

## 分担研究報告書

### 油症検診受診者の血液中 PCDF 等（ダイオキシン類）濃度実態調査

研究分担者	香月 進	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	堀 就英	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
	飛石 和大	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	新谷 依子	福岡県保健環境研究所	生活化学課 研究員
	佐藤 環	福岡県保健環境研究所	生活化学課 主任技師
	宮脇 崇	福岡県保健環境研究所	水質課 研究員
	平川 周作	福岡県保健環境研究所	水質課 研究員
	酒谷 圭一	福岡県保健環境研究所	計測技術課 主任技師
	片宗 千春	福岡県保健環境研究所	計測技術課 主任技師
	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	室長
	広瀬 勇氣	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員

#### 研究要旨

全国油症一斉検診の受診者について血液中の PCDF 等（ダイオキシン類）の濃度を継続的に測定している。2018 年度の油症検診で血液中ダイオキシン類濃度測定を行った認定患者 195 名と未認定者 125 名について結果集計を行った。油症認定患者 195 名の内訳は、油症検診結果に基づく認定者（検診認定者）が 171 名、同居家族の条件による認定者（同居認定者）が 24 名であった。認定患者全体（195 名）の 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 69 pg/g-fat となり、2,3,7,8-TeCDD 毒性等価係数（WHO-2006）を用いて毒性等量（TEQ）に換算した総ダイオキシン類（Total TEQ）の平均濃度は 48 pg TEQ/g-fat であった。このうち同居認定者（24 名）の 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 18 pg/g-fat であり、Total TEQ の平均濃度は 28 pg TEQ/g-fat であった。これに対して、未認定者（125 名）の 2,3,4,7,8-PeCDF 平均濃度は 13 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 24 pg TEQ/g-fat であった。

2018 年度に実施した血液中ダイオキシン類濃度の分析精度管理の解析を行った。その結果、当所を含む国内 6 機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中ダイオキシン類の濃度測定が適切に実施されていることが分かった。

このほか、油症患者におけるチトクローム P450（CYP）依存的な PCB 異性体の代謝能の調査及び生成される水酸化 PCB を予測するため、*in silico* 解析による PCB と CYP のドッキングシミュレーションを実施した。その結果、PCB の骨格構造における水酸化標的部位を解析することにより、生成される水酸化 PCB とその代謝経路に關与する CYP 分子種を推定することができた。また、油症患者血液中の 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl（PCB183）鏡像異性体（キラル体）を分析し、そのキラル選択的蓄積性を評価した。

現在、2019 年度に行われた全国油症一斉検診の受診者のうち 228 名について血液中ダイオキシン類濃度測定を行っている。

## A . 研究目的

2004 年に血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 値が新たな油症診断基準に加えられた。また 2012 年 12 月には油症診断基準追補(同居家族の条件追補)が加わり、2018 年度現在の認定患者数は 2,334 名である。

全国油症治療研究班では、油症認定患者の治療と追跡、ならびに未認定者の患者診定に資することを目的として、毎年全国で油症一斉検診を行っている。本分担研究では、福岡県保健環境研究所で開発したダイオキシン類分析法を用いて、油症一斉検診受診者のうち、2001 年度は福岡県の受診者中の希望者、2002～2006 年度の 5 年間は全国の受診者における希望者、2007 年度からは未認定者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の血液中ダイオキシン類濃度を測定してきた。測定結果は患者認定における指標値として用いられ、患者の血液中ダイオキシン類濃度の解明、血液中濃度の経年推移や対外排泄速度等の解析に寄与している。

本年度は以下の 3 項目について検討した。

( 1 ) 2018 年度全国油症一斉検診の受診者のうち血液中ダイオキシン類濃度の測定を行った 320 名について結果集計を行った。2013 年度から検診が始まった同居認定者の血液中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を検診認定者及び未認定者と比較し、現状の把握を行った。

( 2 ) 国内で血液中ダイオキシン類・PCB 測定を行っている分析機関に共通の血液試料を配布し、各機関の定量結果を統計手法で

比較する精度管理を行った。

( 3 ) 患者体内における PCB 蓄積の特徴を調べることを目的とし、*in silico* 解析によるドッキングシミュレーションを用いてヒト CYP 分子種に依存する PCB 代謝特性について検討した。さらに血液中の 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl (PCB183) の鏡像異性体(キラル体)の選択的蓄積性を評価した。

## B . 研究方法

### 1 . 血液中ダイオキシン類の測定

血液中ダイオキシン類の測定は、2001 年度に開発した高感度分析法で行った。油症一斉検診で要求される条件(分析期間、処理件数、分析感度)に対応するために、必要に応じて抽出法や機器分析法に改良を加えて現在に至っている。定量結果の信頼性を確保するため、血液試料 22 件につきブランク試験 1 件、内部精度管理試料としてヒト血清 1 件を加えた計 24 件を「1 バッチ」として前処理を実施し、試験操作が適切に実施されたことを確認した。

2018 年度の油症一斉検診受診者のうち、初回及び過去 3 年以内に血液中ダイオキシン類測定歴が無い認定患者 195 名及び未認定者 125 名から血液を採取し、測定を実施した。血液はヘパリン入り真空採血管に採取され、測定まで 4 以下で冷蔵保存した。

ダイオキシン類各異性体濃度の 2,3,7,8-TCDD 毒性等量(TEQ)への換算には、2005 年に WHO が策定した毒性等価係数(WHO-2006)を用いた。各受診者の区分(認定または未

認定)は2018年の検診受診時のものを用いた。

## 2. 血液中ダイオキシン類濃度分析の精度管理

各分析機関に2種類の血液試料(Sample 1及び2)を配付し、各機関で通常行っている分析法でダイオキシン類(毒性等価係数が設定されている29異性体)を測定するように依頼した。各機関からの報告値は全血重量及び脂肪重量あたりのダイオキシン類異性体別濃度と毒性等量(TEQ)であった。TEQの算出には毒性等価係数(WHO-2006)を用い、定量下限未満となった異性体濃度は定量下限の1/2値に置き換えて解析した。各機関間の比較にはCV値およびZスコアを用いた。

## 3. 油症患者におけるPCBの蓄積特性の解析及び血液中PCBの鏡像異性体(キラル体)分離定量法の検討

愛媛大学沿岸環境科学研究センターの協力を得て、分子シミュレーションソフトウェアMolecular Operating Environment(MOE)プログラムを利用し、PCB異性体69種類と薬物代謝酵素チトクロームP450(CYP)分子種7種についてドッキングシミュレーションを行い、体内でのCYP分子種依存的なPCB代謝経路の予測を行った。

また、高分解能GC/MSを用いて血液中の2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl(PCB183)の鏡像異性体(キラル体)の分離定量法について測定条件の検討を行った。

### (倫理面への配慮)

血液中ダイオキシン類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究

成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30-7及び-8号、2018年11月5日承認)。

## C. 研究結果・考察

### 1. ダイオキシン類分析の信頼性確保

#### 1-1. 内部精度管理

各測定バッチ(24件)のブランク試験結果の取扱いは、厚労省が策定した「血液中のダイオキシン類測定暫定マニュアル」に準じて行った。全測定を通じて定量精度に著しい影響を与えるような操作ブランクの出現は認められなかった。

血液試料と並行分析したヒト血清試料についてダイオキシン類異性体の定量値を各バッチ間で比較したところ、CV値は10%程度であり再現性は良好であった。

#### 1-2. 外部精度管理

6機関(A~F)の血液中ダイオキシン類濃度の測定結果(全血重量あたり)を表1に示した。血液中の各同族体PCDDs、PCDFs、non-ortho PCBs、mono-ortho PCB及びTotal TEQの平均値は、Sample 1が0.0052、0.0026、0.0019、0.00023、0.010 pg-TEQ/g、Sample 2が0.0073、0.015、0.0045、0.00083、0.028 pg-TEQ/gであり、CV値はそれぞれSample 1が8.6~20.6%、Sample 2が12.2~20.2%であった。結果として各分析機関の測定値は概ね一致し、ばらつきは少なく良好であった。一方、濃度を抽出脂肪重量あたりに換算すると、脂肪抽出量のばらつきが上乘せされ、全血重量当たりで表示した場合と比べてCV値は高くなった(表2)。し

かし Z スコアによる評価では、脂肪重量あたりの濃度であっても Sample 1、2 ともに  $Z = \pm 2$  を超えた機関はなく、良好な結果であった。

## 2 . 2018 年度油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度

2018 年度の血液中ダイオキシン類測定対象者は 320 名（内訳：認定患者 195 名及び未認定者 125 名）であり、2017 年度の 283 名に比べて 37 名増加していた。2007 年度以降、ダイオキシン類測定対象者数は初回受診者と認定患者で過去 3 年以内に測定歴の無い受診者とされており、4 年周期で多くなる傾向がある。2018 年度はそのピークに当たり測定件数が増大したものである。また、未認定者は 2017 年度と比べて 10 名減少した。これは 2012 年 12 月に油症診断基準に同居家族条項が追加され、一部の未認定者が同居家族条件による認定を受けたことが要因と考えられる。

表 3 に 2018 年度の油症一斉検診の油症認定患者及び未認定者の血液中ダイオキシン類濃度の分析結果、ならびに 2004 年度に福岡県内で実施した一般住民の血液中ダイオキシン類濃度を示した。

認定患者全体（195 名）の 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 69 pg/g-fat となり、2,3,7,8-TeCDD 毒性等価係数（WHO-2006）を用いて毒性等量（TEQ）に換算した総ダイオキシン類（Total TEQ）の平均濃度は 48 pg TEQ/g-fat であった。このうち検診認定者（171 名）の 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 77 pg/g-fat となり、Total TEQ の平均濃度は 51 pg TEQ/g-fat であった。一方、同居認定者（24 名）の 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 18 pg/g-fat であり、Total TEQ

の平均濃度は 28 pg TEQ/g-fat であった。未認定者 125 名の 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 13 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 24 pg TEQ/g-fat であった。

2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度を対照群の一般住民と比較すると、検診認定者の平均濃度は一般住民に対して 4.5 倍高く、同居認定者や未認定者は一般住民とほぼ同等の濃度であった。

表 4 に 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の度数分布を示した。同居認定者と未認定者は検診認定者と比べて低濃度域に分布しているが、油症診断基準で「高い濃度」に区分される 50 pg/g-fat を超える受診者が同居認定者で 1 名、未認定者で 3 名認められた。

## 3 . 油症患者における PCB の蓄積特性及び血液中 PCB の鏡像異性体（キラル体）分離定量法

*In silico* 解析による PCB と CYP のドッキングシミュレーションを実施し、得られたドッキングポーズから PCB 異性体の骨格構造における水酸化標的部位を調査した。その結果、ヒトの血中で主に検出され、油症患者の血液においても報告されている 4-OH-CB107、4-OH-CB146、4-OH-CB187 について、親化合物として予測される PCB 異性体からの生成経路に關与する CYP 分子種を推定することができた（図 1）。

高分解能 GC/MS を用いて 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl（PCB183）の鏡像異性体（キラル体）を分析した。その結果、標準試薬中では右旋性（PCB183(+)）のものと左旋性のもの（PCB183(-)）が 1:1 のラセミの状態が存在するのに対し、血液中では PCB183(+)の方が存在割合が大きかった（図 2）。このことか

ら、人体において PCB183(+)の方が PCB183(-)よりも蓄積されやすいと考えられた。

#### D . 結論

少量(約5グラム)の血液から 2,3,4,7,8-PeCDF を含むダイオキシン類を定量する分析技術と体制を維持し、継続して測定を行ってきた。測定データの信頼性を確保するためにブランク試験、内部精度管理を実施し、国内の分析機関と共通の血液試料を分析する精度管理を行った。

2018年度の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、油症認定患者 135名と未認定者 148名であった。検診認定者における 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 77 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 51 pg TEQ/g-fat であった。同居認定者における 2,3,4,7,8-PeCDF の平均濃度は 18 pg/g-fat であり、Total TEQ の平均濃度は 28 pg TEQ/g-fat であった。未認定者 125名の 2,3,4,7,8-PeCDF 平均濃度は 13 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 24 pg TEQ/g-fat であった。多くの同居認定者及び未認定者の血液中ダイオキシン類濃度は一般人と同等のレベルであったが、油症診断基準で「高い濃度」に該当する受診者も少数認められた。2001年度から 17年間継続している血液中ダイオキシン類濃度測定の累計数は約 5700件となった。2018年度の測定結果はすでに油症診断データベースへ追加登録されており、臨床症状との関連性解析などに今後活用される。

患者体内における油症原因物質の動態を解明するアプローチとして、*in silico* 解析を用いた PCB と CYP のドッキングシミュレーションによる PCB 代謝能を調査し、血

中で検出される主要な水酸化 PCB 異性体の生成に關与する CYP 分子種を推定することができた。油症患者血液中の 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl (PCB183)鏡像異性体(キラル体)を分析した結果、人体において PCB183(+)の方が PCB183(-)よりも蓄積されやすいことが示唆された。

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)堀就英、安武大輔、平川博仙、戸高尊、広瀬勇氣、新谷依子、梶原淳睦、香月進、三苫千景、古江増隆、油症認定患者及び未認定者の血液中ダイオキシン類濃度と傾向(2001~2017年度) 福岡医学雑誌、2019. 110(2). 61-66.
- 2)酒谷圭一、安武大輔、高橋浩司、堀就英、梶原淳睦、香月進、中野武、三苫千景、古江増隆、油症一斉検診における血液試料中の 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183)のキラル分析、福岡医学雑誌、2019. 110(2). 91-96.
- 3) Hirakawa, S, Miyawaki, T, Hori, T, Kajiwara, J, Katsuki, S, Hirano, M, Yoshinouchi, Y, Iwata, H, Mitoma, C, Furue, M, *In silico* prediction of the metabolism of PCB congeners by Cytochrome P450 isozymes in Yusho patients. *Organohalogen Compounds*, 2019. 81. 171-174.
- 4) Sakatani, K, Yasutake, D, Takahashi, K, Hori, T, Nakano, T, Mitoma, C,

Furue, M, Enantiomeric analysis of 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl in the blood of Yusho patients, Organohalogen Compounds, 2019. 81. 25-28.

## 2 . 学会発表

- 1 )新谷依子、堀就英、平川博仙、安武大輔、梶原淳睦、香月進、岸玲子、古江増隆、血液中 PCB 濃度分析のクロスチェック (2018 年度) 第 28 回環境化学討論会 (さいたま市)、2019 年 6 月 12-14 日.
- 2 ) Hirakawa, S, Miyawaki, T, Hori, T, Kajiwara, J, Katsuki, S, Hirano, M, Yoshinouchi, Y, Iwata, H, Mitoma, C, Furue, M, *In silico* prediction of the metabolism of PCB congeners by Cytochrome P450 isozymes in Yusho patients. 39TH INTERNATIONAL

SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Kyoto, Japan, 2019 August.

- 3 ) Sakatani, K, Yasutake, D, Takahashi, K, Hori, T, Nakano, T, Mitoma, C, Furue, M, Enantiomeric analysis of 2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl in the blood of Yusho patients, Kyoto, Japan, 2019 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

表 1 共通血液試料中のダイオキシン類測定結果 (全血重量当たり、pg/g-whole)

		分析機関						平均値	CV%
		A	B	C	D	E	F		
Sample 1	Total PCDDs TEQ	0.0037	0.0061	0.0060	0.0044	0.0041	0.0047	0.0052	20.6
	Total PCDFs TEQ	0.0017	0.0024	0.0022	0.0028	0.0031	0.0039	0.0026	15.0
	Total non-ortho PCBs TEQ	0.0017	0.0019	0.0022	0.0019	0.0017	0.0026	0.0019	10.2
	Total mono-ortho PCBs TEQ	0.00022	0.00026	0.00023	0.00022	0.00021	0.00022	0.00023	8.6
	Total TEQ	0.0074	0.011	0.011	0.0093	0.0091	0.011	0.010	9.6
Sample 2	Total PCDDs TEQ	0.0059	0.0058	0.0094	0.0077	0.0076	0.0060	0.0073	20.2
	Total PCDFs TEQ	0.013	0.015	0.018	0.014	0.015	0.017	0.015	12.2
	Total non-ortho PCBs TEQ	0.0043	0.0050	0.0053	0.0041	0.0040	0.0043	0.0045	12.3
	Total mono-ortho PCBs TEQ	0.00080	0.00101	0.00080	0.00079	0.00074	0.00074	0.00083	12.6
	Total TEQ	0.024	0.027	0.034	0.027	0.027	0.028	0.028	12.5

表 2 共通血液試料中のダイオキシン類測定結果 (単位: pg/g-fat)

		分析機関						平均値	CV%
		A	B	C	D	E	F		
Sample 1	Total PCDDs TEQ	1.2	1.8	2.1	1.3	1.1	1.6	1.5	28.6
	Total PCDFs TEQ	0.57	0.72	0.77	0.85	0.82	1.4	0.75	14.6
	Total non-ortho PCBs TEQ	0.55	0.58	0.76	0.57	0.48	0.89	0.59	17.5
	Total mono-ortho PCBs TEQ	0.072	0.079	0.079	0.065	0.058	0.080	0.071	12.7
	Total TEQ	2.4	3.2	3.7	2.8	2.4	4.0	2.9	18.8
Sample 2	Total PCDDs TEQ	1.7	1.5	3.5	2.9	2.1	2.0	2.3	36.0
	Total PCDFs TEQ	3.7	3.7	6.7	5.4	3.9	5.3	4.7	28.8
	Total non-ortho PCBs TEQ	1.2	1.2	1.9	1.5	1.1	1.4	1.4	24.6
	Total mono-ortho PCBs TEQ	0.23	0.25	0.30	0.30	0.20	0.23	0.25	16.6
	Total TEQ	6.9	6.7	12	10	7.2	8.9	8.7	29.0

表3 2018年度血液中ダイオキシン類濃度調査結果(2018年、単位:pg/g-fat)

Congeners	2018年検診結果								一般住民 (2004年, N=127)			
	認定患者(N=195)				未認定者(N=125)				Mean	SD	Min	Max
	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.3	0.94	ND	6.1	1.3	1.12	ND	6.3	1.9	0.84	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	6.9	4.7	ND	40	5.4	4.3	ND	23	9.0	3.4	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.9	2.4	ND	13	3.2	2.9	ND	22	3.6	1.9	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	30	25	ND	140	15	11	2.2	63	28	11	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	4.0	3.4	ND	19	4.8	4.6	ND	36	4.5	2.8	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	41	35	2.8	270	50	59	6.6	440	78	55	18	470
OCDD	500	420	60	3300	530	780	53	6900	1200	640	180	7600
Total PCDDs	590	460	74	3600	610	850	73	7400	1300	1000	210	8200
2,3,7,8-TCDF	3.1	2.8	ND	27	2.9	7.4	ND	78	1.0	0.72	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	1.4	0.9	ND	4.1	1.2	0.94	ND	6.2	0.67	0.55	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	69	99	3.3	590	13	13	1.2	79	17	7.7	6.0	63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	12	18	ND	120	3.3	3.3	ND	24	5.0	2.7	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6.6	6.6	ND	48	3.4	3.5	ND	27	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.1	0.54	ND	5.0	1.2	0.64	ND	5.6	1.2	0.8	ND	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.8	1.4	ND	9.3	1.6	1.2	ND	8.0	2.2	2.1	ND	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND				ND				ND			
OCDF	ND				ND				2.1	1.4	ND	18
Total PCDFs	99	120	12	730	30	22	10	150	37	14	15	86
344'5-TCB(81)	5.2	1.2	ND	15	5.3	1.7	5.0	17	5.6	2.3	ND	24
33'44'-TCB(77)	11	7.3	ND	41	10	5.8	5.0	27	8.4	4.8	ND	31
33'44'5-PenCB(126)	80	69	ND	380	70	89	5.0	567	110	80	17	520
33'44'55'-HxCB(169)	140	110	11	700	69	74	5.0	371	64	27	16	190
Total Non-ortho PCBs	230	160	30	900	160	160	20	940	190	110	59	740
Total	920	580	120	3800	800	950	110	7700	1600	1000	290	8500
PCDDs-TEQ	12	7.6	1.4	44	9.7	7.4	1.6	46	16	5.9	5.1	35
PCDFs-TEQ	23	32	1.5	190	5.1	4.6	0.85	27	6.6	2.5	2.3	14
Non-ortho PCBs-TEQ	12	8.9	0.82	49	9.1	11	0.65	67	13	8.6	2.6	58
Total TEQ	48	41	6.0	250	24	21	3.1	120	37	16	12	100

表4 血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度(脂肪重量当たり)の度数分布

2,3,4,7,8-PeCDF 濃度範囲 (pg/g)	検診認定者	同居認定者	未認定者
以上			
500 ~ 600	2	-	-
400 ~ 500	3	-	-
300 ~ 400	6	-	-
200 ~ 300	5	-	-
100 ~ 200	27	-	-
90 ~ 100	3	-	-
80 ~ 90	6	-	-
70 ~ 80	4	-	1
60 ~ 70	5	1	1
50 ~ 60	6	-	1
40 ~ 50	12	1	3
30 ~ 40	17	3	6
20 ~ 30	15	3	11
10 ~ 20	30	7	32
0 ~ 10	30	9	70
人数計	171	24	125



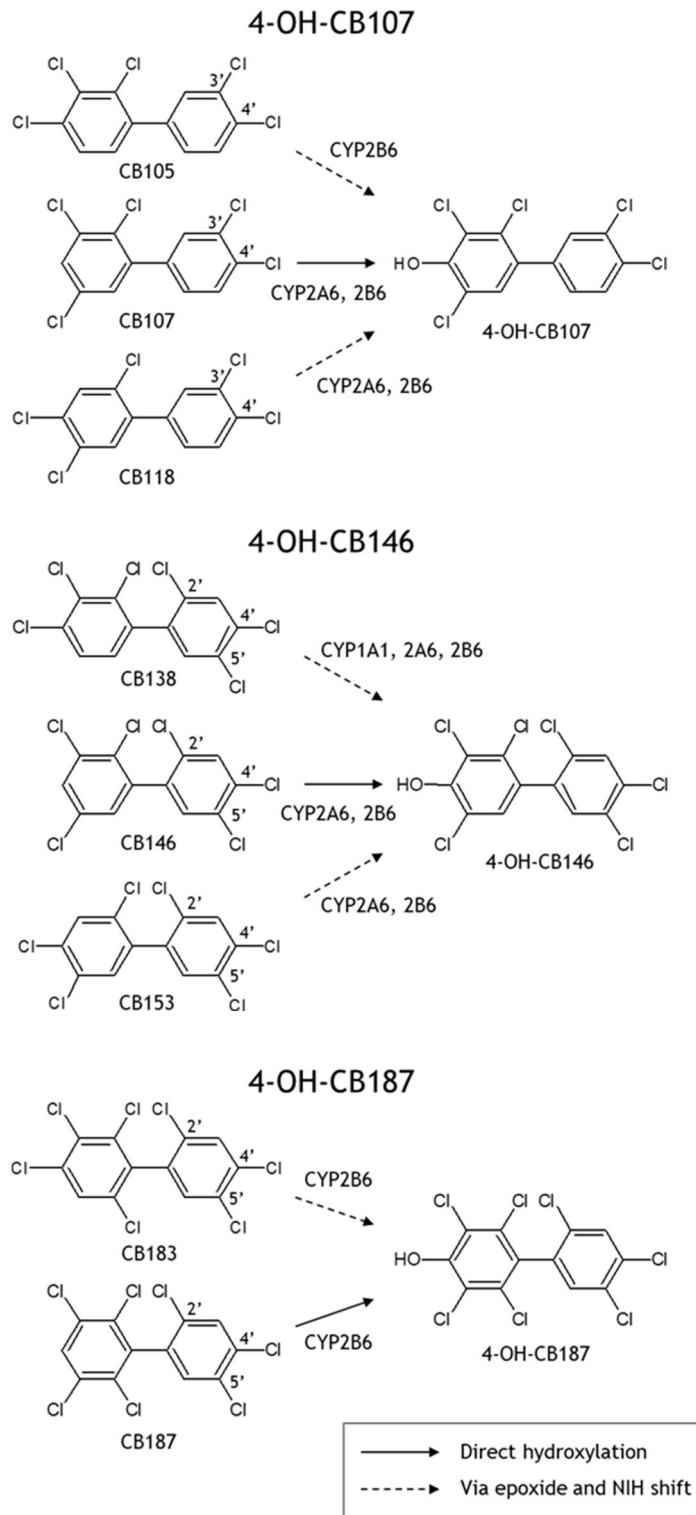


図1 4-OH-CB107、4-OH-CB146 及び 4-OH-CB187 の予測生成経路

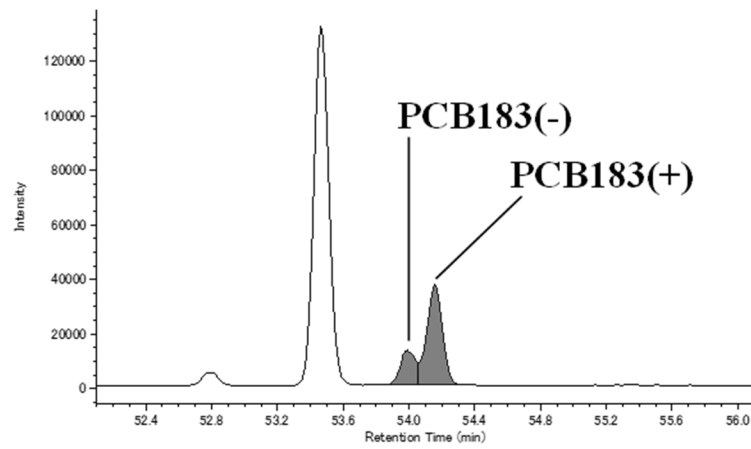
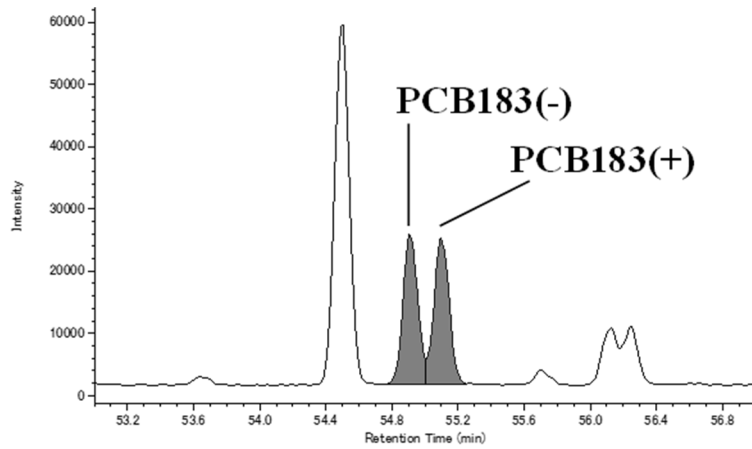


図2 標準試薬（上図）及び血液（下図）における2,2',3,4,4',5',6-heptachlorobiphenyl (PCB183) 鏡像異性体（キラル体）のクロマトグラム