

## 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 油症は人類がpolychlorinated biphenyl (PCB)と多種のダイオキシン類化合物を経口摂取した生じた混合中毒である。2002年度の全国検診時より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が制定された。また2012年12月に同居家族認定者に関する条件を追補した。

臨床追跡・疫学的調査では、油症患者(以下、患者)の現在の症状を把握し、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に及ぼす慢性の影響について検証した。平成27年度に実施した地域住民495名における断面調査結果のデータ化を行い、血液中PCB、ダイオキシン類濃度の測定を終了した。また桂枝茯苓丸の臨床試験の結果を解析した。基礎的研究では、体内に残存するダイオキシン類の生体内動態を患者血液検体、および実験動物の検証にて把握し、治療につながる化合物の探索を継続した。

まず、臨床追跡・疫学的調査では、平成27、28年度油症一斉検診受診者の検診結果を収集、管理し、その所見を把握した。歯科や眼科検診では油症に特徴的な所見の有症率について検討した。血液中PCB/ダイオキシン類濃度の継時的変化について解析した。患者の甲状腺自己抗体の陽性率や免疫機能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。油症患者におけるロコモティブシンドロームの合併について検証した。患者における異常感覚/認知機能障害と脳機能的結合変化の関連を検証する検査法を確立した。油症患者血清中のサイトカイン濃度を測定し免疫機能の変調を検証した。2,3,4,7,8-PeCDFの濃度別、生年別に、濃度の変化率(半減期)と半減期の変化について検証した。ダイオキシン類の継世代への影響を明らかにすべく、正常妊娠を対象としてダイオキシン類の胎盤を介する胎児への移行を検証し、胎児におけるダイオキシン類の排泄経路の特徴を明らかにした。

基礎的研究では、1)ダイオキシン類によるマウス肺障害の経時的変化に関する検討、2)末梢神経伝導速度に対するベンゾピレンの影響の検証、3)*Helicobacter pylori*除菌後の胃癌発生に対する activation-induced cytidine deaminase およびダイオキシンの関与の研究、4)桂皮およびシナムアルデヒドの効果についての検証、5)2,2',3,4',4,5,6'-七塩素化ビフェニル(PCB182)のラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる代謝の検証、6)2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxinの子育て能力への影響およびその機構解析、7)2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxinの生体影響とダイオキシンに対する拮抗作用を解析した。

今年度も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パンフレット、油症新聞、ホームページに掲載して患者に広報している。

## A. 研究目的

PCB とダイオキシン類化合物(以下、ダイオキシン類)の混合中毒である油症が発生して48年が経過した。油症は多数の住民がPCBとダイオキシン類を経口摂取した、人類史上きわめてまれな事例である。生体内に長期間残存するダイオキシン類が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血液中に微量に存在するpolychlorinated dibenzofuran(PCDF)異性体の測定が始まり15年が経過した。健康実態調査、検診結果を対照群と比較し、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検証する。さらに、油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と次世代・次々世代における男児出生割合との関連について検討する。

基礎的研究では、培養細胞や実験動物を用いてダイオキシン類が生体に与える影響を明らかにすると同時に、様々な症状を緩和する薬剤の探索を継続する。

### (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. 班の総括と研究班会議開催

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・相談支援員制度

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. 死因・次世代調査

ダイオキシンの生体への影響、継世代への影響を検証する。

6. 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。

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。

9. 臨床試験の実施

油症患者の様々な症状を軽減するために漢方方剤の臨床試験を施行する。

10. 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。

11. 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患者に伝達する。また、患者集会で説明をする。

### 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を用いて解析し、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 PCB、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. 福岡県久山町の地域住民対象に行った環境調査に協力し、一般対照群と患者の疾患、症状、血液中ダイオキシン類濃度を比較し、ダイオキシン類の慢性影響を明確にする。
4. 油症の継世代に及ぼす影響に関する検討を行う。
5. PCB やダイオキシン類の体内動態を明らかにする。
6. 基礎的研究では、PCB やダイオキシン類の慢性毒性の解明およびダイオキシン類の毒性を緩和しうる薬剤の探索を行う。

### 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 年に開始した油症相談員事業を継続した。

#### 2. 油症相談支援員制度

平成 28 年、患者数の多い自治体に相談支

援員を、九州大学病院に総括 1 名を配置した。電話対応、検診時の面談を行い、患者の健康上の悩みなどを共有した。得られた情報は自治体、医療機関、油症班と共有した。

### 3. 情報の提示

パンフレットの作成、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広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-](http://www.kyudai-derm.org/yusho/index.html)

[derm.org/yusho/index.html](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-](http://www.kyudai-derm.org/member/index.html)

[derm.org/member/index.html](http://www.kyudai-derm.org/member/index.html) に、

カネミ油症の手引きは、

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html)

[derm.org/kanemi/index.html](http://www.kyudai-derm.org/kanemi/index.html) に、

油症研究 30 年の歩み は、

[http://www.kyudai-](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index.html)

[derm.org/yusho\\_kenkyu/index.html](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-](http://www.kyudai-derm.org/yusho_kenkyu/index02.html)

[derm.org/yusho\\_kenkyu/index02.html](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-](http://www.kyudai-derm.org/fukuoka_acta_medica/index.html)

[derm.org/fukuoka\\_acta\\_medica/index.html](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-](http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html)

[derm.org/kakenhoukoku/index.html](http://www.kyudai-derm.org/kakenhoukoku/index.html) にそれぞれ掲載した。

4. 患者の実態把握と情報発信に関する研究  
今年度の油症研究班の成果を患者団体に公表し、意見、要望を伺った。また、意見を基

に次年度の健康実態調査票の改善を行った。

#### 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

平成 27 年度、久山町の地域住民 495 人に対して実施した断面調査のデータの整備、データセット化を行った。また、対象者から得られた血液サンプルを用いて、血中ダイオキシン類濃度の測定を行い、平成 28 年 11 月 30 日に全検体(495 検体)の測定を終了し、データのデータクレンジングを実施後、全調査結果のデータセット化を予定通り完了した。地域住民 495 人における 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid であった。

#### 6. 福岡県久山町に在住する地域住民 495 名の血液中ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール濃度

平成 27 年度、福岡県久山町に在住する地域住民 495 名を対象に行った検診で採取した血液検体の、血液中総ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール(PCB)濃度を測定した。平均濃度はそれぞれ 24 pg TEQ/g lipid、214 pg/g lipid であった。今回得られた 495 名中、60 歳以上の 314 名(平均年齢 69 歳)の平均濃度を、平成 16 年度に行った那珂川町在住 127 名(平均年齢 68 歳)の測定値と比較した結果、ダイオキシン類濃度で 20%および PCB 濃度で 40%低い濃度であった。

#### 7. 桂枝茯苓丸の効果に関する研究

平成27年7月から28年3月にかけて九州大病院、長崎県五島中央病院の油症外来で52名の油症患者を対象に桂枝茯苓丸内服による臨床試験を実施した。3ヵ月間の臨床試験を完遂した42名において桂枝茯苓丸内服前後でVAS、QOLを解析したところ、全身倦怠

感、皮膚症状において統計学的に有意に改善がみられた。

#### 8. 油症患者におけるロコモティブシンドロームの合併

平成28年度の福岡県油症一斉検診受診者において、ロコチェック質問票を用いてロコモティブシンドローム(ロコモ)の合併を調査した。過半数の受診者において、ロコモの合併が疑われた。ロコチェック該当数とダイオキシン類濃度との間には明らかな関連を認めなかった。

#### 9. 油症患者検診結果

平成 27 年度に実施された油症検診における検診票を収集し集計を行った。検診受診者は 644 名で、50 歳以上が全体の 86.5%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 73.4%であった。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 74.6%と最も高かった。

#### 10. 油症患者血液中の PCDF 類実態調査

油症一斉検診受診者の中で希望者を対象に血液中ダイオキシン類濃度を測定した。平成 27 年度(2015 年)の測定対象は未認定者 116 名、認定患者 104 名であった。認定患者の平均総 TEQ (WHO2005) は 64 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 94 pg/g lipid であった。平成 13 ~ 27 年の 15 年間に血液中ダイオキシン類検査を実施した認定患者の実数は 941 名で、これは認定患者 2,289 名(平成 28 年 3 月 31 日現在)の約 41%に相当する。血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均は 120 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 2.8 - 1,800 pg/g lipid と広範囲であるが、約 57%の患者は 50 pg/g

lipid 未満であった。平成 25～27 年に同居家族認定者 88 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 29 pg/g lipid で一般人に近い値であった。平成 13～27 年に血液中ダイオキシン類濃度を分析した未認定者 757 名の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の平均値は 24 pg/g lipid であり、一般住民とほぼ同じ値だった。

#### 11. 油症患者における眼科的所見

平成 28 年度福岡県一斉検診における眼科受診者 223 名を対象に、眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼結膜色素沈着、瞼板腺嚢胞形成、瞼板腺チーズ様分泌物圧出の 5 つの眼科的所見を検討した。その結果、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を認めるものも少数見られた。また、平成 28 年度長崎県検診を受診した 195 名を対象に、酸化ストレス等が原因になるとされる加齢黄斑変性の有無について検証した。その結果、検診受診者 195 人中 2 人(1.0%)に加齢黄斑変性を認めたが、黄斑形態異常の有無による血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に有意差はなかった。

#### 12. 油症検診における口腔カンジダの発現に関する研究

平成 28 年度長崎県油症検診において 77 名(認定者 48 名、未認定者 29 名)を対象に、舌を測定部位とし、カンジダディテクターを用いてカンジダの検出を行った。認定、未認定間ではカンジダの発現率に有意差がみられなかったが、高齢者および女性に高い発現率がみられた。また、口腔乾燥感を訴えた患者

や義歯装着の患者でも高い発現率がみられる傾向にあった。

#### 13. 油症における甲状腺自己抗体に関する研究

平成 28 年度福岡県油症検診を受診した 228 名について甲状腺自己抗体検査を行い、血中 PCB 濃度との関連について検討した。認定者は未認定者に比し、抗甲状腺マイクロゾーム抗体および抗サイログロブリン抗体は多い傾向を認めたが、出現頻度に差をみなかった。抗サイログロブリン抗体は血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比較し有意に高頻度に認められた。抗甲状腺マイクロゾーム抗体、抗サイログロブリン抗体あるいは TSH 刺激性レセプター抗体のいずれか 1 項目以上の異常を認めるものは、PCB 高濃度群において PCB 低濃度群に比較し有意に高頻度であった。PCB の抗サイログロブリン抗体に対する慢性的影響が示唆された。

#### 14. カネミ油症患者における全脳での脳機能的結合変化の検出法の開発に関する研究

九州大学病院を受診した認知症患者において安静時に T1 強調画像、T2 強調画像、resting-fMRI 撮像を同時に行った。その結果をもとに海馬と線維結合を有する後部帯状回(PCC)を起点とした脳機能的ネットワークの差異を健常人のそれと比較検討した。この MRI 撮像法と結果の分析法を基にして今後油症患者に生じる異常感覚の出現、消退の神経基盤を生じる脳機能的結合異常を検出する予定である。

#### 15. 油症患者における免疫機能の解析

##### 1) 長崎県油症認定患者における IL-12 と IFN- $\gamma$ の検討

昨年 の 検 討 に お い て、 認 定 患 者 で は NK 細

胞の相対割合 (%) が健常人と比較して高値であることを確認した。この原因を探る目的に、NK 細胞数に影響を与えるサイトカイン IL-12 と、NK 細胞が産生する IFN- $\gamma$  について認定患者 (N=31) と健常人 (N=31) で比較した。その結果、IL-12 に有意差はないものの増加傾向を認め、IFN- $\gamma$  は油症患者で有意に低値であった ( $p=0.0056$ )。これらの値とダイオキシン濃度との間に相関は認めなかったが、AHR を介した患者免疫応答への影響も示唆された。

## 2) 油症認定患者における soluble CD26/DPP-4 の検討

以前の検討にて、油症患者において制御性 T 細胞 (Treg 細胞) より分泌される血清 IL-10 値が健常人と比べ高い傾向にあり、血清 IL-35 値は有意に高値であることを確認した。これらのサイトカインは Treg 細胞を活性化、あるいは維持するサイトカインであり、患者では Treg 細胞が活性化している可能性がある。今回、Treg 細胞で発現している血清 CD27 について健常人と比較した。その結果、血清中 CD27 値は油症患者で  $12023 \pm 1154$  pg/ml、健常人で  $16020 \pm 5066$  pg/ml で 2 群間に有意な差はなかった。

## 16. カネミ油症患者の低濃度患者における 2,3,4,7,8-PeCDF の濃度の変化(半減期)と半減期の変化に関する研究

体内のダイオキシン類は徐々に排出される一方、食事などから継続的に摂取しているため、その濃度は変化している。2,3,4,7,8-PeCDF の濃度別、生年別に、濃度の変化率(半減期)と半減期の変化を確認した。半減期の変化は濃度の対数の二階微分として評価できる。もっとも単純な二階微分を有する二次方程式に近似して、二階微分の係数を評価した。油症発生以降に生まれた患者(い

わゆる「二世患者」)では、血中で 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が低く、増加している傾向がみられた。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 10 ~ 20 pg/g lipid の患者の多くが油症発生以前に生まれている、いわゆる「一世患者」だが、二階微分は負の患者が多く、平衡状態に低濃度の側から近付いていることが推測された。

## 17. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究 油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と男児出生割合との関連-

油症患者におけるダイオキシン類の曝露量ならびに遺伝的感受性と次世代・次々世代における男児出生割合との関連について検討した。油症発生後に妊娠・出産した 59 例 (142 妊娠) を対象とし、ダイオキシン類の曝露量として分娩時の血中ダイオキシン類推定濃度を、また遺伝的感受性としてダイオキシン類受容体 (AHR) 遺伝子多型 (130bp C/T 一塩基多型) を解析した。その結果、油症患者より出生した女系の次々世代では、男児出生割合が 0.38 と低下する傾向が示された。また、母体の分娩時血中ダイオキシン類推定濃度、なかでも 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い場合には次世代の男児出生割合が低下することが示された。一方、母体の AHR 遺伝子多型と次世代および次々世代の男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。これらの結果から油症発生後に油症患者より出生した女系の次世代、次々世代では男児出生割合が低下する継代的な健康影響が生じている可能性があること、この機序には母体が曝露したダイオキシン類の量的な問題が関与していることが示唆された。

## 18. 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障害の経時的変化に関する検討

マウスにベンゾピレンを経気道的に投与することによって気道分泌物が増加するマウスモデルの作成を試みている。油症患者に喀痰の増加が認められる点からも、動物実験モデルとして有用と思われる。気管支肺胞洗浄(BAL)の解析などにより、ベンゾピレン投与 4-10 日後の解析が適当と考えられた。

2) ベンゾピレンの末梢神経および脊髄感覚系シナプス伝達に及ぼす作用に関する研究  
ダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンを経口投与したラットを用い、後根付き神経節細胞から細胞内記録を行い、末梢神経の静止膜電位や伝導速度等を正常ラットのそれと比較検討した。また、脊髄後角におけるシナプス応答の可塑的な変化についても脊髄スライスに後根を付した標本を用い、ベンゾピレンの中枢性感覚神経系に及ぼす作用を検討した。その結果、A $\beta$ 線維の伝導速度は有意に緩徐化していたが、A $\delta$ や C 線維には有意な変化はみられなかった。また、静止膜電位についても全ての群で有意な差はなかった。脊髄内感覚情報伝達に関しても、ベンゾピレンは膠様質細胞の自発性興奮性後シナプス電流および自発性抑制性後シナプス電流と、A $\delta$ と C 線維誘起シナプス応答の振幅には影響を与えなかった。以上よりベンゾピレンは選択的に末梢感覚神経である A $\beta$ 線維に作用し、伝導速度の緩徐化を惹起し、しびれなどの感覚異常を引き起こした可能性が示唆された。

3) *Helicobacter pylori* 除菌後の胃癌発生に対する activation-induced cytidine deaminase およびダイオキシンの関与  
胃癌の発生機序において遺伝子編集酵素

群の一つである activation-induced cytidine deaminase (AID)発現が関与することが示されている。胃癌発生の主要な病因としては *Helicobacter pylori* が挙げられるが、食生活も胃癌発生に関与することは疫学的調査により示されており、ダイオキシンなどの環境ホルモンの関与も示唆される。我々の検討では、*H. pylori* 除菌後も胃癌発生が必ずしも低下しなかったことから、酸化ストレスによる DNA 損傷との関連が示唆される AID の発現を内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料を用いて評価を開始した。現在、AID 及び p53 の免疫組織化学染色を実施しており、今後は背景粘膜における組織学的変化との関連解析を実施していく予定である。

### 4) 桂皮およびシナムアルデヒドの効果について

ヒト培養表皮細胞を用い、桂枝茯苓丸に強い AHR および NRF2 抑制効果があること、さらにその作用に寄与する成分が桂皮に含まれるシナムアルデヒドであることを示した。桂枝茯苓丸は代表的な駆瘀血剤で、広く日常診療に用いられる漢方方剤の一つであり、慢性ダイオキシン中毒の症状を緩和する効果がある可能性が示唆された。

### 5) 2,2',3,4',4,5,6'-七塩素化ビフェニル(PCB182)のラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる代謝

これまで非常に代謝されにくいとされてきた PCB182 の代謝についてラット、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、モルモットおよびヒト肝 Ms はいずれも 1 種類の代謝物 M-1 (3'-OH 体) を生成した。また、その活性の強さは、ラット (PB 前処理) >> モルモット (PB 前処理) > モルモット (未処理、MC 前処理) > ヒトの順

であった。特に、PB 前処理ラット肝 Ms により、他の七塩素化ビフェニル(PCB187、PCB183、PCB180)と比べ、10～50 倍高い活性で代謝された。以上の結果から、2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する CB182 は、非常に代謝され易いことが明らかになった。また、代謝酵素として PB 誘導性の CYP2B 酵素(ラット CYP2B1、モルモット CYP2B18、ヒト CYP2B6)の関与が示唆された。

#### 6) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin の子育て能力への影響およびその機構解析

これまでの研究で 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の妊娠ラットへの曝露が、胎児脳下垂体において黄体形成ホルモンおよび成長ホルモンの合成を低下させ、出生後の発育障害の一端を担うことを明らかにしつつある。本年度は、母体の育児への影響が、出生児の発育障害に寄与するとの新たな可能性に着目した研究を実施した。まず、育児に必須のホルモンである prolactin の発現状況を妊娠期から育児期にかけて解析した結果、妊娠ラットへの TCDD 曝露は、育児期の母ラットの prolactin レベルを低下し、育児期の母ラットの育児行動を抑制した。しかし、TCDD 曝露母ラットに prolactin を補給するとほぼ正常水準に改善した。さらに、TCDD 曝露に依存した、出生児の低体重や学習記憶障害も母体への prolactin 補給によって改善、ないし改善傾向を示した。一方、芳香族炭化水素受容体 (AHR) 欠損ラットでは、上記の育児能への影響は全く観察されなかった。以上より、TCDD が AHR を介して育児母の prolactin レベルを低下させ、育児抑制ひいては児の発育障害を惹起するとの新たな機構が見出された。

#### 7) 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin の生体

#### 影響とダイオキシンに対する拮抗作用

本研究では、ダイオキシン毒性の新たな軽減策の創出を目指す取り組みとして、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の 4 つの塩素原子をフッ素原子に置換した 2,3,7,8-tetrafluorodibenzo-*p*-dioxin (TFDD) を合成し、その生体毒性ならびにダイオキシンに対する拮抗作用を検討した。雄ラットに TFDD (1～1000 μg/kg) を単回経口投与し、投与 1 日後および 7 日後において体重変化、臓器重量およびダイオキシンにより誘導する遺伝子である cytochrome P450 (CYP) 1A1 の酵素活性を測定した。その結果、TCDD によって起こる肝肥大、胸腺萎縮、体重増加抑制ならびに CYP1A1 活性誘導のいずれに関しても、TFDD 投与によっては全く観察されなかった。さらに、ヒト乳がん細胞株である T47D 細胞に対して、TCDD (500 pM) と共に TFDD (100 fM～10 μM) を併用処理したところ、100 nM 以上の TFDD 併用によって TCDD 依存的な CYP1A1 発現誘導が抑制された。これらの結果から、TFDD はラットへの単回経口投与によってはダイオキシン様の急性毒性を示さないこと、ならびに細胞レベルで TCDD に対して拮抗作用を持つことが明らかになった。

#### 19. 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

油症検診結果より現在の患者の状況を把握した。平成 27 年度油症検診受診者は 644 名で、50 歳以上が全体の 86.5%を占め、高



齡化が進んでいた。自覚症状では全身倦怠感が最も多く 73.4%にみられた。他覚所見では、肝・胆・脾エコーの有所見率が 74.6%と最も高かった。平成 28 年度福岡県検診における眼科検診では、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。他覚所見は、眼瞼結膜色素沈着と瞼板腺チーズ様分泌物を認めるものも少数見られた。平成 28 年度長崎県検診における眼科検診では、検診受診者 195 人中 2 人(1.0%)に加齢黄斑変性を認めたと、黄斑形態異常の有無による血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度に有意差はなかった。平成 28 年度長崎県油症検診において口腔カンジダの発現率をみたところ、認定、未認定者に有意差はみられなかった。

臨床追跡、疫学調査を行った。平成 27 年度に実施した久山町の地域住民 495 人を対象にした環境調査における血液中総ダイオキシン類および PCB 平均濃度はそれぞれ 24 pg TEQ/g lipid、214 pg/g lipid であった。また、血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は中央値で 10.5 pg/g lipid だった。平成 27 年度に実施した桂枝茯苓丸の臨床試験にて 3 ヶ月の内服前後で全身倦怠感、皮膚症状の軽減がみられた。平成 28 年度福岡県検診において、ロコチェック質問票を用いて油症患者の運動機能を評価したところ、過半数の受診者においてロコモティブシンドロームがみられたが、ダイオキシン類濃度との相関はみられなかった。平成 28 年度福岡県検診において甲状腺自己抗体の陽性率と PCB 濃度との相関を検証したところ、抗サイログロブリン抗体は血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比較し有意に高頻度にみられ、PCB 曝露が甲状腺機能に及ぼす慢性影響が示唆された。油症患者に生じる異常感覚の出現、消退の神経基盤を生じる脳機能的結合異常を検出するた

めの安静時機能的 MRI の解析法を確立した。ダイオキシン類曝露による免疫機能の変調を探るべく、NK 細胞数に影響を与える IL-12 と、NK 細胞が産生する IFN- $\gamma$  について認定患者と健常人で比較したところ、IL-12 は増加傾向で、IFN- $\gamma$  は油症患者で有意に低値であった。これまでの研究にて油症患者において制御性 T 細胞 (Treg 細胞) が活性化している可能性が示されている。Treg 細胞が発現している血清 CD27 について健常人と比較したが、患者の発現値との間に有意な差はなかった。

ダイオキシン類の生体内動態、次世代への影響を検証した。平成 27 年度に測定した認定患者の血液中平均総 TEQ (WHO2005) は 64 pg TEQ/g lipid、2,3,4,7,8-PeCDF 平均濃度は 94 pg/g lipid だった。2,3,4,7,8-PeCDF の半減期、半減期の変化を油症発生以降に生まれた患者と直接曝露した患者に分けて検証した。二世患者では血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が低くも増加している傾向がみられた。2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が 10 ~ 20 pg/g lipid である、多くが油症発生以前に出生した一世患者ではダイオキシン類濃度は平衡状態に低濃度の側から近づいていた。油症患者より出生した女系の次々世代では、男児出生割合が 0.38 と低下する傾向がみられ、母体の分娩時血中ダイオキシン類推定濃度、なかでも 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高い場合には次世代の男児出生割合が低下した。しかし、母体の AHR 遺伝子多型と次世代および次々世代の男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。

基礎的研究では、ダイオキシン類の生体内動態、毒性の把握、次世代への影響、治療薬の探索を行った。マウスにベンゾピレンを経気道的に投与し、気道分泌物が増加する油症の動物モデルの作成を試みている。ラ

ットを用いた実験において、ベンゾピレンは選択的に末梢感覚神経である A $\beta$ 線維に作用し、伝導速度の緩徐化を惹起し、油症患者のしびれなどの感覚異常を引き起こした可能性が示唆された。胃癌の発生機序に関与し、酸化ストレスによる DNA 損傷との関連も示唆されている遺伝子編集酵素群の一つ、activation-induced cytidine deaminase (AID) 発現を内視鏡治療により切除した胃癌の切除材料を用いて検証を開始した。桂枝茯苓丸に強い AHR および NRF2 抑制効果があること、その作用に寄与する成分が桂皮に含まれるシンナムアルデヒドであることが明らかになった。これまで代謝されにくいと考えられてきた 2,4,6-三塩素置換ベンゼンを有する PCB182 は非常に代謝され易いことが明らかになった。TCDD が AHR を介して育児母の prolactin レベルを低下させ、育児抑制ひいては児の発育障害を惹起するとの新たな機構が見出された。TCDD の 4 つの塩素原子をフッ素原子に置換した TFDD をラットへの単回経口投与したところ、ダイオキシン様の急性毒性は示さず、細胞レベルで TCDD に対して拮抗作用を示した。

このように、今年度も油症患者の現況を把握し、ダイオキシンが生体に及ぼす影響・作用機序の研究を行った。将来的に、新しい治療薬の発見・開発につなげたい。

E. 健康危険情報  
なし。