによる5-OH体および4,5-diOH体の生成は、未添加時のそれぞれ約50%および20%までに阻害された(Fig. 3)。

さらに、ラットCYP2B1およびCYP3A1に対する抗体を用いて、未処理Ms、DEX前処理MsおよびPB前処理Ms中の両P450分子種の免疫染色を行った。その結果、Fig. 4に示すように、DEX前処理Msにおいて、CYP3A1タンパクの顕著な増加が認められた。また、PB前処理Msにおいては、CYP2B1タンパクの顕著な増加とともにごく微量であるがCYP3A1タンパクが観察された。

### D. 考察

今回、DEX 前処理の結果、PCB149 代謝において、5-OH 体の顕著な増加と 4,5-diOH 体の新たな生成が観察された。さらに、これらの活性の増加は、CYP3A1 タンパクの顕著な増加とよく一致していた。また、CYP3A 酵素の特異的な阻害剤 KCZ の添加により、5-OH 体と 4,5-diOH 体の生成が強く阻害された。これらの結果から、ラットにおける PCB149 代謝には、CYP2B1 とともに、CYP3A1 が関与することが示唆された。

### E. 結論

ラット肝において、CYP2BおよびCYP3A酵素が、PCB149の代謝に強く関わっていることが明らかになった

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Y. Kato, S. Tamaki, K. Haraguchi, S. Ikushiro, M. Sekimoto, C. Ohta, T. Endo, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa Comparative study on 2,2',4,5,5'- pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level between C57BL/6 and Its transthyretin- deficient mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **263**, 323-329 (2012)
- 2) K. Yamamoto, A. Yahada, K. Sasaki, K. Ogawa, N. Koga, and H. Ohta, Chemical markers of Shiikuwasha juice adulterated with Calamondin juice. *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 13102-13109 (2012).
- 3) T. Endo, Y. Hisamichi, O. Kimura, H. Ogasawara, C. Ohta, N. Koga, Y. Kato, K. Haraguchi, Levels of mercury in muscle and liver of star-spotted dogfish (*Mustelus manazo*) from the northern region of

Japan: a comparison with spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, in press (2013).

## 2. 学会発表

- 1) C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga, Involvement of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149). *Organohalogen Compounds*, **74**, 1475-1478 (2012). 32th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Cairns Convention Center, Cairns, Australia) 平成 24 年 8 月 26~31 日
- 2) Y. Kato, S. Tamaki, K. Haraguchi, S. Ikushiro, M. Sekimoto, C. Ohta, T. Endo, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa, 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl-mediated inhibition of a serum T<sub>4</sub>-transthyretin complex formation is one of cause for the PCB-induced changes in the serum and hepatic T<sub>4</sub> levels in mice. *Organohalogen Compounds*, **74**, 1377-1380 (2012). 32th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Cairns Convention Center, Cairns, Australia) 平成 24 年 8 月 26~31 日
- 3) 太田千穂, 原口浩一, 遠藤哲也, 加藤善久, 松原 大, 古賀信幸, 海洋生物由来の 2,4,6-tribromoanisole の *in vitro* 代謝と抗酸化活性. フォーラム 2012: 衛生薬学・環境トキシコロジー (名古屋国際ホテル、名古屋) 平成 24 年 10 月 25, 26 日
- 4) 児玉良太, 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸, PCB138 の主代謝物 2'-OH-PCB157 のモルモットにおける分布と排泄経路におけるラット CYP3A 酵素の関与. フォーラム 2012: 衛生薬学・環境トキシコロジー (名古屋国際ホテル、名古屋) 平成 24 年 10 月 25, 26 日
- 5) 太田千穂, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲

也, 古賀信幸, PCB99 の動物肝ミクロゾームによる代謝. 日本薬学会第 133 年会 (パシフィコ横浜、横浜市) 平成 25 年 3 月 27~30 日

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## I. 参考文献

1. N. Koga, C. Ohta, K. Haraguchi, M. Matsuoka, Y. Kato, T. Endo, The formation of a catechol metabolite of 2,2',4,5,5'-pentachlorobiphenyl (CB101) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans. *Organohalogen Compounds*, **69**, 1757-1760 (2007).
2. 太田千穂, 俵岡樹子, 原口浩一, 加藤善久, 遠藤哲也, 古賀信幸, 2,2',4,5,5'-五塩素化ビフェニル(CB101)のラット, ハムスターおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝. 福岡医誌, **98**, 236-244 (2007).
3. C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo, N. Koga, Metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149) by liver microsomes from rats, hamsters, guinea pigs and humans. *Organohalogen Compounds*, **71**, 298-301 (2009).
4. 古賀信幸, 太田千穂, 油症研究Ⅱー治療と研究の最前線ー(古江増隆, 赤峰昭文, 佐藤伸一, 山田英之, 吉村健清編). 九州大学出版会, pp.200-218 (2010).
5. H. Kim, D.A. Putt, R.C. Zangar, C.R. Wolf, F.P. Guengerich, R.J. Edwards, P.F. Hollenberg, R.F. Novak, Differential induction of rat hepatic cytochromes P450 3A1, 3A2, 2B1, 2B2, and 2E1 in response to pyridine treatment. *Drug Metab. Dispos.*, **29**, 353-360 (2001).



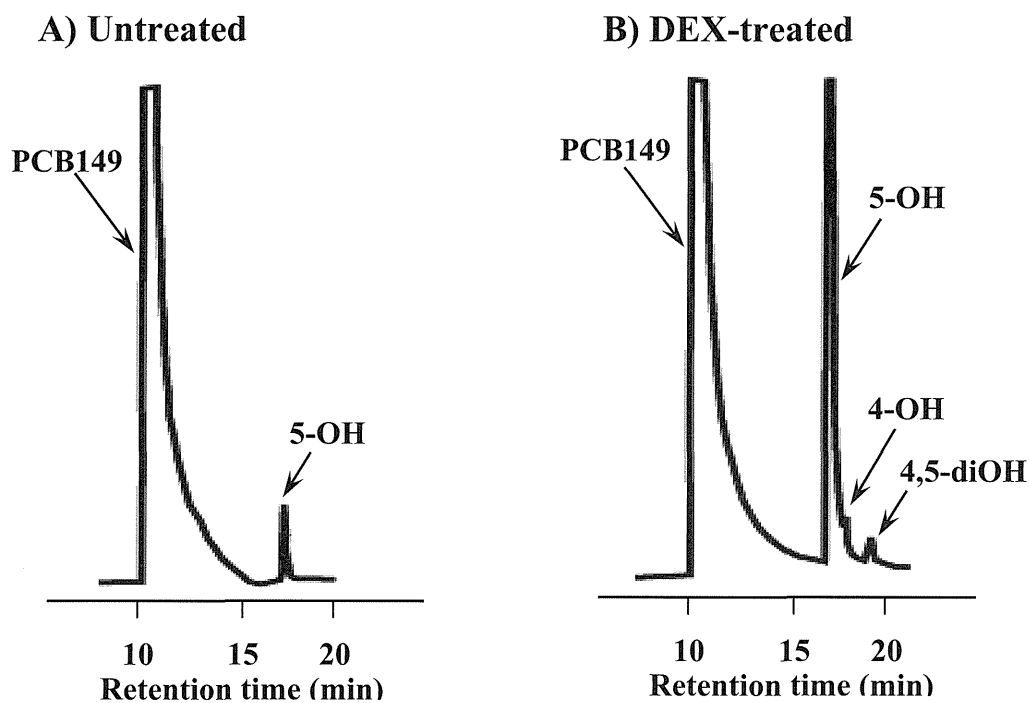


Fig. 1 GC chromatograms of the methylated derivatives of PCB149 metabolites formed by liver microsomes of untreated (A) and DEX-treated (B) rats.

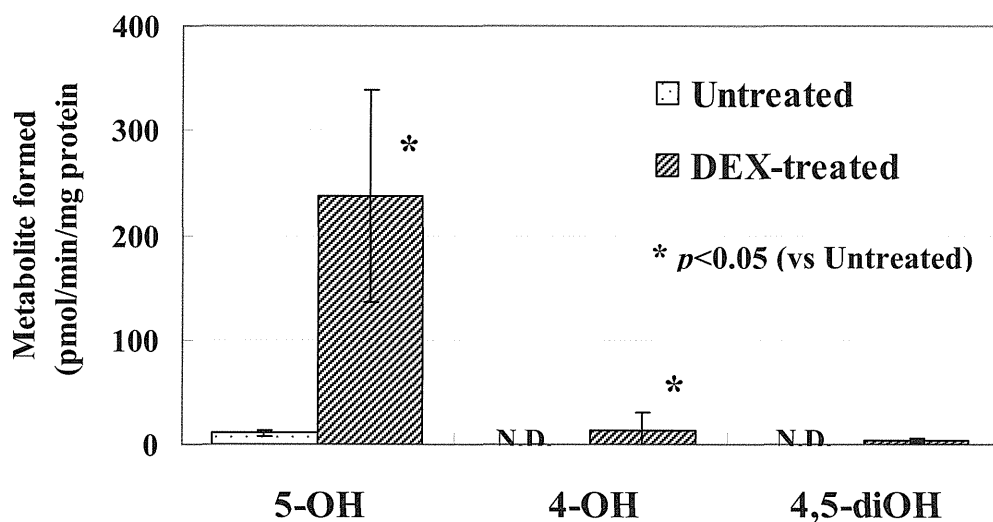


Fig. 2 Metabolism of PCB149 by liver microsomes of untreated and DEX-treated rats

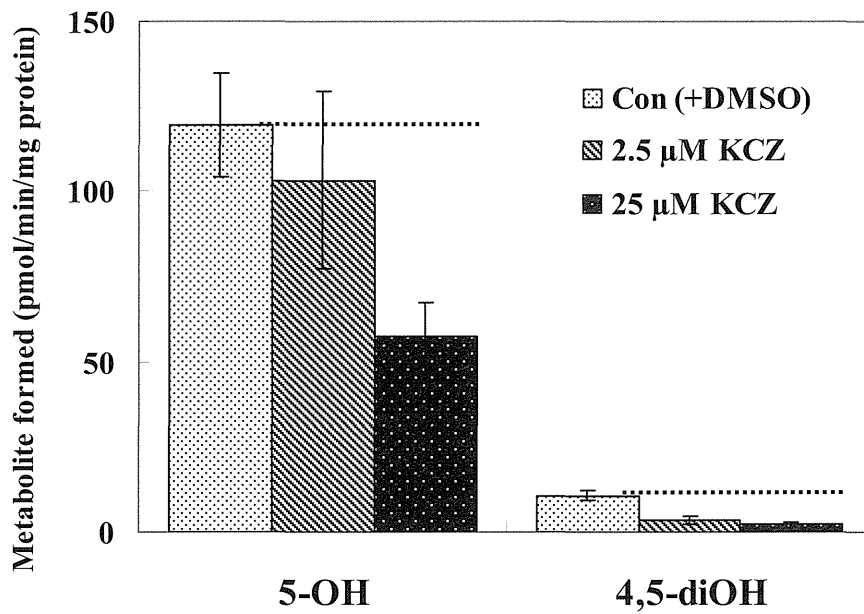


Fig. 3 Effect of KCZ on PCB149 metabolism by liver microsomes of DEX-treated rats

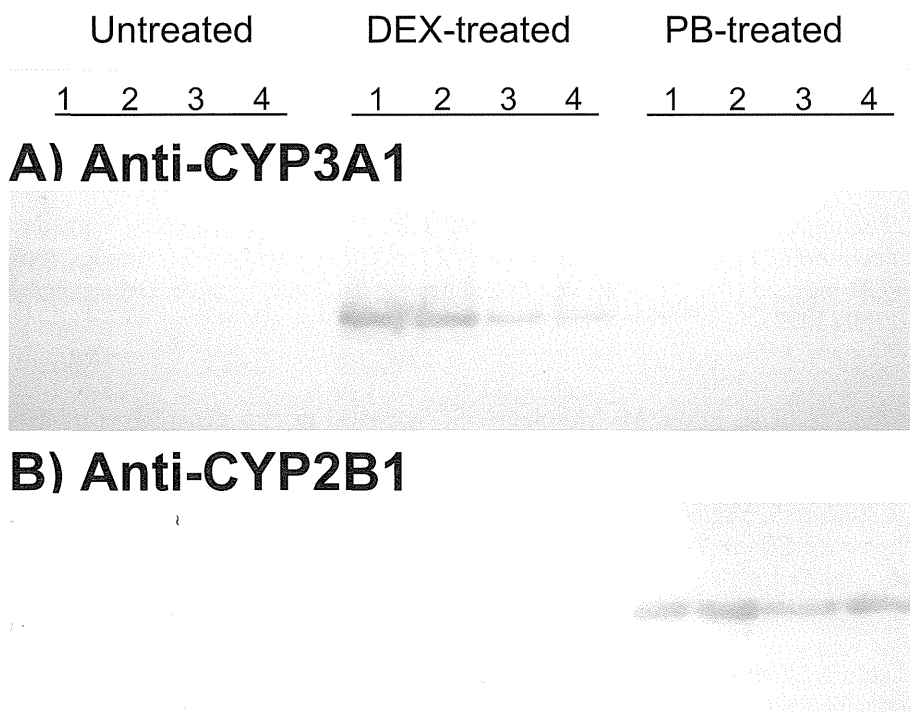


Fig. 4 Immunostaining of rat liver microsomes by antibodies against rat CYP3A1 and rat CYP2B1

厚生労働科学研究費の補助を受けたことが明記された書籍・雑誌

書籍：著者氏名，論文タイトル名，書籍全体の編集者名，書籍名，出版社名，出版地，出版年，ページ

【厚生労働科学研究費により刊行】 なし

雑誌：発表者氏名，論文タイトル名，発表誌名，巻号，ページ，出版年，

【古江増隆】

Li D, Takao T, Tsunematsu R, Morokuma S, Fukushima K, Kobayashi H, Saito T, Furue M, Wake N, Asanoma K. Inhibition of AHR transcription by NF1C is affected by a single-nucleotide polymorphism, and is involved in suppression of human uterine endometrial cancer. *Oncogene*. 2012 Dec 3. doi: 10.1038/onc.2012.509. [Epub ahead of print]

Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: Association with fetal Yusho disease. *Chemosphere*. 2012 Sep 6. [Epub ahead of print].

Koga T, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Uchi H, Tsukimori K, Yamamoto M, Himeno M, Furue M, Yamada H. Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with  $\alpha$ -lipoic acid. *PLoS One*. 2012;7(7):e40322..

Chiba T, Chihara J, Furue M. Role of the Arylhydrocarbon Receptor (AhR) in the Pathology of Asthma and COPD. *J Allergy (Cairo)*. 2012;2012:372384.

Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Morokuma S. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. *Epidemiology*. 2012 Mar;23(2):349-50.

【古賀信幸】

C. Ohta, K. Haraguchi, Y. Kato, T. Endo and N. Koga, Involvement of rat CYP3A enzymes in the metabolism of 2,2',3,4',5',6-hexachlorobiphenyl (CB149). *Organohalogen Compounds*, **74**, 1475-1478 (2012).

Y. Kato, S. Tamaki, K. Haraguchi, S. Ikushiro, M. Sekimoto, C. Ohta, T. Endo, N. Koga, S. Yamada and M. Degawa, 2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl-mediated inhibition of a serum T4-thyroxine complex formation is one of cause for the PCB-induced changes in the serum and hepatic T4 levels in mice. *Organohalogen Compounds*, **74**, 1377-1380 (2012).

【月森清巳】

Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Morokuma S. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. *Epidemiology*. 23(2):349-350, 2012.

Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: Association with fetal Yusho disease. *Chemosphere*. 90(5):1581-1588, 2013.

【山田英之】

Takeda T., Fujii M., Taura J., Ishii Y., Yamada H. Dioxin silences gonadotropin expression in perinatal pups by inducing histone deacetylases: a new insight into the mechanism for the imprinting of sexual immaturity by dioxin. *J. Biol. Chem.*, 287(22): 18440-18450 (2012).

Koga T., Ishida T., Takeda T., Ishii Y., Uchi H., Tsukimori K., Yamamoto M., Himeno M., Furue M., Yamada H. Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with  $\alpha$ -lipoic acid. *PLoS ONE*, 7(7): e40322 (2012).

雑誌：発表者氏名，論文タイトル名，発表誌名，巻号，ページ，出版年，

【内 博史】

Tsukimori K, Uchi H, Tokunaga S, Yasukawa F, Chiba T, Kajiwara J, Hirata T, Furue M. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: Association with fetal Yusho disease. *Chemosphere* 2012 Sep 6. [Epub ahead of print]

Koga T, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Uchi H, Tsukimori K, Yamamoto M, Himeno M, Furue M, Yamada H. Restoration of dioxin-induced damage to fetal steroidogenesis and gonadotropin formation by maternal co-treatment with  $\alpha$ -lipoic acid. *PLoS One* 2012;7:e40322.

Uchi H, Yasukawa F, Kiryu H, Hashimoto K, Furue M. Infundibular cyst with seborrheic verruca-like cyst walls in a patient with Yusho disease exposed to dioxins. *Eur J Dermatol* 2012;22:687-8.

Tsukimori K, Yasukawa F, Uchi H, Furue M, Morokuma S. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. *Epidemiology* 2012;23:349-50.

【平田輝昭】

Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant women by LC/MS/MS. *Organohalogen Compounds*. 74. 43-45. 2012.

Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. *Organohalogen Compounds*. 74. 763-766. 2012.

Miyawaki T, Hori T, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hirata T, Uchi H, Furue M. CONCENTRATIONS OF POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN BLOOD OF YUSHO PATIENTS COLLECTED FROM MEDICAL CHECK-UPS IN 2010. *Organohalogen Compounds*. 74. 885-887. 2012.

【吉村健清】

Tsukimori T, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. Maternal exposure to high levels of dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environmental International* 2012,38;79-86

Takesumi Yoshimura., Yusho: 43 years later., *Kaohsiung Journal of Medical Sciences* (2012) 28,(2), S49-S52.

二塚信, 吉村健清. 食品汚染による中毒の認定をめぐる最近の動向－水俣病・カネミ油症. *医学のあゆみ* 244 (10) (2013. 3 月)

## 分担研究報告書

### クロレラによるカネミ油症患者の治療研究

研究分担者 長山 淳哉 福岡工業大学環境科学研究所 客員研究員

研究要旨 カネミ油症の根本的な治療は、今でも油症患者体内に残留・蓄積している油症原因物質(PCDFs)を積極的に体外へ排泄し、体内蓄積量を低減させることである。今回はクロレラを用いて、この視点からの治療研究を行った。本報告では、その試験概要を記載するが、最終的な統計学的結果は現在解析中である。

## A. 研究目的

カネミ油症(油症)中毒事件が1968年に福岡県と長崎県を中心として発生して以来、45年が経過しようとしている。中毒事件発生当初に油症患者に認められた激しい中毒症状は、最近ではあまり認められなくなっている。しかし、患者は今でもさまざまな臨床症状や自覚症状で苦しんでおり、原因物質である2,3,4,7,8-五塩化ダイベンゾフラン(2,3,4,7,8-PeCDF)とポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDFs)の平均濃度は今でも、健常者よりも約10倍高い<sup>1)</sup>。したがって、油症患者の臨床症状や自覚症状を根本的に改善・治療する唯一の方法は、油症原因物質の体外への排泄を促進し、その体内汚染レベルを下げることである。

動物実験により、食物繊維と葉緑素を多量に含有するクロレラにはPCDFsやポリ塩化ダイベンゾダイオキシン(PCDDs)の消化管での吸収と再吸収を抑制し、体外への排泄を促進することが認められている<sup>2)3)</sup>。このような動物実験の結果より、我々はクロレラ工業(株)の保健食品クロレラ(ヤクケンバイオリンク)にも同様の効果が期待されると考え、油症患者の治療研究を行うことにした。

## B. 研究方法

治療研究の対象となるのは原則として、血中ダイオキシン類(PCDFsとPCDDsとダイオキシン様PCBs)濃度が50pg-TEQ/g lipid以上で、福岡県と長崎県に在住の油症患者である。この条件を満たす患者に対して、研究内容を記載した文書により、十分に説明したその結果、研究の主旨に賛同し、研究への協力に同意したのは37名の患者であった。これらの患者をA、B二つのグループに分けた。Aグループは男性6名、女性14名で、平均年齢が64.1歳であった。Bグループは男性5名、女性12名で、平均年齢は67.4歳であった。

Aグループは最初の8ヶ月間、そしてBグループはその次の8ヶ月間、毎食後1日3回、1粒200mgのクロレラ工業(株)の保健食品クロレラ(ヤクケンバイオリンク)粒剤を10粒飲んでいただく。つまり、Bグループは最初の8ヶ月間、そしてAグループはその次の8ヶ月間はクロレラを飲まずに、通常の食事をするようになる。研究を開始する直前と研究開始8ヶ月後および16ヶ月後に採血を行い、血中ダイオキシン類濃度を測定し、クロレラ摂取による濃度変化を調べた。

### (倫理面への配慮)

油症相談員と研究分担者により、この調査の目的と方法、調査への参加とその撤回、調査による利益・不利益、プライバシーや個人情報の保護、調査費用および調査に関する連絡先などについて、ヘルシンキ宣言にのっとり文書により、長崎県および福岡県の研究協力者に対して、十分に説明し、了解されている。

## C. 今後の統計学的解析

臨床データ、検査値、副作用、ダイオキシン濃度などを入力し、統計学的解析を行う。

## 参考文献

1. Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori J *et al*; *Fukuoka Acta Med* 98: 222-231, 2007.
2. Morita K, Matsueda T, Iida T and Hasegawa T; *J Nutr* 129: 1731-1736, 1999.
3. Morita K, Ogata M and Hasegawa T; *Environ Health Perspect* 109: 289-294, 2001.

