

201426039A・B

平成26年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究

平成24～26年度 総合研究報告書
平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 古江 増隆

平成 27 (2015) 年3月

平成 24～26 年度 総合研究報告書

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究

平成 26 年度研究班構成員氏名

研究代表者

古江 増隆 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授)

研究分担者

赤羽 学 (奈良県立医科大学 健康政策医学講座 准教授)
石橋 達朗 (九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)
今福 信一 (福岡大学医学部皮膚科 教授)
岩本 幸英 (九州大学大学院医学研究院整形外科学分野 教授)
上松 聖典 (長崎大学病院眼科 講師)
宇谷 厚志 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授)
内 博史 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学 准教授)
江崎 幹宏 (九州大学大学院病態機能内科学 講師)
川崎 五郎 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授)
古賀 信幸 (中村学園大学栄養科学部 教授)
重藤 寛史 (九州大学大学院医学研究院神経内科 講師)
月森 清巳 (福岡市立こども病院 周産期センター長)
辻 博 (北九州津屋崎病院内科 部長)
中西 洋一 (九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 教授)
二宮 利治 (九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンター研究計画管理部門 教授)
林 信太郎 (九州大学大学院医学研究院神経内科 講師)
平田 輝昭 (福岡県保健環境研究所 所長)
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 (福岡女子大学国際文理学部 教授)
吉村 恵 (熊本保健科学大学大学院 教授)

(五十音順)

研究協力者

東 晃一	(九州大学大学院病態機能内科学)
飯田 隆雄	(財北九州生活科学センター 理事長)
石井 祐次	(九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野 准教授)
今村 知明	(奈良県立医科大学健康政策医学講座 教授)
太田 千穂	(中村学園大学栄養科学部 講師)
小野塚 大介	(福岡県保健環境研究所 企画情報管理課 研究員)(*)
梶原 淳睦	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 課長)
神奈川 芳行	(奈良県立医科大学 健康政策医学講座 非常勤講師)
北岡 隆	(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 眼科・視覚科学分野 教授)
吉良 潤一	(九州大学大学院医学研究院神経内科 教授)
久保 達彦	(産業医科大学公衆衛生学教室 講師)
鍬塚 大	(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 助教)
小木曾 俊孝	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 主任技師)
櫻井 利彦	(福岡県保健環境研究所 企画情報管理課 課長)
新谷 依子	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 主任技師)
申 敏哲	(熊本保健科学大学 准教授)
世良 暢之	(福岡県保健環境研究所 病理細菌課 課長)
高橋 浩司	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 研究員)
武田 知起	(九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野 助教)
竹中 重幸	(福岡県保健環境研究所 計測技術課 課長)
塚谷 裕子	(福岡県保健環境研究所 計測技術課 研究員)
坪内 和哉	(九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野)
戸高 尊	(九州大学医学部 学術研究員)
飛石 和大	(福岡県保健環境研究所 計測技術課 専門研究員)
新谷 俊二	(福岡県保健環境研究所 企画情報管理課 専門研究員)
瀧田 直樹	(九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 助教)
平川 博仙	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 専門研究員)
福士 純一	(九州大学病院整形外科 助教)
藤野 善久	(産業医科大学公衆衛生学教室 准教授)
堀川 和美	(福岡県保健環境研究所 保健科学部 部長心得)
松本 伸哉	(奈良県立医科大学 健康政策医学講座 博士研究員)
峯 嘉子	(九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教)
宮脇 崇	(福岡県保健環境研究所 計測技術課 研究員)
村田 さつき	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 主任技師)
安武 大輔	(福岡県保健環境研究所 生活化学課 主任技師)

(五十音順)

(*):九州大学医学研究院に転出

目 次

I. 平成 24～26 年度総合研究報告書

- 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……………1
研究代表者 古江 増隆

II. 平成 26 年度総括研究報告書

- 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……………14
研究代表者 古江 増隆

III. 平成 26 年度分担研究報告書

01. 油症認定患者追跡調査の基盤情報の構築……………22
研究分担者 吉村 健清
研究協力者 藤野 善久, 久保 達彦
02. 地域住民における血中ダイオキシン類濃度と
疾病および疾病マーカーに関する疫学調査……………26
研究分担者 二宮 利治
03. 油症の健康影響に関する疫学的研究……………29
研究分担者 平田 輝昭
研究協力者 櫻井 利彦, 新谷 俊二, 小野塚 大介, 梶原 淳睦
04. 食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究……………37
研究分担者 石橋 達朗
05. 油症患者における口腔乾燥症に関する研究……………39
研究分担者 川崎 五郎
06. 油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損の変化……………41
研究分担者 上松 聖典
研究協力者 北岡 隆

16. カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期の変化と 体重の変化の関係に関する研究……………95	研究分担者 赤羽 学 研究協力者 松本 伸哉, 今村 知明, 神奈川 芳行
17. ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討……………101	研究分担者 中西 洋一 研究協力者 濱田 直樹, 坪内 和哉
18. ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響……………106	研究分担者 江崎 幹宏 研究協力者 東 晃一
19. 2, 2', 3, 3', 4, 4', 5-七塩素化ビフェニル(PCB170)の 動物肝ミクロゾームによる代謝……………108	研究分担者 古賀 信幸 研究協力者 太田 千穂
20. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析：遺伝子改変動物での検討 ……………114	研究分担者 山田 英之 研究協力者 石井 祐次, 武田 知起
21. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響 ：機構解析および改善方策についての検討……………122	研究分担者 山田 英之 研究協力者 石井 祐次, 武田 知起
22. ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究……………129	研究分担者 吉村 恵 研究協力者 申 敏哲
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表……………130	

総括研究報告書

食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究

研究代表者 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 油症は polychlorinated biphenyl (PCB) と polychlorinated dibenzofuran (PCDF) の混合中毒である。2002 年度の全国検診時より 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、2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF) に関する項目を追加した新しい診断基準を作成した。また 2012 年 12 月に国からの要請を受け、同居家族認定者に関する条件を追補した。2014 年度に新たに認定された 4 名、同居家族認定者と認定された 12 名 (2015 年 1 月末まで) を含めると、全認定患者数は 2,277 名であった (2015 年 2 月現在)。油症患者の症状を把握し、その症状とダイオキシン類濃度や各種検査項目との関連性について解析し、ダイオキシン類が生体へ及ぼす慢性の影響を検討した。また、体内に残存するダイオキシン類の改良測定方法・排泄方法や、様々な症状を緩和する方法を開発するために基礎的研究を行った。認定患者追跡調査実施のための調査ファイルの基盤整備を進めた。2014 年度油症一斉検診受診者の情報を収集・管理し、その所見を把握した。歯科や眼科検診で、油症に特徴的な所見について検討した。血液中 PCBs/ダイオキシン類濃度を測定し解析した。骨密度・自己抗体検査・可溶性 EGFR 受容体・制御性 T 細胞数・血清微量金属濃度などについて血液中ダイオキシン類濃度との相関を検討した。ダイオキシン類の継世代影響を検討するために、油症患者における aryl hydrocarbon receptor (AhR) 遺伝子多型と児への健康影響 (流産、胎児死亡、性別) との関連を解析した。患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係を検討し、大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討を行った。基礎的研究では、1) マウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討、2) ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響についての研究、3) PCB170 の動物肝ミクロゾームによる代謝の研究、4) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析、5) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響についての検討、6) ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究を行った。また患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および、2015 年度の実態調査票の改正点の検討を行った。加えて、医療者向けのパンフレットを油症対策委員会で検討し作成した。

最後に研究を通じて明らかになった様々な事実については患者への広報のため、パンフレットや油症新聞とし、発行している。また論文化したものは、日本語、英語でホームページに掲載している。

A. 研究目的

PCB と PCDF の混合中毒である油症が発生して 46 年が経過した。油症は人類が PCB とダイオキシン類を直接摂取した、人類史上きわめてまれな事例である。ダイオキシン類が人体に

これほど長期間にわたって及ぼす影響については明確になっていない。2002 年度の全国一斉検診にて生体内に微量に存在する PCDF の測定が始まり 13 年が経過した。蓄積したデータを解析し、生体内でのダイオキシン類濃度

の推移、油症患者の症状、検診検査項目との関連性について解析・検討を行い、これらの化学物質が油症の症状形成にいかに関与したかを確認する。

また、体内に残存するダイオキシン類の改良測定方法・排泄方法や、様々な症状を緩和する方法について開発するために、ダイオキシン類の患者生体内での半減期、代謝動態に対する解析や、基礎的研究も継続する。

(倫理面に対する配慮)

研究によって知りえた事実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。

B. 研究方法

I. 班長が担当する研究

1. 班長は、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター（以下、油症センター）センター長を兼任する。

2. 班の総括と研究会議開催

3. 油症検診の実施（各自治体に委託）と検診結果の全国集計

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、患者に対して既往歴、症状、生活習慣の聞き取りまたは文書による調査を行う。

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、油症新聞の発行、あるいは直接書面で情報を患者に伝達した。また、患者集会で説明をする。

7. 検診体制の見直し

患者の症状の変遷と高齢化にあわせて検診科目、検診項目を見直す。

8. 臨床試験の解析

油症患者の様々な症状を軽減するために臨床

試験を施行したが、現在その結果を解析中である。

9. 油症対策委員会の開催

患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および次年度、平成 27 年度の実態調査票の改正点の検討、医療者向けのパンフレット案の検討を行う。

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診察を行い、年次的な推移を検討する。血液検査、尿検査、骨密度検査、神経学的検査を行う。検査結果は他覚的統計手法などを用いて、統計学的に解析し、経年変化の傾向について調査する。

2. 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。患者の症状、検査結果と血中ダイオキシン類濃度との相関について分析、検討する。

3. 油症の次世代に及ぼす影響に関する検討を行う。

4. 油症原因物質などの体外排泄促進に関する研究を行う。

5. 油症発症機構に関する基礎的研究を行う。

C. 結果および考察

1. 油症相談員制度

高齢化や社会的偏見により検診を受診していない患者の健康状態や近況を把握し、高齢化に伴い健康に対する不安を抱く認定患者の健康相談を行うために、2002 年に油症相談員事業を開始し、継続している。

2. 情報の提示

パンフレットの更新作成、ホームページ、あるいは直接書面にて研究内容を患者に伝達した。さらに患者への情報提供のために、油症新聞を定期的に発行した。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、
油症の現況と治療の手引きは、
<http://www.kyudai-derm.org/member/index.html> に、
カネミ油症の手引きは、
<http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html> に、
油症研究 - 30 年の歩み - は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html に
油症研究 II 治療と研究の最前線は、
http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html に、
1 年おきに福岡医学雑誌の特集号として発行している油症研究報告集は
http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html に
厚生労働省科学研究費補助金による研究結果は
<http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html> にそれぞれ掲載している。

3. 患者の実態把握と情報発信に関する研究
カネミ油症患者の意見を伺いつつ、平成 27 年度の健康実態調査票及びカネミ油症に関する啓発パンフレット案の作成を行った。カネミ油症に関する研究と連動して、患者の実態把握と情報発信を行うことが重要と考えられた。

4. 油症認定患者追跡調査の基盤情報の構築
昨年度から今年度にかけて分担者管理の 5 種の油症患者ファイル（総数：7127 件）の統合作業を終了し、各油症患者について、氏名、性、生年月日、死亡年月日、最新住所の一致、不一致を相談員等の協力を得て、調査、検証して住民票調査のための基盤調査ファイルを作成した。このリストの完成により油症患者死因調査の調査体制を確立することができた。

5. 地域住民における血中ダイオキシン類濃

度と疾病および疾病マーカーに関する疫学調査

ダイオキシン類は細胞に酸化ストレスを与えるため、様々な病態を引き起こすと考えられている。しかしながら、ダイオキシン類による人体影響の実態は未だ不明な点が多い。本研究は、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。本年度は、次年度に疫学調査を施行するための準備として、研究計画の立案や調査場所の選定、リサーチアシスタントの教育などを行った。

6. 油症患者検診結果

2013 年度の油症検診受診者は 746 名で、50 歳以上が全体の 8 割以上であった。自覚症状で最も訴えが多かったのは全身倦怠感で 7 割以上であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が最も高かった。眼科検診受診者は 255 名であり、前年度よりも 21 名少なかった。自覚症状では眼脂過多を訴えるものが多かったが、その程度は軽く、油症の影響とは考えにくかった。他覚所見として慢性期の油症患者において診断的価値が高い眼症状である眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物は観察できなかった。患者の高齢化とともに、油症特有の症状に、加齢に伴う症状が加わる傾向にある。今後、注意深く観察を続ける必要がある。

7. 油症患者における口腔乾燥症に関する研究

油症の歯科検診において口腔乾燥症を訴える患者はしばしば認められる。しかしながら、実際には口腔乾燥があまり認められないにもかかわらず、口腔乾燥感を訴える場合もみられる。そこで、今回、口腔乾燥状態を客観的に調べるため口腔水分計を用いて研究を行った。長崎県地区における油症の認定者と未認定者を対象に、歯科検診時に任意に選んだ患者について測定し検討を行った。今回の結果では、測定値は 23.1 から 31.2 とばらつきはみられたが、平均値に関しては地域間や認定者未認定者間に有意な差は認められなかった。

8. 油症検診受診者におけるマイボーム腺欠損の変化

マイボーム腺機能異常は油症に特異的な病態である。マイボーム腺欠損の経時的変化を評価し、マイボーム腺欠損の進行が血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度に影響されるか検討した。その結果、油症検診受診者において血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度はマイボーム腺欠損の 1 年間の変化に関与しなかった。

9. 油症患者における骨密度の解析

2010 年度全国油症一斉検診の受診者 489 名において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。女性の 36%、男性の 4%に YAM%70 未満の骨密度低下を認め、骨粗鬆症と判定された。末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を男女別に解析すると、居住地および body mass index で調整した場合、女性において 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD と骨密度 (Z スコア) との間に負の関連を認めた。

10. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査

平成 25 年度 (2013 年) の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、未認定者 165 名と油症認定患者のうち初回及び過去 3 年以内に測定歴の無い認定患者 219 名であった。平成 25 年度に血液中ダイオキシン類濃度を測定した油症認定患者の平均総 TEQ (WHO2005) は 53 pg TEQ/g lipid、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の平均は 83 pg/g lipid であった。今回から同居家族認定者 51 名が検診を受診したが、同居家族認定者の血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の平均値は 31 pg/g lipid で認定患者全体の平均値より低く、一般人とほぼ同じ値であった。平成 13 年から 25 年の 13 年間に血液中ダイオキシン類検査を実施した油症認定患者の実数は 854 名で前年度と比べ 103 名増加し、油症認定患者 2, 251 名 (平成 25 年 12 月末現在) の約 37.9%の血液中ダイオキシン類濃度を測定した。内訳は男性 403 名、女性 451 名、平均年齢は 65.1 歳、血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の平均は 124 pg/g lipid であった。検診受診認

定患者の血液中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の分布は 2.7~1,792 pg/g lipid と広範囲であるが、約 55%の患者は 50 pg/g lipid 以下であった。

11. 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

血液中ダイオキシン、PCB 類濃度分析において採血から分析までの血液保存期間の影響を確認するため、コレステラミンなど治療研究時の脂肪やダイオキシン類濃度の測定値を用いて解析した。その結果、16 カ月程度の 4°C 以下の冷蔵保存では血液中脂肪やダイオキシン類濃度は変化せずに測定できていると考えられた。

12. 油症における免疫機能に関する研究

2014 年度福岡県油症一斉検診を受診し、免疫機能検査に同意が得られた 252 例について抗 Sc1-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼ III 抗体を測定し、血中 PCB 濃度との関連について検討した。抗 Sc1-70 抗体は同居家族を含む油症患者 194 例中 5 例 (2.6%)、未認定患者 46 例中 3 例 (6.5%) に、抗 RNA ポリメラーゼ III 抗体は同居家族を含む油症患者 4 例 (2.1%)、未認定患者 1 例 (2.2%) に認め、ともに出現率に差をみなかった。抗 Sc1-70 抗体および抗 RNA ポリメラーゼ III 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者と血中 PCB 低濃度患者において出現率に差をみなかった。

13. 油症認定患者における soluble EGFR の検討

EGFR 阻害剤による皮膚障害として痤瘡様皮疹や爪囲炎が生じる。発症当時、多くの油症患者に激しい痤瘡様皮疹が認められた。現在症状は軽減してきているが、一部の油症患者においては痤瘡様皮疹による QOL の低下が見受けられる。TCDD により誘発された塩素性痤瘡の組織中では EGFR が高発現していたという報告がみられたことから、我々は油症患者において EGFR の変動が何らかの形で生じている可能性を考えた、正常人との比較を行った。その結果、血清中 sEGFR 値は油症患者で 63.10 ± 23.52 ng/ml、健常人で 58.81 ± 16.84 ng/ml

であった。油症患者血清中でやや上昇傾向が見られたが、2群間に有意な差はなかった。

1 4. 長崎県油症認定患者における末梢血リンパ球分画、Treg細胞の検討(H. 26)

平成 26 年長崎県油症検診（五島 玉之浦地区）受診者の末梢血中制御性T細胞(Treg細胞)に関して検討を行った。その結果、油症認定患者53名(本人認定45名、家族認定8名)、未認定患者3名において血清中Treg細胞数はそれぞれ $51.93 \pm 25.4/\mu\text{l}$ 、 $62.49 \pm 25.79/\mu\text{l}$ 、 $58.89 \pm 19.48/\mu\text{l}$ で有意差はなかった。また各種採血項目とTreg値の関連について検討を行ったところ、血中の中性脂肪値が高い人ほどTreg細胞数が有意に高いという相関が見られた。

1 5. 油症患者における血清微量金属濃度に関する研究

慢性ダイオキシン類中毒である油症患者 39 名および健常者 39 名を対象に、血清マグネシウム、鉄、銅、亜鉛、カルシウム、リチウム濃度をキレート試薬を用いたメタロアッセイで測定したところ、油症患者の血清銅濃度は、健常者に較べ有意に低下していた。銅は superoxide dismutase の活性中心に存在し、活性酸素の処理に重要な元素であることから、油症患者の酸化ストレス状態を増悪させている可能性があると考えられ、今後さらに検討を行う予定である。

1 6. 大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討

目的：①油症認定患者では約 6 割に自覚的感覚障害が存在するが末梢神経伝導速度検査や神経学的診察で客観的な末梢神経障害を示すものは 2 割程度であり、この主観的認知と客観的認知が乖離している。この原因として末梢神経伝導検査やベッドサイドにおける末梢神経検査では感知できない、もっと高次の脳機能が障害されている可能性が否定できない。そこで、触覚刺激を用いた脳磁界反応を計測

し、主観的意識下での誘発脳磁界と非意識下での誘発脳磁界との相違を抽出し、一般の末梢神経伝導速度検査では検出できない高次脳機能障害を抽出できるか否かを検討する。②油症患者組織における感覚伝導路の病理学的変化について現時点で未解明である。感覚伝導路の病理変化の検出に有用なマーカー蛋白について検討した。方法：①点字にプラスチック製 2×4 ピンで構成されたピエゾ型触覚刺激装置を用いた。規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激を作成し、この 2 種の刺激を刺激間隔 1.2~1.6 秒の間隔で各刺激約 100 回ずつランダムオーダーで右示指に与えた。主観・注意状態の影響を検討するために、この 2 種類の刺激を弁別するようにタスクを与えた注意下刺激セットと、タスクを与えない環境下での非注意下刺激セットを行い、全頭型脳磁図で計測、204-ch のグラジオメーターの波形について解析した。計測結果は MRI 皮質上に電流源が平面分布すると仮定した最小ノルム法を用いて誘発電流源を推定した。②正常コントロールと疾患コントロールの剖検標本を用いて、ヒトの中枢神経系ニューロンで発現が確認されているカルシウム結合蛋白(CaBP)、カルビンディン(CB)、カルレチニン(CR)、パルプアルブミン(PV)に対する一次抗体を用いて免疫染色を施行した。結果：①非注意下では規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激で差を認めなかったが、注意下では右側半球において規則的触覚刺激と不規則的触覚刺激の反応の振幅に有意差を認め、不規則触覚刺激の反応の方が振幅が高く、その電流源は右半球の 2 次体性感覚野に推定された。②脊髄剖検標本では Rexed I-II 層の後角ニューロンにおいて CB と CR が免疫陽性であった。脳幹(延髄)においては、CaBP のいずれもが内側毛帯で免疫陽性であり CB と CR は横走線維、PV は縦走線維に局在が分かれて存在した。一方、脊髄後索においては何れの CaBP も免疫陰性であった。結論：触覚刺激を弁別するという能動的なタスクを与えた時に、一次体性感覚野では差が出ないが、右半球の二次体性感覚野における脳磁界反応に差が認められた。これは弁別という能動的な意識の影響を客観

的に抽出できる可能性を示唆しており、感覚認知の高次脳機能レベルでの評価に有用であると考えられた。以前の我々の研究で電気生理学的に後索-内側毛帯系の波形を検出し得る方法を確立したが、CaBP に着目すると患者剖検組織の内側毛帯における病理変化を検出できること、同時に生前の患者に施行した電気生理学的異常所見と剖検病理所見との比較検討が可能になる事が示唆された。

17. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究 - 油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響 (流産、胎児死亡、性別) との関連-

油症患者におけるダイオキシン類受容体 (AhR) 遺伝子多型と児への健康影響 (流産、胎児死亡、性別) との関連について検討した。油症発生後に妊娠した油症患者 59 例 (142 妊娠) における AhR 遺伝子多型 (130bp C/T 一塩基多型) の頻度は、C/C 型が 53 妊娠 (37.3%)、C/T 型が 71 妊娠 (50.0%)、T/T 型が 18 妊娠 (12.7%) であった。油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例 (102 妊娠) における AhR 遺伝子多型の頻度 (C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%) と比較して有意な差はなかった。油症発生後に妊娠した油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例 (10.6%)、自然流産が 19 例 (15.0%)、胎児死亡 (自然流産+死産) が 22 例 (17.3%) に認められた。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。油症発生後の児への健康影響 (人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生) の有無と AhR 遺伝子多型 (C/C 型、C/T 型、T/T 型の各遺伝子型の頻度) との関連について検討したが、いずれの健康影響においても明らかな傾向はなかった。

18. 油症患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係に関する研究

ダイオキシン類は徐々に排出され、濃度は低下していくものと考えられているが、その排出経路や濃度の変化に関して不明な点も多い。半減期の変化と体重の変動の関係を確認した。体重が減少すると、半減期が伸びる可能性があることが示された。まだ、傾向として弱い

ものであり、今後、追加の測定結果を用いて、より安定した結果を得ることが必要である。

19. 油症発症機構と PCB/ダイオキシン類に関する基礎的検討

1) ダイオキシン類によるマウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討

マウスに Benzo[a]pyrene を経気管的に投与することにより、気道分泌物が増加するマウスモデルを作成した。麻酔と投与法を改良し、以前より再現性が向上しており、ダイオキシン類による肺傷害の動物実験モデルとして有用と考えられた。同モデルにおいて surfactant protein の発現が亢進しており病態への関与が示唆された。

2) ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響

ダイオキシンが誘導する酸化ストレスが遺伝子突然変異を誘導する要因となることを検討するために、潰瘍性大腸炎合併大腸癌ならびに散発性大腸癌の切除材料を用いて activation-induced cytidine deaminase (AID) の発現を評価した。潰瘍性大腸炎合併大腸癌、散発性大腸癌のいずれも AID 陽性率は高く、両者で差を認めなかったが、潰瘍性大腸炎炎症部粘膜では炎症が高度になるにつれて AID 陽性率が上昇した。以上から、慢性炎症により誘導される酸化ストレスは遺伝子突然変異を誘導する一因となることが示唆された。

3) 2,2',3,3',4,4',5-七塩素化ビフェニル (PCB170) の動物肝ミクロゾームによる代謝
PCB170 は、PCB153、PCB180 および PCB138 とともに高残留性の PCB 異性体として知られている。本研究では、PCB170 が代謝されるか否かについて、ラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム (Ms) を用いて調べた。その結果、ラットおよびヒト肝 Ms では、代謝物は全く生成されなかった。一方、モルモット肝 Ms では、phenobarbital 前処理の場合のみ、代謝物が極微量検出された。以上の結果から、

PCB170 は非常に代謝されにくいことが明らかになった。また、既報を総合すると、PCB170 代謝物の化学構造は、5'-OH 体であり、モルモット肝での生成には CYP2B18 が関与していることが示唆された。

4) 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析：遺伝子改変動物での検討

昨年度までの解析により、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) がラット肝臓において leukotriene (LT) B4 合成系亢進を介して LTB4 を蓄積させ、好中球を活性化させる可能性を見出した。LTB4 は好中球活性化を通して炎症反応に重要であるため、この異常蓄積は TCDD による炎症亢進については肝毒性に直結する可能性が高い。そこで本研究では、LTB4 受容体 (BLT1) 遺伝子欠損マウスを用いてこの可能性を検証した。BLT1 欠損マウスへの TCDD 投与も、野生型マウスと同様に LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase の誘導が惹起し、LTB4 合成が増加していることが示唆された。しかし、野生型マウスへの TCDD 投与で見られる顕著な好中球浸潤ならびに炎症および肝障害マーカーの増大は、BLT1 欠損によって大きく抑制された。さらに、芳香族炭化水素受容体 (AhR) の遺伝子欠損ラットを用いて、LTB4 合成酵素である 5-lipoxygenase 誘導状況を検討した。その結果、野生型ラットで見られる TCDD 依存的な 5-lipoxygenase の誘導は、AhR 遺伝子欠損によって完全に消失した。以上の結果から、ダイオキシンは AhR を介する 5-lipoxygenase 誘導によって LTB4 を肝臓に蓄積させ、これが好中球浸潤による炎症亢進については肝毒性を規定する一つの要因であるとの新規機構が明らかになった。

5) 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響：機構解析および改善方策についての検討これまでに、2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) 曝露により、胎児脳下垂体の黄体形成ホルモン (LH) 低下を起点として性ホルモン合成が障

害され、成長後の性未成熟が固着されることを実証した。さらに、TCDD 曝露母体にクエン酸回路の必須補酵素である α -リポ酸 (LA) を補給することで、胎児視床下部におけるクエン酸回路の停滞および ATP 減少のみならず、上記の LH 低下も回復することを明らかにした。しかし、LA による LH 低下の回復機構は不明である。そこで本研究では、LA と同様にクエン酸回路の必須補酵素である thiamine を用いて、LA による回復機構におけるエネルギー産生低下の寄与を検討した。検討の結果、TCDD による ATP 産生低下は、胎児視床下部および全脳において認められたが、TCDD 曝露母体への thiamine の補給によって LA 同様に改善することが明らかになった。しかし、胎児 LH ならびに性ホルモン合成系に対しては、thiamine 補給は部分的な回復効果を示すに止まった。これらの結果から、胎児 LH 低下に対する LA の回復機構は、ATP 増加と LA 特異的機能の複合的な作用に基づくことが示唆された。さらに、胎児脳の LA 低下の機構解析のため、合成ならびに利用に関わる酵素の発現水準を検討した結果、いずれの発現にも影響を認めなかった。従って、少なくとも TCDD はこれらの酵素の変動以外によって LA を減少させ、LH 低下を惹起することが示された。

6) ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用の研究

ダイオキシンの経口投与によってラット末梢神経の太い有髄線維の伝導速度が選択的に抑制された。また、その作用は長期に渡り回復はあまり見られなかった。脊髄内での可塑的な変化は見いだし得なかった。

20. 油症対策委員会の開催

患者代表者からなる油症対策委員会を開催し、研究成果の公表および平成 27 年度の実態調査票の改正点の検討を行った。加えて、医療者向けのパンフレットを油症対策委員会で検討し作成した。

D. 結論

検診結果では、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

た。血中ダイオキシン類濃度測定が開始してから 13 年経過し、結果の蓄積、解析が進んでいる。2014 年度は、骨密度・自己抗体検査・可溶性 EGFR 受容体・制御性 T 細胞の数・血清微量金属濃度などについてダイオキシン類濃度との相関を検討した。ダイオキシン類の継世代影響を検討するために、ダイオキシン類受容体(AhR) 遺伝子多型と児への健康影響(流産、胎児死亡、性別) との関連、患者のダイオキシン類の半減期の変化と体重の変化の関係、大脳認知機能の客観的評価法の開発および感覚系ニューロン関連蛋白発現変化の検討を行った。基礎的研究では、マウス肺傷害モデルにおける surfactant protein についての検討、ダイオキシンが大腸上皮細胞に与える影響や、PCB170 の動物肝ミクロゾームによる代謝の研究、

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による leukotriene B4 蓄積の毒性学的意義と機構の解析、

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin による胎児脳下垂体ホルモンへの影響についての検討、ダイオキシンによる末梢神経伝導速度に対する選択的作用などについて、知見が集積してきている。

このように、継続的に油症患者の臨床症状を把握しダイオキシン類濃度との関連を分析・評価、また基礎研究でダイオキシンが生体に及ぼす影響・作用機序を研究することにより、総合的にダイオキシン類(短期・長期) 暴露による影響の解明、また新しい治療薬の発見・開発につながると考える。

E. 健康危険情報

なし。

分担研究報告書

油症認定患者追跡調査の基盤情報の構築

研究分担者 吉村 健清 福岡女子大学国際文理学部 教授
 研究協力者 藤野 善久 産業医科大学公衆衛生学教室 准教授
 研究協力者 久保 達彦 産業医科大学公衆衛生学教室 講師

研究要旨：

昨年度から今年度にかけて分担者管理の 5 種の油症患者ファイル（総数：7127 件）の統合作業を終了し、各油症患者について、氏名、性、生年月日、死亡年月日、最新住所の一致、不一致を相談員等の協力を得て、調査、検証して住民票調査のための基盤調査ファイルを作成した。この分担者管理の統合リストと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターが保管するリストとの照合をセンターの協力により、作成した。このリストの完成により油症患者死因調査の調査体制を確立することができた。

A. 研究目的

油症認定患者の死因追跡調査は、油症患者のこれからの健康管理やダイオキシン類経口摂取の健康影響を知る上で重要な調査である。そこで、昨年につき、認定患者追跡調査実施のための調査ファイルの基盤整備をすることを目的とした。

（倫理面への配慮）

現在、追跡調査のための情報収集について、個人情報保護法、疫学倫理指針など調査対象者への倫理面の十分な配慮をしつつ、必要な手続きを進める準備を行い、調査情報の構築ならびに調査体制の整備を進めている。従って、倫理上の問題は特に生じない。

B. 研究方法

1. 調査ファイル（5 種）の統合一元化

油症研究班データ取扱規約に基づき、九大油症研究班の患者情報ファイル、福岡県保健環境研究所の検診・受診者ファイルの使用申請を行い、許可を得てそれぞれのファイルを手にした。さらに、油症検診データ、油症患者実態調査データを研究班申請手順に従い、許可を得て入手した。

そして、これらの情報ファイルと、産業医科大学在任当時の油症認定患者追跡調査情報ファイル等とを個人識別情報に基づいて照合し、ファイル

専門家の支援を得て一元化した。

2. 油症相談員による現地調査実施

油症患者の認定地情報に基づき、全油症認定患者を、福岡県内を認定地とするもの、長崎県内を認定地とするもの、広島等その他の府県を認定地とするもの、さらに、認定地不明分の 4 群にファイルを分割し、油症相談員の現地調査資料として配布し、該当認定患者の住所・生存状況の調査を油症相談員に実施してもらった。

3. 現地調査結果に基づき、一元化ファイルの修正作業

福岡地区、五島・長崎地区、広島・その他地区担当の 3 名の油症相談員に油症認定患者の調査時の現住所、生死の状況（死亡の場合は死亡年月日）ならびに、性、生年月日の確認をした結果を用いて、一元化したファイルの修正作業を実施した。

4. 修正一元化ファイルと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管情報ファイルとの照合

前述の通り、分担研究者の修正一元化ファイルと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管の油症患者ファイルとの照合作業を研究センター職員の協力を得て実施した。

5. 住民票調査への準備

住民票による生死確認作業は死因調査のための人口動態統計死亡ファイルとの照合のために不可欠となるが、個人情報保護法により、各自治体の住民票情報の取得が厳しくなりつつある。そこで、現在生存者に対し、調査への同意確認をとるべく、患者団体、厚労省担当部局と相談を行った。

C. 研究結果および考察

1. 調査ファイル（5 種）の統合一元化

油症検診データ、油症患者実態調査データ、研究分担者調査データ等のファイルを氏名により照合し、認定地別に 4 つに分類したところ、福岡県分 2502 件、長崎県分 2678 件、広島県その他分 940 件、認定地情報がないもの 1007 件得られた。

2. 油症相談員による現地調査実施

この全データ統合ファイルをもとに油症認定患者について、調査時点（平成 25 年 1 月）での生死状況、現住所情報を確認、調査するため、各油症相談員担当地区および認定地情報未記載分をそれぞれ印刷ファイルとし、3 人の油症相談員に研究班長の許可を得て調査を依頼した。

平成 25 年 3 月末に各相談員の調査が終了し、現時点での住所、生死情報が入手できた。

3. 現地調査結果に基づき、一元化ファイルの修正作業

各相談員から調査結果が記載された情報を 1 件 1 件確認し、疑問、不明の点を再度各相談員に問い合わせた。この結果により現時点で判明した情報を過去の情報と照合を行い、現段階で正しいと思われる情報を確定し、ファイルの修正作業を実施した。

この研究分担者作成のファイルは、追跡調査対象の油症認定患者 1909 名について、ID、氏名、住所、生年月日、性別、生死、死亡年月日、住所情報の情報を記載している。

4. 修正一元化ファイルと九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管情報との照合

2014 年 9 月、研究分担者調査により作成したファイル 1909 名（ID あり 1883 名、ID なし 26 名）を九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター保管の認定患者ファイルとの照合を依頼した。平成 26 年 12 月、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターの多大な協力により照合結果の報告を受けた。

その結果、2 つのファイル情報の大半は合致していたが、生年月日の不一致 73 件、性別の不一致 18 件が明らかになったため、この点を 1 件 1 件について、検討し、油症認定患者のデータの統一をはかり、今後の油症研究班での油症認定患者死因調査の基盤を作成することとする。

5. 住民票調査への準備

現在のところ、油症認定患者について、各自治体で住民票が得られるか否かは、個人情報保護法の観点から微妙な問題である。生存している認定患者に対し、個人同意を求める方法はあるものの、一部同意が得られない場合が考えられ、調査集団選択の偏りをおこす可能性があり、油症認定患者の死因の検討が偏りのため十分にできない可能性がでてくる。一方、「カネミ油症患者に関する施策の総合的な推進に関する法律」によれば、「カネミ油症に関する専門的、学際的又は総合的な研究を推進する」ことが謳われていることから、各自治体に協力を求めることも考えられるが認定患者へ十分な理解を求めつつ、実施していく必要がある。

現在のところ、住民票取得の方針について、関係者と十分な時間をかけて検討をしていく必要があると考える。

今後へ向けて

個人情報保護の問題が解決すれば、その住民票情報により、生年月日、生死情報、死亡年月日、住所が確認できた死亡者について死因調査を実施する。方法は、油症認定患者全死亡者 1 人 1 人についての原死因を得るために、新統計法（平成 21 年 4 月から施行）の「統計法第 33 条の運用に関するガイドライン」に従い人口動態統計死亡ファイル（昭和 48 年から最新年度まで）の利用許可申請を厚生労働省担当部局に行う。

照合項目（各認定死亡患者の生年月日、死亡年

月日、性、住所地)に基づいて、厚生労働省死亡ファイルと照合し、照合できた原死亡を当該油症患者の死亡原因とする。

そして、コホート分析により、標準化死亡比 (SMR) を用いて全国の死亡状況を比較することを目的に、現在までの全調査ファイルの九州大学病院ダイオキシン研究診療センターへのデータ移管を目指す。

D. 結論

研究班申請手順に従い、油症検診データ、油症患者実態調査データを許可を得て入手した。データファイルの照合、油症相談員担当地区での認定患者現状調査を終了し、その結果をもとに相談員情報に基づいた油症認定患者の一元化ファイルを作成した。現在、研究分担者が作成した油症認定患者修正一元化ファイルと九州大学病院症ダイオキシン研究診療センターとの照合が終了し、情報の確認が必要な点が若干判明した。今後この点を 1 件 1 件検討した後、住民票情報取得への方策を検討する。しかし、昨今の個人情報保護法の強化のため、住民票取得に困難が予想されるので、現在、同意書の取得に向け、具体的方法を関係機関と協議している状況にある。

E. 研究発表

1. 論文発表

Onozuka D, Yoshimura T, Kaneko S, Furue M. Mortality after exposure to polychlorinated biphenyls and polychlorinated dibenzofurans: a 40-year follow-up study of Yusho patients. Am J Epidemiol. Jan 1;169(1):86-95, 2009.

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, 38:79-86, 2012.

吉村健清.

EBM と臨床研究－疫学の役割－.

JOHNS, Feb;28(2):156-158, 2012.

Pham TM, Ozasa K, Kubo T, Fujino Y, Sakata R, Grant EJ, Matsuda S, Yoshimura T.

Age-Period-Cohort Analysis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Mortality in Japan, 1950-2004.

J Epidemiol. 22(4):302-7, 2012.

Takesumi Yoshimura.

Yusho: 43 years later.

Kaohsiung Journal of Medical Sciences 28, (2), S49-S52, 2012.

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)

2. 著書

古江増隆, 赤峰昭文, 佐藤伸一, 山田英之, 吉村健清 (2010) 油症研究Ⅱ－治療と研究の最前線. 九州大学出版会, 福岡

3. 学会発表

Takesumi YOSHIMURA, Yusho-After 43 years Present and Future, (' 2011 International Conference on Food and Drug Safety Assessment') Kaohsiung Medical Univ. Taiwan, 2011. Apr. 15-16

Takesumi YOSHIMURA, Fumiko YASUKAWA, Hiroshi UCHI, and Masutaka FURUE,

The First Fact Finding Survey of All the Yusho Patients in Japan - after 40 years of the accident - ,

Dioxin 2011, Aug. 21-25, Brussels

吉村健清, 疫学から行動変容へ－ヘルスコミュニケーションの役割と課題－,

第 4 回日本ヘルスコミュニケーション学会 特別

講演(2012. 09. 07), 慶應大学藤沢キャンパス

A Review: Medical Social Issues Faced by Yusho Patients and Implemented Countermeasures: 45 years later, DIOXIN 2013, Daegu, Korea. (2013. 08. 27.)

Takesumi YOSHIMURA, Hiroshi UCHI, and Masutaka FURUE,

A Review: Medical and Social Issues Faced by Yusho Incident and Their Countermeasures: 45 Years Later, Dioxin 2013, Aug. 25-30, Daegu, Korea

F. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
食品を介したダイオキシン類等の人体への影響の把握と
その治療法の開発等に関する研究
分担研究報告

地域住民における血中ダイオキシン類濃度と疾病および
疾病マーカーに関する疫学調査

研究分担者 二宮 利治

(九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンター研究計画管理部門・教授)

研究要旨 ダイオキシン類は細胞に酸化ストレスを与えるため、様々な病態を引き起こすと考えられている。しかしながら、ダイオキシン類による人体影響の実態は未だ不明な点が多い。本研究は、地域住民において血中ダイオキシン類濃度と様々な疾患や疾病マーカーとの関連を検討する。本年度は、次年度に疫学調査を施行するための準備として、研究計画の立案や調査場所の選定、リサーチアシスタントの教育などを行った。

A. 研究目的

ダイオキシン類は、ポリ塩化ジベンゾパラジオキシン (PCDD)、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF)、ダイオキシン様ポリ塩化ビフェニル (DL-PCB) の総称である。主に物が燃焼するとき生成されるため、自然界に環境汚染物質として拡散し、食物連鎖のなかで微量ながらも人体を汚染している。

ダイオキシン類は、ダイオキシン受容体に結合することにより細胞に強い酸化ストレスを与える。そのため、様々な病態を引き起こすと考えられているが、地域住民におけるダイオキシン類による人体影響の実態は未だつかめていない。

本研究では、地域一般住民を対象に断面調査を行い、血中ダイオキシン類濃度と疾病の有無および疾病マーカーとの関連を検討する。

B. 研究方法

本研究では、2015 年に本研究に書面にて同意の得られた地域一般住民約 500 人を対象として断面調査を実施する予定である。断面調査では検診票を用いて自覚症状、既往歴、現病歴、生活歴等の調査を行い、内科、眼科、皮膚科の医師の診察により身体所見を検査する。さらに、胸部 X 線写真、心電図、腹部エコー、骨密度測定を実施する。採血により血中ダイオキシン類濃度および血液生化学検査、免疫学的検査、ホルモン学的検査を行う。

統計解析は、血中ダイオキシン類濃度と心血管病や悪性腫瘍の既往歴、生活習慣病・眼科的・皮膚科的疾患の有病率、血液や尿の測定データに基づく疾患マーカーとの関連を検討する。これらの解析には重回帰分析やロジスティック回帰分析を用いる。