

分担研究報告書

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

研究分担者	平田輝昭	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	梶原淳睦	福岡県保健環境研究所	生活化学課 課長
	平川博仙	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	堀 就英	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	小木曾俊孝	福岡県保健環境研究所	生活化学課 技師
	飛石和大	福岡県保健環境研究所	計測技術課 専門研究員
	宮脇 崇	福岡県保健環境研究所	計測技術課 主任技師
	戸高 尊	九州大学医学部	学術研究員
	飯田隆雄	(財)北九州生活科学センター	理事

研究要旨 油症認定患者の血液中水酸化 PCB (OH-PCB) 濃度を測定するため血液中ダイオキシン及び PCB 類一斉分析法を再検討し、OH-PCB 類を同時に測定できる分析法を開発した。本分析法を用い平成 22 年度油症一斉検診の油症認定患者 (総数 230 名) の一部(183 名)の血液中 OH-PCB 濃度を測定した結果、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。油症認定患者の血液中 OH-PCB とダイオキシン、PCB 類濃度との関連を解析したところ、OH-PCB と PCB 濃度には正の関係が認められたが、OH-PCB と PCDD/DF の濃度には有意な関係は認められなかった。

A. 研究目的

「血中 PCB 濃度及び性状の異常」は油症診断基準の所見のひとつである。「血中 PCB 濃度」は一般人でも高い場合があるため「血中 PCB の性状」の異常が油症診断に採用されている。「血中 PCB の性状」とは、PCB のパックドカラムガスクロマトグラムピークパターン (GC パターン) のことであり、その異常とは油症認定患者の PCB GC パターンが一般人とは異なる特有の GC パターンを示すことを指している。具体的には油症認定患者では血液中 PCB GC パターンの PCB#118 を主成分とするピーク 1 が相対的に低く、PCB#156 を主成分とするピーク 5 が相対的に高いことに基づいてお

り、最も濃度の高い PCB#153 を主成分とするピーク 2 を基準として、これに対する比を取ることで、油症認定患者と一般人の違いを明確にすることができる。

生体内に取り込まれた PCB 類は、チトクローム P450 等の酵素により OH-PCB に代謝され排泄されると考えられており、PCB#118 が相対的に低い原因は、油症認定患者は体内のダイオキシン、PCB 濃度が高いため代謝酵素が誘導されていると推察されている。一方、一部の OH-PCB 異性体は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、レセプターと結合し生体内に残留することが報告され、PCB よりも強い内分泌かく乱作用があるのではないかと懸念さ

れている。

本研究では血液中ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 類一斉分析法を用いて油症認定患者の血液中 OH-PCB 濃度を測定し、OH-PCB の生体影響解明の基礎資料を得ること、OH-PCB とダイオキシン、PCB 類濃度との関連を解析することを目的とした。

B. 研究方法

図 1 に使用した血液中ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法のフローを示した。OH-PCB は 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 183 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

平成 22 年度油症一斉検診の油症認定患者の一部(183 名)の血液中 OH-PCB、PCB 及びダイオキシン類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 (36-3,800pg/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 2300pg/g (210-15000pg/g) 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。油症認定患者の血液中 OH-PCB 濃度と PCB 濃度との相関を図 2 に示した。OH-PCB 濃度と PCB 濃度との間には正の相関がみられ、PCB 濃度が高いと代謝物の OH-PCB 濃度も高いことが分かった。代謝前の PCB と代謝後の OH-PCB である 4-OH-CB146 と HxCB(#146)、4-OH-CB187 と Hp-CB(#182/187)との関係を図 3 に示した。これら代謝前後の異性体の間にも正の相関が見られ、代謝前の PCB 濃度が高いと代謝後の OH-PCB 濃度も高いことが分かった。

油症検診では「血中 PCB の性状」の異常が油症診断基準に採用されており、油症認定患者は体内のダイオキシン、PCB 濃度が高いため代謝酵素が誘導されていると推察されている。油症認定患者の OH-PCB 濃度とダイオキシン類の PCDD/DF 濃度との関係を図 4 に示したが、両者には有意な相関は見られなかった。

今後、油症認定患者の血液中 OH-PCB 濃度と臨床症状との関連を解析が期待される。

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 倍であった。油症認定患者の血

液中 OH-PCB とダイオキシン、PCB 類濃度との関連を解析したところ、OH-PCB と PCB 濃度には正の関係が認められたが、OH-PCB と PCDD/DF の濃度には有意な関係は認められなかった。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を解析が期待される。

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, Suzuki S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Iida T, Uchi H, Furue M. Improvement of measurement method for hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in blood samples using LC/MS/MS. Fukuoka Igaku Zasshi. 104(4). 128-135. 2013.

2) Tobiishi K, Suzuki S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Hirata T, Iida T, Uchi H, Furue M. Concentration of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of Yusho patients in 2010. Fukuoka Igaku Zasshi. 104(4). 136-142. 2013.

2. 学会発表

1) Tobiishi K, Suzuki S, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Ikeno T, Ito S, Araki A, Kishi R, Uchi H, Furue M Concentration of hydroxylated polychlorinated

biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant women in Japan. 33TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Daegu, Korea, (2013, August).

H. 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

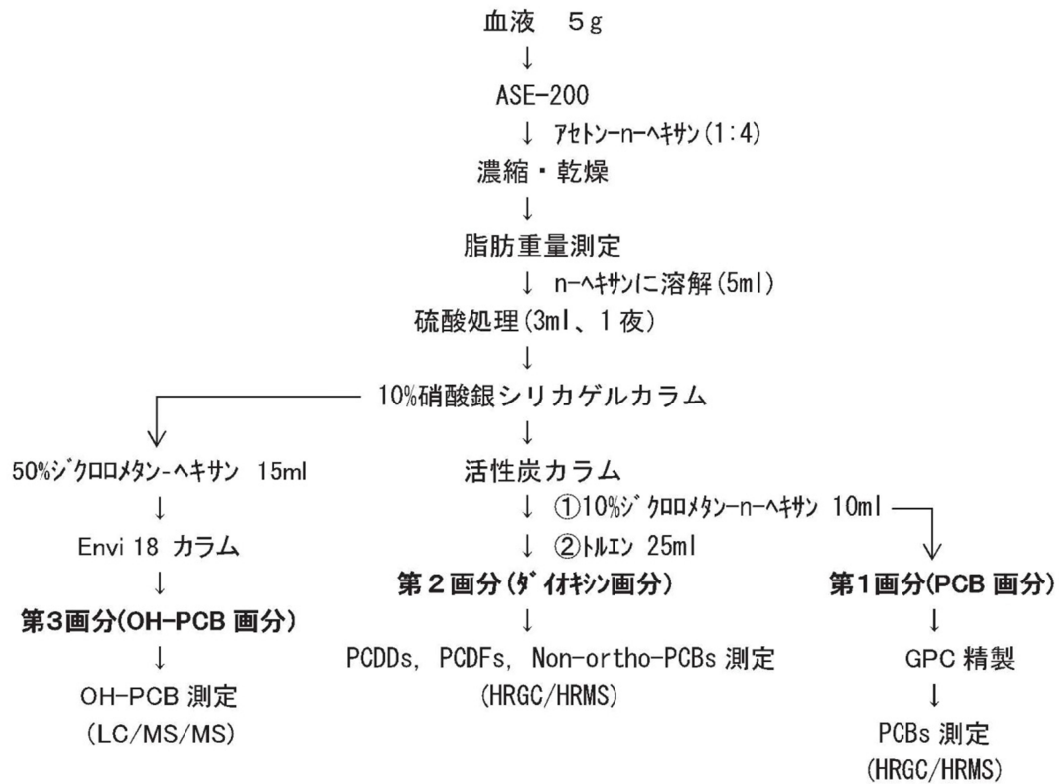


図 1. 血液中 PCDDs, PCDFs, PCBs 及び OH-PCB 一斉分析法

表 1. OH-PCB 標準物質及び内部標準物質

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-[¹³ C ₁₂]-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 Nitrogen, 600 L/hr
Desolvation	
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	¹² C	340.87 → 34.97
	¹³ C	352.91 → 34.97
OH- HxCB	¹² C	374.83 → 34.97
	¹³ C	386.87 → 34.97
OH- HpCB	¹² C	408.79 → 34.97
	¹³ C	420.83 → 34.97

表 4 油症認定患者の血液中 OH-PCB、PCB 及びダイオキシン類濃度
(2010 年、n=183)

Congeners		Mean	Median	Min.	Max.	SD	CV
PeCB-OH	4-OH-CB107	67	49	ND	530	68.8	1.03
HxCB-OH	4-OH-CB146 + 3-OH-CB153	96	71	8.4	1,200	107	1.11
HpCB-OH	4-OH-CB187	120	77	ND	1,300	131	1.12
	4'-OH-CB172	29	20	ND	380	35.10	1.22
Total OH-PCB		310	230	36	3,800	340	1.09
Total Pe-CB		150	130	11	830	111	0.734
Total HxCB		1,000	820	80	6,300	785	0.774
Total HpCB		840	620	86	6,600	793	0.942
Total PCB		2,300	1,800	210	15,000	1,800	0.799
Total PCDD		2.4	2.0	0.49	7.5	1.32	0.558
Total PCDF		0.70	0.31	0.034	5.5	0.922	1.32
Total PCDD/DF		3.1	2.7	0.54	11	1.79	0.584
Total Co-PCB		1.0	0.90	0.13	4.8	0.686	0.663
Total dioxins		4.1	3.8	0.74	13	2.23	0.545

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

CB: chlorinated biphenyl, Pe: penta, He: hexa, Hp: hepta,

PCDD: polydichlorinated dibenzo-p-dioxin,

PCDF: polydichlorinated dibenzofuran, Co: coplanar

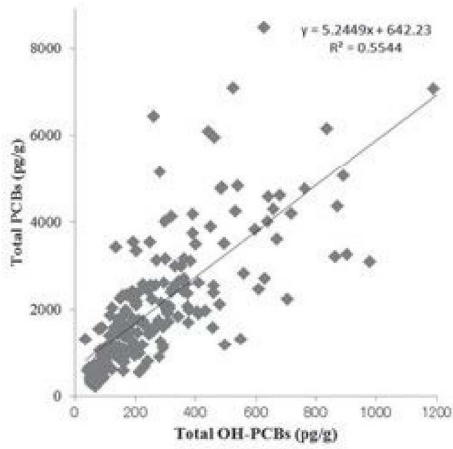


図 2 油症認定患者の血液中OH - PCBとPCB濃度の相関
(2010年、n=183)

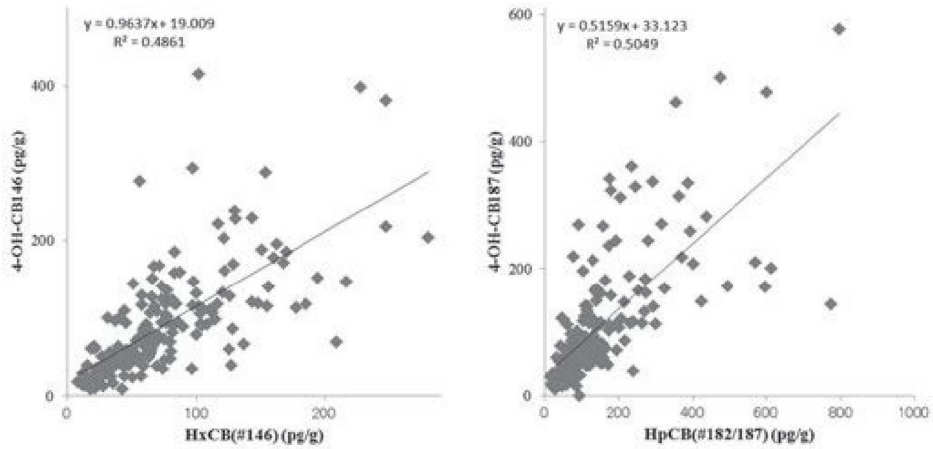


図 3 油症認定患者の血液中OH - PCBと関連するPCB異性体濃度の相関
(2010年、n=183)

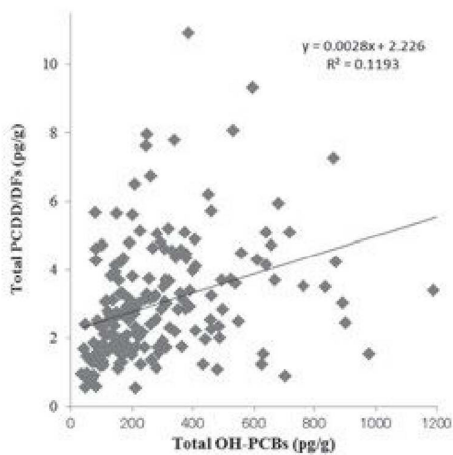


図 4 油症認定患者の血液中OH - PCBとPCDD/DF濃度の相関
(2010年、n=183)