

令和 6 年度厚生労働行政推進調査事業費
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

令和 6 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中原剛士

令和 7 (2025) 年 5 月

目 次

I. 令和6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.....1
研究代表者 中原 剛士

II. 令和6年度分担研究報告書

01. 油症患者の追跡調査.....11
研究分担者 小野塚 大介
研究協力者 中村 優子, 辻 学, 中原 剛士
02. 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.....13
研究分担者 白石 博昭
研究協力者 堀 就英, 飛石 和大, 中村 麻子, 新谷 依子, 酒谷 圭一,
重富 敬太, 工藤 愛透翔, 平川 周作, 佐藤 環, 戸高 尊,
広瀬 勇気, 宮脇 崇
03. 油症検診データを用いた基礎的解析.....25
研究分担者 白石 博昭
研究協力者 高尾 佳子, 熊谷 博史
04. 油症患者の血液中ポリ塩化ケアテルフェニル異性体分析における
ナローボアカラムの検討.....31
研究分担者 戸高 尊
研究協力者 上原口 奈美, 広瀬 勇気, 市村 清隆
05. カネミ油症患者への漢方治療の有用性に関する情報発信に関する研究.....34
研究分担者 貝沼 茂三郎
06. 油症暴露による継世代健康影響に関する研究
-油症 2 世、3 世における婦人科関連症状-.....37
研究分担者 加藤 聖子
研究協力者 濱田 律雄
07. 油症における抗ミトコンドリア抗体、
抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討.....42
研究分担者 辻 博
08. 気道上皮細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) の役割の検討.....49
研究分担者 岡本 勇
研究協力者 坪内 和哉, 高野 智嗣

09. 抗酸化作用を有するポリアミンが消化管上皮の細胞死に与える影響	52
研究分担者 鳥巣 剛弘	
10. 油症検診における眼病変の追跡調査	55
研究分担者 園田 康平	
11. 油症検診受診者における角膜上皮障害	56
研究分担者 井上 大輔	
研究協力者 上松 聖典	
12. カネミ油症患者における脳・精神・神経・自律神経の病気・症状の 現状把握と考察	58
研究分担者 緒方 英紀	
13. 性ベンゾピレン中毒ラットに対する芍薬甘草湯の効果検討	60
研究分担者 申 敏哲	
研究協力者 吉村 恵	
14. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析： 脳の性分化と生殖腺の発達に対する芳香族炭化水素受容体の寄与	67
研究分担者 石井 祐次	
15. ヒト末梢感覚神経における AHR シグナルを介した皮膚炎の制御機構の解明	76
研究分担者 山村 和彦	
16. 油症患者における皮膚ガス分析の検証	79
研究分担者 室田 浩之	
研究協力者 芦田 美輪	
17. PDE4 阻害と AhR シグナルのクロストークによる皮膚免疫の制御	83
研究分担者 辻 学	
18. 膠原病の皮疹形成機序における AHR の役割に関する研究	86
研究分担者 冬野 洋子	
19. 2, 4, 6-三塩素置換型 PCB140 のラットにおける <i>in vivo</i> 代謝	87
研究分担者 太田 千穂	
研究協力者 古賀 信幸	
20. ダイオキシン誘導性セレン結合性タンパク質 1 (SelenBP1) ：ヒト由来細胞を用いた検討	93
研究分担者 石井 祐次	
21. 芳香族炭化水素受容体を介した骨代謝制御機構に関する研究	114
研究分担者 藤原 稔史	
22. 油症患者における口腔粘膜色素沈着と口腔乾燥の経年変化について	116
研究分担者 川崎 五郎, 吉富 泉	

23. AhR シグナルの活性化による Tenascin-C の発現抑制がヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化に及ぼす影響について	119
研究分担者 前田 英史	
24. ダイオキシン類への曝露が口腔内組織の老化に及ぼす影響について	123
研究分担者 友清 淳	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	125

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 中原剛士 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 教授

研究要旨

【背景】油症はPCBやダイオキシン類の摂取による混合中毒である。ダイオキシン類の生体への慢性影響については十分に解明されていない。油症研究班（以下、油症班）は発生当時より50年以上にわたり検診を行い、直接曝露した患者、継世代への影響を追跡し、分析を行っている。

【研究目的】PCB類・ダイオキシン類の生体への影響、生体内動態を把握し、ダイオキシン類の毒性を緩和する治療法・対処法を見出すことである。

【研究成果】

臨床的追跡調査・疫学研究

（1）油症患者の支援と治療研究の推進

①健康実態調査、一斉検診の実施、検診結果を集積した患者データベースを更新した。令和5年度全国油症検診の受診者の検診結果をデータベースに入力した。②油症認定患者の長期死亡リスクについて再評価を行っている。追跡調査期間を56年に延長し、油症認定患者の生存・死亡情報を更新した。

（2）臨床的追跡調査・疫学研究

①2023年度に測定を行った認定患者184名と未認定者180名について結果集計を行った。認定患者の2, 3, 4, 7, 8-PeCDF濃度は平均37 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)濃度は平均27 pg TEQ/g-fatであった。未認定者の2, 3, 4, 7, 8-PeCDF濃度は平均5.4 pg/g-fat、Total TEQの平均濃度は9.3 pg TEQ/g-fatであった。

②油症患者において特徴的に低い割合となる2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl(PCB118)について、これまでの研究の結果、ヒトチトクローム(CYP)2A6を介した未同定の代謝産物が確認された。そこで、in vitro試験による再試験と実験操作の改良を試みた。その結果、in vitro代謝試験では同じ代謝物の生成を示すピークが検出され、再現性を確認した。また、前回実施した¹³Cラベル3~6塩素化物の水酸化PCB異性体の平均回収率は38、37、34、34%であったが、実験操作の改良により平均回収率は99、69、75、75%に改善した。

現在、2024年度の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の測定対象者(241名)について測定及び解析作業を継続している。

③血液中ダイオキシン類の微量分析技術を用い、2023年度に実施した血液中PCB分析精度管理について、データ解析を行った。その結果、当所を含む国内5機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中PCBの定量分析が適切に実施されていることが分かった。

④カネミ油症発生後に油症患者より出生した児(油症2世)および油症3世の婦人科関連症状の検討をアンケートをもとに集計、解析を開始している。

⑤令和6年度油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査し、油症認定患者の

角膜上皮状態と、血中の PeCDF 濃度との関連について調査を開始した。

⑦令和 6 年度の長崎県油症検診において歯科検診を受診した患者を対象に口腔乾燥症に関する検討を行った。油症に関する口腔粘膜色素沈着は高い発生率であったが、口腔乾燥症との関連性は認められなかった。

⑧2024 年度福岡県油症一斉検診の受診者 194 例において抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定した。

（3）基礎的研究

①ヒト気道上皮の最下層の基底細胞で SIRP α が発現しており、EGFR の下流シグナルと関連が深いことが示唆された。このシグナルが油症気道傷害の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

②2, 4, 6-三塩素置換型 PCB140 をラットに経口投与したところ、約 95% が腸から吸収され、主な代謝産物である M1 (3'-OH 体) は糞中に排泄された。尿中には代謝物は検出されず、排泄の主体は胆汁経由の糞中排泄と考えられる。PCB140 は PCB138 に比べ代謝されやすいとされていたが、実際には体内での代謝・排泄に時間を要することが示された。

③PDE4 阻害薬ジファミラストは AhR の核内移行を誘導するが、ARNT との結合がみられず、CYP1A1 発現も抑制された。これにより、AhR シグナルが抑制されることが示され、ジファミラストは油症における皮膚症状の改善に寄与する可能性がある。

④AHR リガンドはヒト細胞で SELENBP1 を誘導し、SELENBP1 は PPAR α を正に調節する。SELENBP1 の機能は Se 結合に依存せず、脂質代謝調節に関与する。

⑤ベンゾピレンは末梢神経に障害を引き起こし感覚閾値を上昇させるが、芍薬甘草湯はその影響を抑制した。CYP1A1 や酸化ストレスの上昇も抑えられ、神経保護作用が示唆された。

⑥Benzo(a)pyrene により、ヒト歯根膜細胞の炎症関連遺伝子および老化関連遺伝子が変動する（老化では特に CDKN1A）ことが明らかになった。

⑦AhR シグナルの活性化による Tenascin-C の発現抑制はヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化を抑制する。

⑧油症ではダイオキシン類による酸化ストレスが病態に関与し、フェロトーシスを含む細胞死に影響を与える。メタボローム解析により、グルタチオン代謝の変化を通じて、芳香族炭化水素受容体 (AhR) シグナルがフェロトーシスを抑制することが示された。これにより、フェロトーシスが油症の病態に関与する可能性が示唆された。

⑨AhR は骨代謝を制御する破骨細胞と骨芽細胞の分化に従い発現が増加し、ベンゾピレンはこれらの分化を阻害する。

⑩膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの抗炎症作用とその機序を解明した。

⑪ヒト末梢感覚神経細胞を Tapinarof で刺激したところ、Nrf2 といくつかの共通点を持つ転写因子 NFE2 が誘導された。この転写因子は神経細胞における役割はまだあまりよくわかつておらず、神経における AHR シグナルの働きを解明する上で新たな標的となりうる可能性がある。

A. 研究目的

PCB とダイオキシンおよびダイオキシン類似化合物（以下、ダイオキシン類）の混合中毒である油症が発生して 50 年以上が経過した。ダイオキシン類は人類への影響が懸念される、環境汚染物質でもある。患者生体内に長期間残存するダイオキシン類がどのような影響を及ぼしているかについては明らかでない。油症研究の目的は、ダイオキシン類が生体に及ぼす慢性影響を把握し、患者に残存する症状を緩和する方法を開発することにある。

（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。

4. 油症ダイオキシン研究診療センターとの協力体制の充実

油症ダイオキシン研究診療センターを中心に、九州大学病院の各診療科（医科・歯科）油症診療ネットワークを構築している。診療科の担当医師について確認を行なった。

5. 死因・次世代調査

ダイオキシンの生体への影響、次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。

8. 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薬の臨床試験を施行する。

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。

10. 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、油症ニュース、あるいは書面で公表し、油症対策委員会で患者代表者に説明を行う。

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 PCB、PCQ やダイオキシン類の生体内動態を把握するために、血中濃度分析を行う。患者の症状、検査結果にいかに寄与しているかについても分析、検討する。

3. 九州大学大学院医学研究院附属総合コホートセンターが一般住民対象に行う環境調査に協力し、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. 各疾患バイオマーカー値の測定および保存血清バンクの充実

基礎研究・臨床研究の結果に基づいて、油症の疾患活動性に相關する有用なバイオマーカーとなりうるかを評価するため、保存血清を保存する。

5. 油症の継世代に及ぼす影響に関する検討を行うため、コホートの作成に取り掛かる。

6. PCB やダイオキシン類の体内動態を明らかにする。

7. 基礎的研究を行い、PCB やダイオキシン類の慢性毒性の機序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

I. 油症患者の支援と治療研究の推進

1. 油症相談員・相談支援員制度

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、様々な相談を受けるために、2002 年に患者の集中する福岡県、長崎県、広島県で油症相談員事業を開始した。2016 年には、相談支援員制度を施行した。定期的に研修会を開催し、情報共有に努めている。

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

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。

4. ダイオキシン毒性を軽減するための食事・運動・漢方セミナーや講演会の実施

漢方セミナー(漢方薬による治療について)の動画を油症ダイオキシン研究診療センターの HP に公開している。

5. 油症対策委員会

厚生労働省、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。加えて油症次世代の健康状況の調査の中間報告を行なった。以下に具体的な内容を記す。次世代の歯の症状と親のダイオキシン類の血中濃度、喫煙歴の関係性について検討した。喫煙歴と歯肉腫れ・出血あり、歯茎が黒いという症状の間には、統計学的な相関が認められた一方で、親の PCDF 血中濃度が 50 pg/g lipids 未満と 50 pg/g lipids 以上で次世代の方々の歯の症状を比較したところ、統計学的な差はみられなかった。先天性異常：口唇・口蓋裂について、3 名の申告があった方へ内容の調査を進めている。心室中隔欠損症については次世代に明確な傾向は認めなかった。最後に、歯牙異常や婦人科関連症状を加えた今後の調査計画・方法について検討を行なった。

6. 油症患者の死因に関する研究

油症認定患者の生存情報および死亡情報をアップデートし、死亡リスクの再評価を行うことを目的として、油症認定患者を対

象とした追跡調査を実施した。

7. 油症検診データを用いた基礎的解析
全国油症一斉検診受診者の傾向把握のため、2023 年度に実施された検診の検診票を収集し電子化するとともに集計を行った。検診受診者数は 594 人(認定及び同居家族認定 413 人、未認定 181 人)だった。2023 年度は、受診者数及び検診種別ごとの受診状況は、新型コロナウイルス感染症対策のために検診の規模を縮小する以前の 2019 年度と同程度だった。

8. 油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル異性体分析におけるナロー ボアカラムの検討

油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)の分析は電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ (GC-ECD) を用いて行っている。令和 5 年 8 月に、油症研究班のご厚意により、PCQ 測定用 GC-ECD 装置の更新を行った。PCQ は一般健常人の血液中にほとんど検出されず、油症患者の血液中に検出され、油症検診では検出下限値として 0.02ppb を達成することが必要である。今回、通常用いるカラムより径の細いナロー ボアカラムを用いて、PCQ 異性体の分離および測定感度の改善に関して検討を行った。その結果、注入口圧力が高くなり、試料導入が効率的に行われていないので、PCQ 異性体の分離および感度面において、従来法よりも高精度および高感度な分析法を確立するまでに至らなかった。

II. 臨床的追跡調査・疫学研究

1. 油症検診の追跡調査

1) 油症患者の追跡調査

油症患者の長期死亡リスクについて再評価を行うことを目的として、追跡調査を 55 年間に延長し、油症患者の生存・死亡情報をアップデートした。その結果、追跡対象者 1,664 名のうち、2024 年 12 月 31 日時点で生存の確認ができた者が 793 名(47.7%)、死亡の確認ができた者が 777 名(46.7%)、生死の確認ができていない者が

94 名(5.6%)であった。

2) 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

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。2023 年度に測定を行った認定患者 184 名と未認定者 180 名について結果集計を行った。認定患者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は平均 37 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) 濃度は平均 27 pg TEQ/g-fat であった。未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は平均 5.4 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 9.3 pg TEQ/g-fat であった。

血液中ダイオキシン類の微量分析技術を用い 2023 年度に実施した血液中 PCB 分析精度管理について、データ解析を行った。その結果、当所を含む国内 5 機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中 PCB の定量分析が適切に実施されていることが分かった。

油症患者において特徴的に低い割合となる 2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB118) について、これまでの研究の結果、ヒトチトクローム (CYP) 2A6 を介した未同定の代謝産物が確認された。そこで、in vitro 試験による再試験と実験操作の改良を試みた。その結果、in vitro 代謝試験では同じ代謝物の生成を示すピークが検出され、再現性を確認した。また、前回実施した ¹³C ラベル 3~6 塩素化物の水酸化 PCB 異性体の平均回収率は 38、37、34、34% であったが、実験操作の改良により平均回収率は 99、69、75、75% に改善した。現在、2024 年度の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の測定対象者(241 名)について測定及び解析作業を継続している。

2. 油症検診における眼病変の追跡調査

令和 6 年度油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査した。

3. 油症検診受診者における角膜上皮障害
角膜上皮細胞は角膜の表面を健常に保つために重要である。今回油症認定患者の角膜上皮状態と、血中の PeCDF 濃度との関連を調査した。

4. 症患者における口腔粘膜色素沈着と口腔乾燥の経年変化について

令和 6 年度の長崎県油症検診において歯科検診を受診した患者を対象に口腔乾燥症に関する検討を行った。対象者 130 名中 47 名に口腔乾燥感を訴える患者がみられた。理学的所見による口腔乾燥が認められた者は 27 名で、口腔乾燥感を訴えかつ所見として口腔乾燥が認められた者は 12 名であった。舌苔については 82 名に認められたが、口腔乾燥所見と一致していた者は 10 名であった。口腔粘膜色素沈着は高い発生率であったが、口腔乾燥症との関連性は認められなかった。

5. 油症における抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討

2024 年度福岡県油症一斉検診の受診者 194 例において抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定した。抗ミトコンドリア抗体は同居家族を含む油症患者の 3 例 (2.1%) のみに認め、対照者に認めなかった。抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体は対照者と油症患者の間に出現率に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の血中 PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の PCB 高濃度群の比較では、抗ミトコンドリア抗体は血中 PCB 低濃度群の 0.7% に比べ PCB 高濃度群では 4.1% と高い傾向を認めたが、差をみなかった。抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 低濃度群の 7.6%、PCB 高濃度群の 6.1% に認め両群間に差をみなかった。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度群の 6.1% と PCB 低濃度群の 3.4% に比べ高い傾向を認めたが、差をみなかった。

6. 油症患者における皮膚ガス分析の検証

油症患者の皮膚表面から採取した多彩な揮発性ガスを網羅的に分析し、油症の病態理解とダイオキシンの影響について非侵襲的に検討を行ってきた。昨年度は機械学習を用いたデータ解析と血中ダイオキシン濃度との関連を解析した結果、油症との関連が考えられるいくつかの成分を抽出した。今年度は被験者数を拡充して調査した結果、昨年に引き続き通常では検出されない成分を検出した。

7. カネミ油症患者における脳・精神・神経・自律神経の病気・症状の現状把握と考察

カネミ油症患者を対象に施行された令和 3 年度健康実態調査で、本調査に回答するのは初めてと回答した 14 人を対象に、脳・精神・神経・自律神経の病気・症状の割合を確認したところ、「頭痛」「神経痛」「物忘れ」と回答した患者が共に 3 件 (21.4%) で、自律神経系の病気・症状については「過敏性腸症候群」と回答した患者が 2 件 (14.3%) で確認された。これらの疾病・症候が、カネミ油症患者を対象とした研究の対象として重要であることを再認識するに至った。

8. カネミ油症患者への漢方治療の有用性に関する情報発信に関する研究

カネミ油症患者への漢方治療の有用性に関する情報発信として油症外来におけるオンラインによる漢方専門家の診療参加の取り組みや動画配信による漢方に関する情報発信を行った。五島中央病院油症外来では現地での診療陪席ならびにオンラインでの参加を交互に 4 回行うことによって油症外来の担当医師の漢方医学的な診察能力の向上ならびに漢方医学的な所見をもとに油症患者に漢方処方することができるようになった。またカネミ油症患者の疑問や処方されている人数の多い処

方に関する動画を5編作成し、配信した。その動画に対するフィードバックを参考にしながら、油症患者のためになる漢方薬の情報発信を継続していきたい。

9. 油症暴露による継世代健康影響に関する研究 -油症2世、3世における婦人科関連症状-

カネミ油症発生後に油症患者より出生した児(油症2世)および油症3世の婦人科関連症状の検討を行った。油症発生2年後の1970年の検討では月経不順が58%(47例/81例)、2005年に福岡県および長崎県油症患者を対象としたアンケート調査で油症暴露前後における月経異常に關する調査では月経不順は23%(70例/305例)であり、長期フォローアップにより月経不順の頻度は減少していた。今回は対象を油症2世および油症3世とし、調査票の結果より初経年齢、閉経年齢、月経不順および多嚢胞性卵巣症候群について調査した。その結果、初経年齢は12才(9-19才)、自然閉経年齢は50才(48-53才)、月経不順は23.4%、多嚢胞性卵巣症候群は6.5%であった。閉経年齢、月経不順、多嚢胞性卵巣症候群は報告とほとんど変わりなかった。今後、他の婦人科疾患も含めたさらなる検討が必要であると考える。

III. 基礎的研究

1. 気道上皮細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) の役割の検討

ヒト気道上皮細胞において、基底細胞、特に基底膜側の最下層に位置する基底細胞で Signal regulatory protein alpha (SIRP α) が発現していた。基底細胞の SIRP α 発現をノックダウンすると、EGFR シグナルの下流シグナルを変化させた。基底細胞において、SIRP α はシグナル伝達に關与することが明らかになり、このシグナルをターゲットとした、油症気道損傷に対する新たな治療戦略の可能性が示唆された。

2. 慢性ベンゾピレン中毒ラットに対する

芍薬甘草湯の効果検討

本研究では、ベンゾピレンを投与ラットに対する芍薬甘草湯の効果と、それに伴う神経系の変化を行動学的および分子生物学的手法を用いて検討した。その結果、コーンオイル投与群 (Corn-DW) に対し、ベンゾピレン投与群 (Ben-DW) で感覚閾値の有意な上昇が認められた。その上昇はベンゾピレン投与後に芍薬甘草湯を投与したラット群において抑制された。ベンゾピレンおよび芍薬甘草湯投与による感覚閾値の変化と神経内の変化との関連を検討するため、坐骨神経を取り出し、CYP1A1 および MAG タンパク質の発現を測定した。AHR の標的遺伝子である CYP1A1 について、Ben-DW 群では Corn-DW 群と比較して CYP1A1 タンパク質の有意な発現増加が認められたが、芍薬甘草湯投与群ではその発現増加の抑制が見られた。一方、MAG タンパク質の発現に関しては Ben-DW 群で低下が認められた。しかし、芍薬甘草湯投与群では MAG タンパク質の発現低下の抑制傾向が見られたが、有意差は認められなかった。さらに、酸化ストレスに関する検討では、Ben-DW 群で酸化ストレス度の上昇が認められたが、芍薬甘草湯投与群ではその上昇の抑制が認められた。以上の結果から、ベンゾピレン投与は AHR を介して末梢神経に障害や炎症を引き起こし、それが感覚閾値の変化につながる可能性が示唆された。しかし、この影響は、芍薬甘草湯の抗炎症および抗酸化作用により抑制され、神経損傷からの保護により感覚異常の改善に寄与した可能性が示唆された。

3. PDE4 阻害と AhR シグナルのクロストークによる皮膚免疫の制御

PDE4阻害薬であるジファミラストは、AhR の核内移行を誘導した。しかし、ジファミラストによって核内移行したAhRにはARNTが結合していないことが免疫沈降法によって、明らかとなった。さらに、ジファミラストはAhRシグナルの活性化を示すCYP1A1の発現誘導を抑制した。これらのことから、PDE4阻害薬はAhRシグナルを抑制

し、油症患者の症状緩和に有用である可能性が示唆された。

4. 膠原病の皮疹形成機序におけるAHRの役割に関する研究

膠原病様ケラチノサイトモデルに対するAHRリガンドの抗炎症作用とその機序を解明した。

5. 2, 4, 6-三塩素置換型PCB140のラットにおけるin vivo代謝

246型PCBの1つである2, 3, 4, 2', 4', 6'-hexachlorobiphenyl (PCB140)のin vivo代謝、すなわち吸収、代謝および排泄(糞中および尿中代謝物)について調べた。まず、PCB140をラットに経口投与後、0~2日目の糞中から、未変化体が投与量の約5%が検出された(恐らく未吸収分)。この結果から、投与量の95%は小腸から吸収されたものと推定された。また、ラット肝ミクロソームを用いたin vitro代謝と同様に、代謝物としてM1(3'-OH体)が糞中から検出された。M1は投与後1日目に最も多く、PCB140投与量の2.1%に相当する量が、2日目には0.6%に相当する量が排泄されていた。一方、PCB140投与後1日目の尿中には、M1をはじめ代謝物は全く検出されなかつた。なお、投与後4日目の血中を調べたところ、ごく微量の未変化体が検出された。以上の結果から、PCB140の代謝物は肝から胆汁を介して糞中へ排泄されること、また、245型PCBで高残留性のPCB138よりは、はるかに代謝されやすいと予測されたPCB140であるが、実際には、生体内に吸収されても、一般の医薬品と異なり、代謝から排泄されるまでにかなりの時間を要することが明らかになった。

6. 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxinによる出生児の性未成熟の機構解析:脳の性分化と生殖腺の発達に対する芳香族炭化水素受容体の寄与

思春期芳香族炭化水素受容体(AHR)欠損ラットにおいて精巣成長関連因子の発現に変動が見られたことから、本年度はAHR

欠損ラットの胎児期の精巣におけるそれら種々の因子についての解析を行った。解析の際、野生型とAHR欠損型の比較を行うだけでなく、妊娠母体にgestational day (GD) 15で1 µg/kgの2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)を経口投与し、GD20でサンプリングを行うことでダイオキシンによる次世代毒性についても検討を行った。その結果、AHR欠損により精巣や精子の形成に関わる因子であるFGF(fibroblast growth factor)およびその受容体であるFGFR(FGF receptor)に関して、思春期ではFGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3はmRNA発現量が増加、FGF9はmRNA発現量が減少していた(R5年度報告)。一方、胎児期においては、FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3はmRNA発現量が減少、FGF9はmRNA発現量が増加と逆向きの変動が起こっていることが明らかとなつた。また、胎児期のFGF類の発現量に関してはTCDDによる変動は見られなかつた。加えて、コレステロールのミトコンドリアへの輸送に関与するsteroidogenic acute regulatory protein (StAR)やテストステロン合成酵素についても胎児精巣で解析を行ったところ、StARや3β-hydroxysteroid dehydrogenase (3β-HSD)にはTCDDにより有意ではないものの抑制傾向があつた。StARはAHR欠損により野生型の発現レベルより低下する傾向がありTCDD依存性の変動はなくなつた。3β-HSDについては、AHR欠損の影響は明確ではなかつた。野生型において胎児精巣17β-HSD、CYP11A1、CYP17は、TCDDにより有意にmRNAレベルが低下した。また、AHR欠損により、TCDDによる抑制作用が認められなくなつた。従つて、17β-HSD、CYP11A1、CYP17は、AHR依存的な変動をしていることが明らかとなつた。胎児期のテストステロン合成酵素の発現低下にはAHRが関与し、これがTCDD母体曝露による胎児期のテストステロン低下、出生後の性未成熟に関与することが示唆された。

7. ダイオキシン誘導性セレン結合性タン

パク質1 (SELENBP1) : ヒト由来細胞を用いた検討

ヒト乳がん由来細胞 T47D 細胞を用いた場合、AHR リガンドの 3-MC および β -naphthoflavone によりヒト SELENBP1 (hSELENBP1) タンパク質が有意に誘導された。さらに、AHR 拮抗薬である α -naphthoflavone と 3-MC を併用しても、hSELENBP1 に対する誘導作用を抑制することはできなかった。SeBP1-KO マウス腎臓では、Ppara 発現レベルが低下した。hSELENBP1 の発現が低い HepG2 細胞を用い、hSELENBP1 のトランスフェクションにより、SeBP 欠損マウス腎臓と逆方向の影響が観察された。すなわち、SELENBP1 は PPAR α を正に調節することが確認された。SELENBP1 の Se との結合に関与すると推定される位置のアミノ酸 Cys を Ala に置換した変異体および、さらに機能不全が示唆されている複数の変異体を導入することを通して、PPAR α への影響を調べたところ、変異体と野生型は同様に PPAR α を誘導した。SELENBP1 には脂質代謝を制御する PPAR α を正に調節する生理的役割があることが示唆されている。このようにダイオキシン誘導性 SELENBP1 の新規機能が明らかになりつつある。

8. 抗酸化作用を有するポリアミンが消化管上皮の細胞死に与える影響

油症の病態としてダイオキシン類による酸化ストレスの亢進が指摘されている。酸化ストレスはフェロトーシスを含む様々な細胞死にかかる。油症の機序として知られる芳香族炭化水素受容体のシグナルがフェロトーシスにかかるか探索するためにメタボローム解析を行った。グルタチオンの代謝は最も変化が大きくまたフェロトーシスの誘導とリガンド刺激で反対の方向に変化するため、芳香族炭化水素受容体のシグナルはフェロトーシスを抑制していることが示された。油症の病態にフェロトーシスが関与する可能性がある。

9. ダイオキシン類への曝露が口腔内組織の老化に及ぼす影響について

Benzo(a)pyrene により、ヒト歯根膜細胞の炎症関連遺伝子および老化関連遺伝子が変動する（老化では特に CDKN1A）ことが明らかになった。

10. AhR シグナルの活性化による Tenascin-C の発現抑制がヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化に及ぼす影響について

AhR シグナルの活性化による Tenascin-C の発現抑制はヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化を抑制する。

11. 芳香族炭化水素受容体を介した骨代謝制御機構に関する研究

AhR は骨代謝を制御する破骨細胞と骨芽細胞の分化に従い発現が増加し、ベンゾピレンはこれらの分化を阻害する。

12. ヒト末梢感覚神経における AHR シグナルを介した皮膚炎の制御機構の解明

ヒト末梢感覚神経細胞を Tapinarof で刺激したところ、Nrf2 といくつかの共通点を持つ転写因子 NFE2 が誘導された。この転写因子は神経細胞における役割はまだあまりよくわかつておらず、神経における AHR シグナルの働きを解明する上で新たな標的となりうる可能性がある。

D. 結論

環境汚染物質であるダイオキシン類が環境、生物に与える影響は国内外で検証されている。油症は住民が高濃度の PCB/ダイオキシン類を経口摂取した世界的にも稀有な事件である。生体内で代謝されにくく、生体内に長期間残存するダイオキシン類がヒトに及ぼす慢性影響を検証した疫学研究は油症研究の他にない。

油症班では、血液中にごく微量に存在するダイオキシン類各異性体濃度を精確かつ再現性をもって分析している。今年度、血液中ダイオキシン類濃度と臨床所見との関連解析および定量分析技術の精度の

向上が報告された。全国油症一斉検診受診者における PCDF 等の測定では、認定患者と未認定者間で明確な濃度差が確認され、病態との関連を裏付ける重要なデータが得られた。また、国内 5 機関での血中 PCB 測定値の一致が確認され、分析体制の信頼性が向上した。さらに、油症患者の角膜上皮障害や口腔乾燥、婦人科疾患、神経症状の追跡調査により、油症の長期影響に関する知見が蓄積された。これらの成果は、今後の予防・診断・介入の基盤となるものである。

油症の病態解明に向けた基礎研究では、AHR（芳香族炭化水素受容体）を中心とするシグナルの多様な影響が明らかになった。気道上皮では SIRP α が EGFR シグナルと連動し、炎症制御の新たな標的となり得ることが示唆された。芍薬甘草湯はベンゾピレン誘発の末梢神経障害を CYP1A1 発現や酸化ストレスの抑制を通じて改善した。PDE4 阻害薬や Tenascin-C 制御、SELENBP1 と PPAR α の関係など、AhR シグナルとのクロストークに関する知見も得られた。さらに、TCDD 曝露が胎児精巣の性分化やテストステロン合成を AHR 依存的に抑制すること、フェロトーシスとの関連や骨・歯周組織の老化・分化への影響も示され、油症による多様な慢性影響の分子機構が着実に解明されつつある。

このダイオキシン類による継世代にわたる健康状況の解析と基礎的研究は、人類のダイオキシン類の影響を解明するために非常に重要であり、この研究によって、患者のみならず人類にとって有益な知見が得られると期待される。

E. 健康危険情報

なし。

F. 謝辞

本研究を進めるにあたって尽力頂いた研究分担者・協力者の先生方に厚く御礼を申し上げます。

分担研究報告書

油症患者の追跡調査

研究分担者 小野塚 大介 大阪大学大学院医学系研究科罹患後症状治療学 特任准教授
研究協力者 中村 優子 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 看護師
辻 学 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授
中原 剛士 九州大学大学院医学研究院皮膚科学 教授

研究要旨 油症患者の長期死亡リスクについて再評価を行うことを目的として、追跡調査を 55 年間に延長し、油症患者の生存・死亡情報をアップデートした。その結果、追跡対象者 1,664 名のうち、2024 年 12 月 31 日時点で生存の確認ができた者が 793 名 (47.7%)、死亡の確認ができた者が 777 名 (46.7%)、生死の確認ができない者が 94 名 (5.6%) であった。

A. 研究目的

我々はこれまで、油症患者を対象とした追跡調査を実施してきた。40 年間の追跡調査の結果、男性の油症患者では全がん、肺がん、肝がんの死亡リスクが一般人より高いことを明らかにした (Onozuka et al., Am J Epidemiol, 2009)。また、50 年間の追跡期間の結果、男性の油症患者では全がんと肺がんの死亡率が一般人より高いこと、女性の油症患者では、肝がんの死亡率が一般人より高いことを明らかにした (Onozuka et al., Environ Health, 2020)。さらに、がんの 50 年間累積死亡率を検証した結果、男性油症患者では 16.8% (95% CI: 14.5-19.5)、女性油症患者では 8.8% (95% CI: 7.0-10.9) であることを明らかにした (Onozuka et al., Environ Int, 2021)。今後、追跡期間をさらに延長し、油症患者における長期死亡リスクの検証を進めていく必要がある。

そこで本研究は、追跡期間を 55 年間に延長するとともに、油症患者における死亡リスクを再評価することを目的として実施した。

B. 研究方法

前回実施した 50 年間追跡調査の対象となった油症患者 1,664 名について、行政機関、油症センター、油症相談員等の関係者にご協力いただき、生存・死亡情報のアップデートを行った。

また、死亡患者における死因の特定については、油症患者の名簿記録と人口動態調査（基幹統計調査）の死亡票との照合を行う必要があることから、厚生労働省に対して新たに死亡票の使用申請を行った。

なお、死亡票の使用については、これまで厚生労働省から承認を得て実施したものである（平成 20 年 2 月 22 日付け厚生労働省発政統第 0222001 号、平成 20 年 12 月 24 日付け厚生労働省発政統第 1224001 号、令和 2 年 3 月 9 日付け厚生労働省発政統 0309 第 3 号、令和 2 年 12 月 9 日付け厚生労働省発政統 1209 第 2 号）。

（倫理面への配慮）

本研究は、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会及び九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会「カネミ油症の実態調査」（許可番号：30-384、2020-212、2023-24）の審査を経て実施した。

C. 研究結果

人口動態調査（基幹統計調査）の死亡票の使用については、厚生労働省政策統括官付参事官付審査解析室に申請を行い、新たに承認を得た（令和6年7月22日付け厚生労働省発政統0722第6号、令和6年10月16日付け厚生労働省発政統1016第4号）。

また、油症患者追跡調査の対象である1,664名の生存・死亡情報をアップデートした結果、2024年12月31日時点で生存の確認ができた者が793名（47.7%）、死亡の確認ができた者が777名（46.7%）、生死の確認ができない者が94名（5.6%）であった。

ただし、これらの情報のすべてが、住民票抄本等の公文書によって確認できたものではないことから、暫定的な結果であることに注意する必要がある。

D. 考察

今回、行政機関、油症センター、油症相談員等の関係者にご協力いただき、油症認定患者の追跡情報をアップデートすることができた。しかし、生死の確認ができなかつた者が残されていることから、今後も関係者への情報収集や公的情報をもとにした生存確認を継続する予定である。

また、死者の死因特定に必要な人口動態調査（基幹統計調査）の死亡票の使用については、厚生労働省審査解析室から新たに承認を得ることができた。今後、死因が特定されていなかつた死亡患者について、死亡票と照合させることで死因の特定を行うとともに、55年間追跡調査による長期死亡リスクの解析を行っていく予定である。

E. 結論

油症患者の追跡調査を55年間に延長し、油症認定患者の生存・死亡情報をアップデートした。その結果、追跡対象者1,664

名のうち、2024年12月31日時点で生存の確認ができた者が793名（47.7%）、死亡の確認ができた者が777名（46.7%）、生死の確認ができない者が94名（5.6%）であった。

なお、追跡調査は継続中であり、あくまでも暫定的な結果であることから、今後も公的情報等による追跡調査を継続するとともに、主要死因別における長期死亡リスクの再評価を進めていく予定である。

（謝辞）

本研究の実施にあたり、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターの井上豊子氏、渡辺直子氏、九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野の梶嶋啓子氏、油症相談員の只熊幸代氏、山根美喜子氏、相談支援員統括の山本直子氏に多大なるご協力をいただきましたことを深く感謝いたします。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

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	白石 博昭	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
	飛石 和大	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	中村 麻子	福岡県保健環境研究所	生活化学課 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
	酒谷 圭一	福岡県保健環境研究所	生活化学課 研究員
	重富 敬太	福岡県保健環境研究所	生活化学課 主任技師
	工藤 愛透翔	福岡県保健環境研究所	生活化学課 技師
	平川 周作	福岡県保健環境研究所	水質課 研究員
	佐藤 環	福岡県保健環境研究所	計測技術課 研究員
	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	課長
	広瀬 勇気	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	宮脇 崇	北九州市立大学エネルギー循環化学科	准教授

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。2023 年度に測定を行った認定患者 184 名と未認定者 180 名について結果集計を行った。認定患者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は平均 37 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) 濃度は平均 27 pg TEQ/g-fat であった。未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は平均 5.4 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 9.3 pg TEQ/g-fat であった。

血液中ダイオキシン類の微量分析技術を用い 2023 年度に実施した血液中 PCB 分析精度管理について、データ解析を行った。その結果、当所を含む国内 5 機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中 PCB の定量分析が適切に実施されていることが分かった。

油症患者において特徴的に低い割合となる 2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB118) について、これまでの研究の結果、ヒトチトクローム (CYP) 2A6 を介した未同定の代謝産物が確認された。そこで、*in vitro* 試験による再試験と実験操作の改良を試みた。その結果、*in vitro* 代謝試験では同じ代謝物の生成を示すピークが検出され、再現性を確認した。また、前回実施した ¹³C ラベル 3~6 塩素化物の水酸化 PCB 異性体の平均回収率は 38、37、34、34% であったが、実験操作の改良により平均回収率は 99、69、75、75% に改善した。

現在、2024 年度の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の測定対象者 (241 名) について測定及び解析作業を継続している。

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、2024 年末現在の認定患者数は 2, 380 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血液中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体外排泄速度の解析等に活用されている。

本年度は、2023 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を測定した 364 名について結果集計を行った。

また、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付し、各機関の定量結果を比較する精度管理を行った。さらに、これまでに実施した *in vitro* 代謝試験において、2, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB118) とヒトチトクローム (CYP) 2A6 を反応させ、生成する水酸化 PCB を分析した結果、未同定の代謝産物が確認されている。そこで、代謝反応の再現性を確認するとともに実験操作の改良による ¹³C ラベルした水酸化体 PCB 異性体の回収率の向上を試みた。

B. 研究方法

1. 血液中 PCB 濃度分析の精度管理

国内の分析機関 (4 か所) に 2 種類の血液試料 (Sample 1 及び 2) を配付し、PCB 異性体の定量分析を依頼した。分析は各機関で通常行っている試験法に従って実施された。各機関からの報告値は全血重量あたりの PCB 異性体別濃度とした。

各機関の報告値に福岡県保健環境研究所の測定値を加えた 5 機関分のデータを集計して解析した。全体解析では各 PCB 異性体の全血重量あたりの濃度を用い、ピーク分離不可として報告された異性体があった場合は、一律に未分離扱いとし、該当する異性体の濃度を合算した。定量下限未満の異性体濃度はゼロとし、血液中 PCB 濃度の総和 (Total PCB) 及び同族体ごとの濃度を集計した。各分析機関の比較には CV 値および Z スコアを用いた。

2. 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に準じて行った。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ながら現在に至っている。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ているか確認した。

2023 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 184 名及び未認定者 180 名から得られた血液を対象に測定

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°C以下で冷蔵保存された。

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 2023 年の検診受診時のものを用いた。

3. ヒト CYP2A6 組換え酵素を用いた PCB118 の *in vitro* 代謝反応の再現性確認

ヒト CYP2A6 組換え酵素 (Human CYP2A6 + P450 Reductase + Cytochrome b5, CORNING) 及び PCB118 (AccuStandard Inc.) を用いて、*in vitro* 系で代謝試験を 3 連で実施し、生成した水酸化 PCB を HRGC/HRMS で分析した。*In vitro* 代謝試験では緩衝液の条件によって代謝活性が異なることが報告されている。そこで、以前の試験で使用した Tris-HCl バッファー (pH 7.5) をリン酸バッファー (pH 7.4) とし、NADPH Regenerating System Solution A and B (CORNING) を RapidStart™ NADPH regenerating system (Sekisui XenoTech) として代謝反応溶液の条件を変えて実施した。なお、NADPH regenerating system を加えない陰性対照も同時に行った。

また、水酸化 PCB 測定の前処理操作の改良による回収率の改善を目的として、液液分配における静置時間の確保、窒素濃縮からロータリーエバポレーター減圧濃縮への一部変更とヘキサン転溶、活性シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける流出溶液の全回収を試みた。これらの代謝試験及び水酸化 PCB の測定は、愛媛大学沿岸環境科学研究センター共同利用・共同研究拠点

「化学汚染・沿岸環境研究拠点」で実施した。

(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（許可番号 R 第 3-7 及び-8 号、2021 年 10 月 1 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. 微量測定技術の確立

油症診断及び検診において PCB パターン判定に使用される 3 異性体 (PCB118, 153 及び 156) について、GC-MS/MS による機器分析法について検討した。測定条件を表 1 に、標準品のクロマトグラムを図 1 に示す。

1-2. 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 は約 10% で再現性は良好であった。

1-3. 外部精度管理

5 機関 (A~E) の血液中 PCB 濃度の分析結果 (全血重量あたり) を表 2 に示した。PCB 低塩素化体 (塩素化数 1~3) を測定対象と

していない機関、またこれらの同族体濃度を定量下限値未満で報告した機関もあったが、4~10 塩素化物は全ての分析機関が実測値を報告した。

配付した血液試料の Total PCBs 濃度の 5 機関平均値は、Sample 1 が 300 pg/g-wet (範囲：280~310 pg/g-wet)、Sample 2 が 600 pg/g-wet (範囲：580~630 pg/g-wet) であり、機関間の CV はそれぞれ 4.6 及び 3.3 % であった。Sample 1 及び 2 の Total PCBs 濃度の X₇ 管理図を図 2 に示した。配付した 2 試料ともに Z = ±2 を超えた機関はなく、良好な結果であった。

主要な同族体 (TeCBs-0cCBs) 濃度の CV は、Sample 1、2 ともに TeCBs 及び 0cCBs で大きくなる傾向が認められた。Total PCBs 濃度に占める割合が高かった HxCBs 及び HpCBs では、ばらつきは小さかった (表 2)。

2. 2023 年度油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度

2023 年度の血液中ダイオキシン類測定対象者は 364 名 (内訳：認定患者 184 名及び未認定者 180 名) であった。2022 年度の 436 名と比べると 72 名の減少となったが、過去 22 年間の測定数と比較して高い水準となっていた。この背景としては、2021 年から始まった次世代調査の対象者 (119 名) が未認定者として受診しており、測定件数を押し上げたと考えられる。

表 3 に 2023 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 (184 名) の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は平均で 37 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濃度 (Total TEQ) は平均 27 pg TEQ/g-fat であった。未認定者 180 名の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 5.4 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 9.3 pg TEQ/g-fat であった。未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 平均濃度を対照群の一般住民 (2005 年)¹⁾ と比較すると、同等か低い濃度であった。

図 3 は未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の階層別人数の分布を示した。未認定者の多くは一般人と同等の 20 pg TEQ/g-fat 未満に分布し、油症診断基準で「高い濃度」の区分とされる 50 pg/g-fat 以上の受診者はなかった。未認定者 180 名の採血時年齢に対する血中濃度の分布をみると、濃度は年齢に対して指數関数的に増大する傾向を示し、一般人と同様に日常的な食事経由の摂取に伴う影響が顕著であった。事件後に出生した年代 (12~54 才) 122 名の中に今年度の次世代調査の対象者が含まれているが、122 名の血中濃度は 11 pg/g-fat 未満となっていた。

3. ヒト CYP2A6 による PCB118 の代謝

ヒト CYP2A6 組換え酵素と PCB118 を使用した *in vitro* 代謝試験を行い生成した水酸化 PCB 異性体について、以前の測定結果と条件変更した測定結果を図 4 に並列して示す。PCB118 は 5 塩素化物の PCB であるが、両試験条件ともに塩素が一つ脱塩した 4 塩素化体の水酸化 PCB 異性体のみ生成され、水酸化 PCB のピーク位置も同じであることが確認された。

また、以前に実施した ¹³C ラベルした 3~6 塩素化物の水酸化 PCB 異性体の平均回収率は、38、37、34、34% であったが、実験操

作の改良により平均回収率は 99、69、75、75%に改善した。

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。

2023 年度の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、認定患者 184 名と未認定者 180 名であった。認定患者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 平均濃度は 37 pg/g-fat、Total TEQ 濃度の平均は 27 pg TEQ/g-fat であった。未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 平均濃度は 5.4 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 9.3 pg TEQ/g-fat であった。未認定者の血液中ダイオキシン類濃度は一般人と同等か低く、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度で油症診断基準の「高い濃度」に区分される受診者はいなかった。2001 年度から 22 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 6830 件となった。2023 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。

これまでの研究において、PCB118 とヒト CYP2A6 組換え酵素を *in vitro* 系で反応させ検出された未同定の水酸化 PCB の生成について再現性を確認した。*In vitro* 代謝反応における緩衝液及び NADPH regenerating system の条件を変更して実施したが、同様に脱塩素化を伴う 4 塩素化物の水酸化 PCB 異性体が生成することが確認された。また、生成した水酸化 PCB を分析するための前処

理工程を改良することにより、¹³C ラベルした 3~6 塩素化物の水酸化 PCB 異性体の回収率が 34~38%から 69~99%に改善した。生成した水酸化 PCB 異性体は未同定のままであるが、本研究を通して改良した *in vitro* 代謝試験及び分析前処理工程は、ヒト体内における CYP 分子種と PCB の代謝反応を把握・解明する技術として有用と考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表
 - 1) 堀就英、中村麻子、堀内康孝、小木曾俊孝、志水信弘、令和 5 年度福岡県油症検診受診者における血液中 PCB 濃度について. 第 71 回福岡県公衆衛生学会、2024 年 5 月 14 日、福岡市.
 - 2) 新谷依子、古谷貴志、堀就英、飛石和大、香月進、辻学、血液中 PCB 濃度分析のクロスチェック (2023 年度). 第 3 回環境化学物質合同大会 (第 32 回環境化学討論会)、2024 年 7 月 2~5 日、広島市.
 - 3) 平川周作、堀就英、香月進、宮脇崇、平野将司、水川葉月、野見山桂、岩田久人、辻学、*In silico* シミュレーション及び *in vitro* 代謝試験によるヒト CYPs を介した PCBs の代謝能評価. 第 3 回環境化学物質合同大会 (第 32 回環境化学討論会)、2024 年 7 月 2~5 日、広島市.
 - 4) Tsuguhide Hori, Kazuhiro Tobiishi, Yoriko Shintani, Takashi Furutani, Takashi Todaka, Yuki Hirose, Gaku Tsuji, Concentrations of 2, 3, 4, 7, 8-pentachlorodibenzofuran in the blood of Yusho patients fifty-five years after the incident. 44th International Symposium on Halogenated Persistent

Organic Pollutants (DIOXIN 2024), 29
September - 4 October, 2024, Singapore.

5) 堀就英、福岡県油症検診受診者における
血液中 PCB 濃度の現状. 第 83 回日本公衆
衛生学会総会、2024 年 10 月 29-31 日、札
幌市.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

参考文献

- 1) Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Iida T, Furue M. Concentrations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and non-*ortho* and mono-*ortho* polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients. Chemosphere. 66, 1983-1989, 2007.

表 1 GC-MS/MS 測定条件

GC conditions	
GC	SHIMADZU Nexis GC-2030
Column	HT-8 PCB (TRAJAN, 60 m × 0.25 mm i.d.)
Injection mode and volume	Splitless (Purge time is 1 min), 1 µL
Injection port temp.	280 °C
Carrier gas	Helium gas with a purity of greater than 99.999%, 1.0 mL/min constant flow
Oven temp.	Initial temperature at 100 °C hold for 1 min → heat up to 180 °C at 20 °C/min → heat up to 260 °C at 2 °C/min → heat up to 300 °C at 5 °C/min → heat up to 320 °C at 10 °C/min → hold at 320°C for 5 min
MS conditions	
MS	SHIMADZU GCMS-TQ8050
Ionization voltage	70 eV
Ionization current	150 µA
Temperature of ion source	300 °C
Target masses and collision energies	PCB118 $m/z = 325.90 > 255.90$, 30 V $m/z = 323.90 > 253.90$, 30 V $^{13}\text{C}_{12}\text{-PCB118}$ $m/z = 337.90 > 267.90$, 25 V $m/z = 335.90 > 265.90$, 30 V
	PCB153 and PCB156 $m/z = 359.85 > 289.85$, 35 V $m/z = 357.85 > 287.85$, 25 V
	$^{13}\text{C}_{12}\text{-PCB153}$ and $^{13}\text{C}_{12}\text{-PCB156}$ $m/z = 371.90 > 301.90$, 25V $m/z = 369.90 > 299.90$, 35V

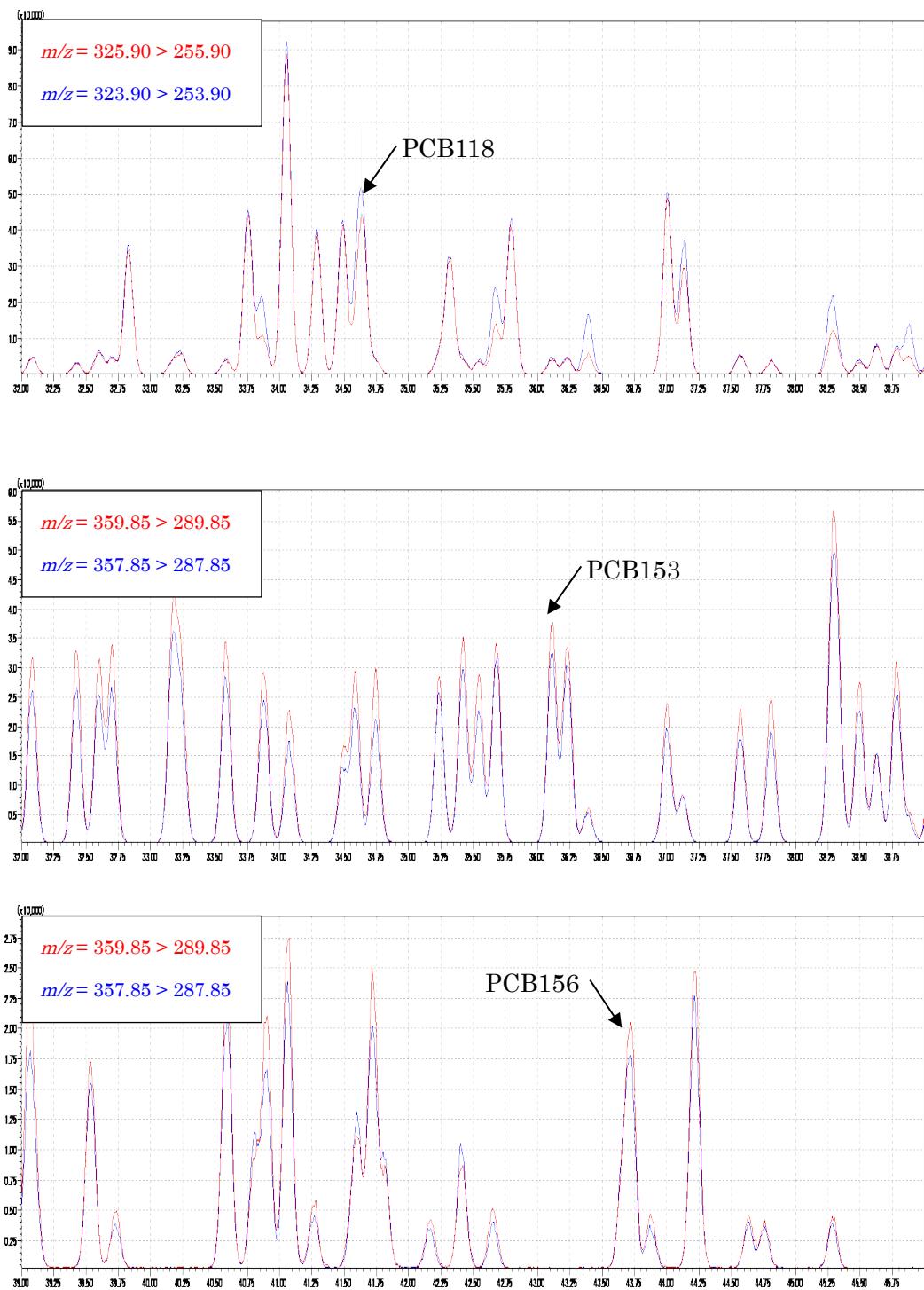


図 1 PCB 標準品 (50 ng/mL) の GC-MS/MS 測定クロマトグラム

表2 共通血液試料中のPCB測定結果 (単位: pg/g-wet)

(1) Sample 1

	分析機関					Mean	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Total MoCBs	0.063	0	—	0	—	0.021	—
Total DiCBs	1.6	0	—	2.1	—	1.2	—
Total TriCBs	3.8	0	0.90	8.4	2.1	1.7	83
Total TeCBs	5.6	4.6	6.1	6.2	8.4	6.2	23
Total PeCBs	15	15	16	15	18	16	8.1
Total HxCBs	130	130	120	110	120	120	4.7
Total HpCBs	100	120	110	120	120	120	8.1
Total OcCBs	21	33	30	26	31	28	18
Total NoCBs	2.6	2.5	2.3	2.3	2.6	2.5	6.2
DeCB	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	2.4
Total PCBs	280	310	290	290	310	300	4.6

(2) Sample 2

	分析機関					Mean	CV (%)
	A	B	C	D	E		
Total MoCBs	0.12	0	—	0	—	0.041	—
Total DiCBs	2.2	0	—	2.2	—	1.5	—
Total TriCBs	5.9	1.1	1.5	5.5	3.8	3.6	62
Total TeCBs	11	8.7	11	12	14	11	16
Total PeCBs	31	34	32	33	35	33	4.6
Total HxCBs	240	250	240	220	240	240	3.5
Total HpCBs	240	260	230	240	260	250	4.3
Total OcCBs	53	73	66	56	63	62	13
Total NoCBs	5.2	5.1	4.7	4.5	4.7	4.8	6.2
DeCB	2.1	2.0	1.8	2.0	1.9	2.0	5.2
Total PCBs	590	630	590	580	620	600	3.3

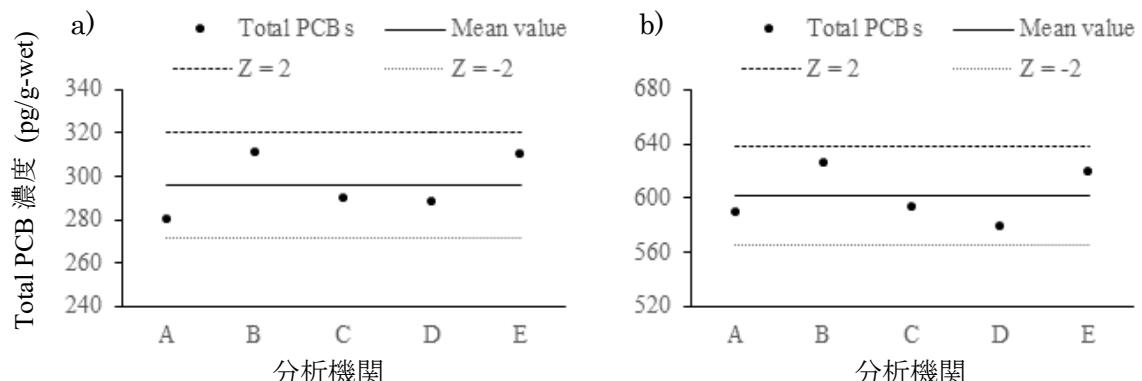


図2 機関別血液中Total PCB濃度の \bar{X} 管理図 (a:Sample 1、b:Sample 2)

表3 2023年度血液中ダイオキシン類濃度調査結果 (単位: pg/g-fat)

同族体名	認定者(184名)				未認定者(180名)				一般住民(127名) ¹⁾		
	平均	中央値	範囲		平均	中央値	範囲		平均	範囲	
			最小	最大			最小	最大		最小	最大
2,3,7,8-TeCDD	0.78	0.50	0.50	2.7	0.60	0.50	0.50	2.4	1.9	0.50	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	3.6	3.4	0.50	12	1.8	1.2	0.50	12	9.0	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.8	1.0	1.0	35	1.2	1.0	1.0	5.7	3.6	0.50	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	15	11	1.0	110	6.9	5.2	1.0	35	28	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1.7	1.0	1.0	7.8	1.3	1.0	1.0	8.0	4.5	0.50	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	11	9.5	1.0	45	12.2	9.8	1.0	87	78	18	470
OCDD	150	120	6.6	500	150	110	29	1100	1200	180	7600
2,3,7,8-TeCDF	0.9	0.50	0.50	4.9	0.61	0.50	0.50	2.6	1.0	0.50	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.59	0.50	0.50	3.6	0.58	0.50	0.50	7.9	0.67	0.50	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	37	15	1.0	450	5.4	3.5	1.0	38	17	6.0	63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	6.8	2.7	1.0	200	1.5	1.0	1.0	9.8	5.0	1.0	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	3.7	2.5	1.0	40	1.7	1.0	1.0	10	5.7	1.0	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.1	1.0	1.0	6.1	1.1	1.0	1.0	6.9	1.2	1.0	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1.0	1.0	1.0	3.8	1.1	1.0	1.0	8.2	ND	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.3	1.0	1.0	27	1.2	1.0	1.0	6.4	2.2	1.0	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	—	—	ND	—	—	—	ND	—	—	—
OCDF	ND	—	—	ND	—	—	—	2.1	2.0	18	—
3,4,4',5-TeCB(PCB81)	5.1	5.0	5.0	22	ND	—	—	—	5.6	ND	24
3,3',4,4'-TeCB(PCB77)	7.1	5.0	5.0	41	7.5	5.0	5.0	37	8.4	ND	31
3,3',4,4',5-PeCB(PCB126)	55	43	5.0	460	27	15	5.0	180	110	17	520
3,3',4,4',5,5'-HxCB(PCB169)	86	67	5.0	440	29	15	5.0	410	64	16	190
Total PCDDs	180	150	12	610	169	130	39	1200	1300	210	8200
Total PCDFs	56	28	10	570	16	13	10	67	37	15	86
Total PCDDs and PCDFs	230	186	26	910	185	150	49	1200	1300	220	8300
Total Non-ortho PCBs	150	118	20	780	69	41	20	610	190	59	740
Total Dioxins	390	340	100	1300	250	190	71	1400	1500	280	9000
Total PCDDs(TEQ)	6.4	6.0	1.3	23	3.5	2.6	1.3	17	16	5.1	35
Total PCDFs(TEQ)	13	5.3	0.64	150	2.3	1.6	0.64	13	6.6	2.3	14
Total PCDDs and PCDFs(TEQ)	19	12	2.0	150	5.7	4.1	2.0	30	22	7.4	50
Total Non-ortho PCBs(TEQ)	8.1	6.2	0.65	54	3.6	2.0	0.65	29	13	2.6	58
Total TEQ	27	20	2.6	167	9.3	6.1	2.6	58	37	12	110

(ND: 定量下限値未満)

濃度範囲		未認定者(人)
以上	未満	
35	40	2
30	35	1
25	30	1
20	25	1
15	20	9
10	15	11
5	10	33
0	5	122
人数計		180

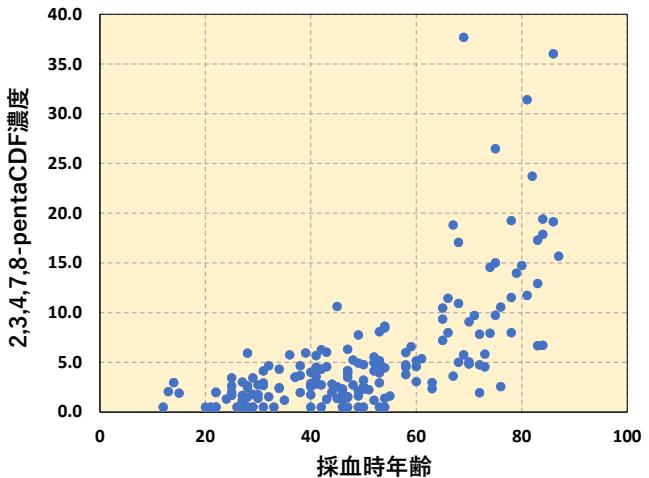


図3 未認定者(180名)の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度(単位: pg/g-fat)の分布。
左: 濃度階級別の度数分布表、右: 採血時年齢に対する濃度分布図。

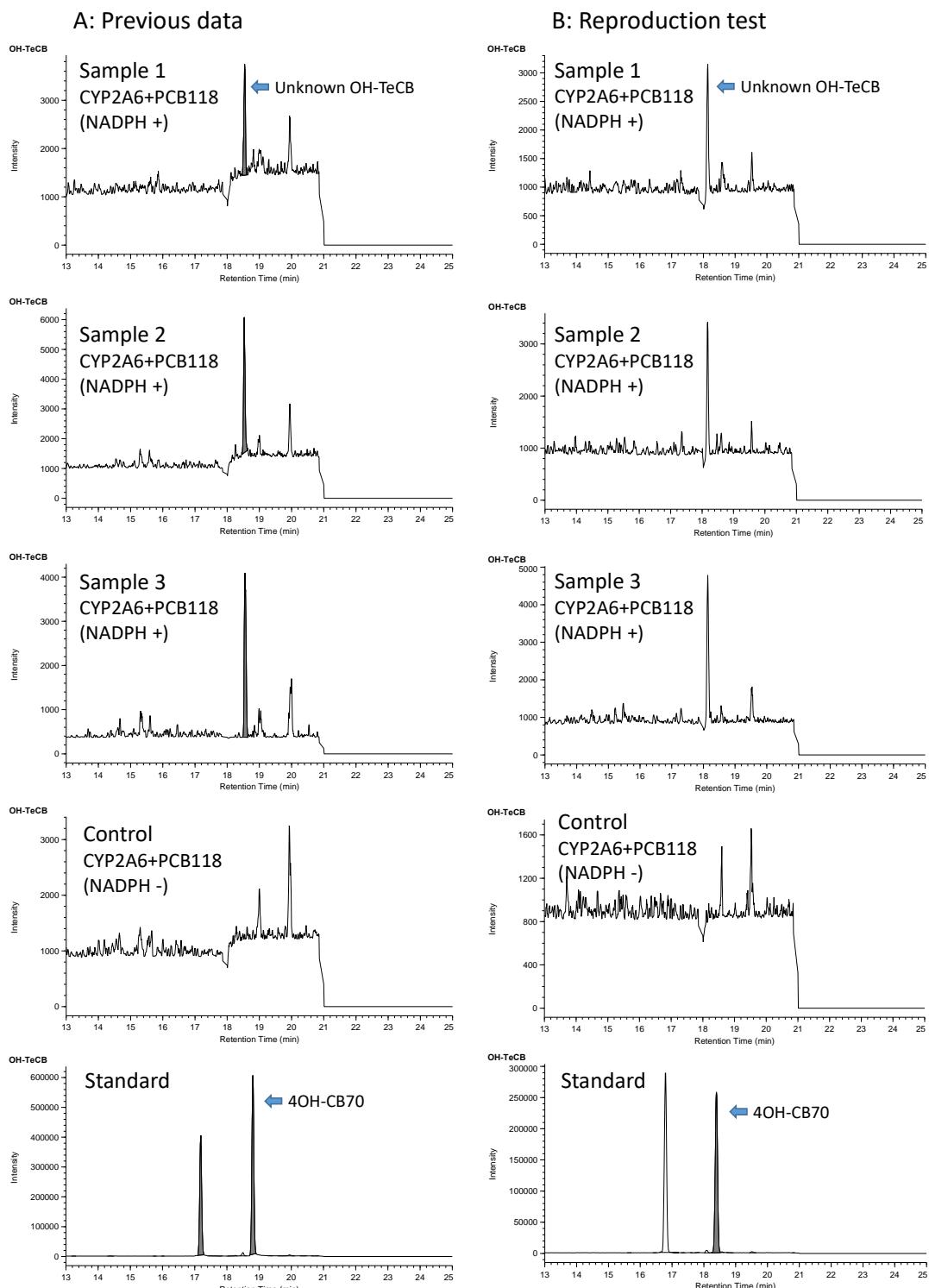


図4 ヒト CYP2A6-CB118 の *in vitro* 代謝試験において生成した 4 塩素化代謝物の HRGC/HRMS 測定クロマトグラム (A:Previous data、B:Reproduction test)

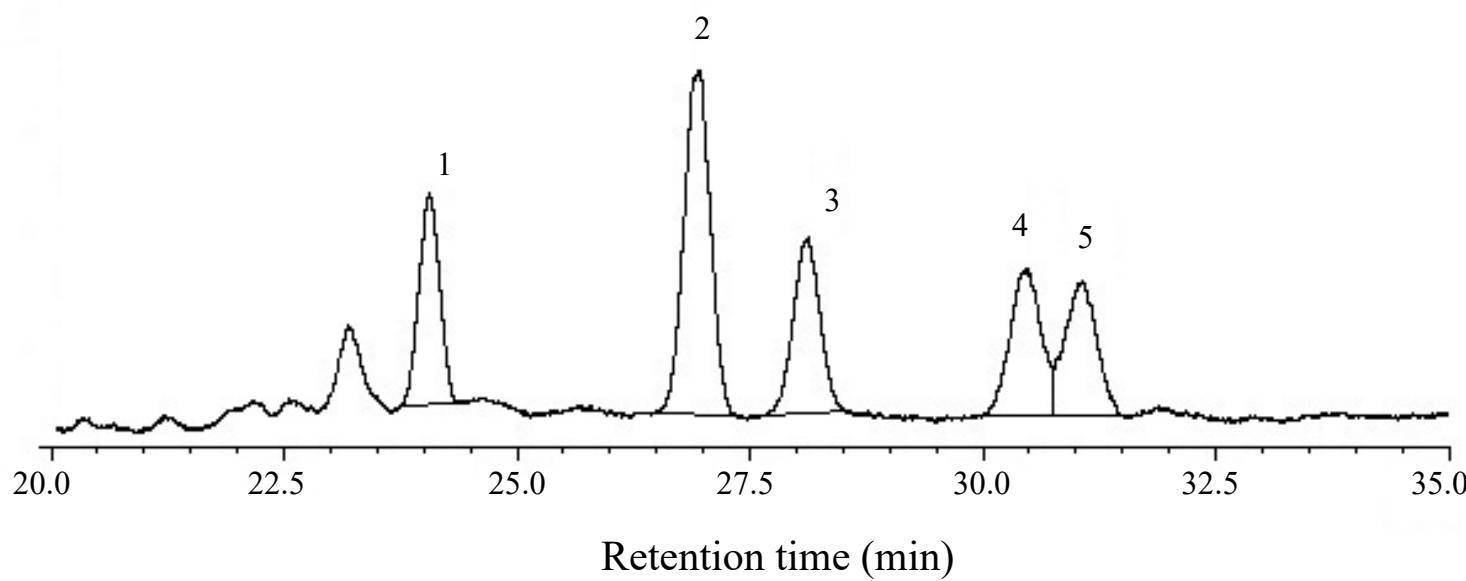


図1 標準溶液 (2 ng/mL) 注入時のPCQ異性体のクロマトグラム

Peak1: 2,2'-ODCQ, Peak2: 2,3'-ODCQ, Peak3: 2,4'-ODCQ, Peak4: 4,4'-ODCQ,
3,3'-ODCQ, Peak5: 3,4'-ODCQ,

分担研究報告書

油症検診データを用いた基礎的解析

研究分担者	白石 博昭	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	高尾 佳子	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課 専門研究員
	熊谷 博史	福岡県保健環境研究所	企画情報管理課 課長

研究要旨 全国油症一斉検診受診者の傾向把握のため、2023 年度に実施された検診の検診票を収集し電子化するとともに集計を行った。検診受診者数は 594 人（認定及び同居家族認定 413 人、未認定 181 人）だった。2023 年度は、受診者数及び検診種別ごとの受診状況は、新型コロナウイルス感染症対策のために検診の規模を縮小する以前の 2019 年度と同程度だった。

A. 研究目的

カネミ油症事件の発生から 50 年以上が経過した現在も、全国油症一斉検診（以下、検診）が継続的に実施されている。本研究では、患者の健康管理および健康への長期的な影響を明らかにするために、1986 年度に検診票が統一されて以降の検診情報を体系的に蓄積・管理することで、健康影響評価のための基礎情報を整備する。

B. 研究方法

1. 検診情報の収集及び管理

2023 年度は、全国 11 追跡調査班（関東以北班、千葉県班、愛知県班、大阪府班、島根県班、広島県班、山口県班、高知県班、福岡県班、長崎県班、鹿児島県班）において、7 月から 10 月に検診が実施された。検診は、内科検診、小児科検診、皮膚科検診、眼科検診、歯科検診、血液特殊検査、尿検査、血液学的検査、生化学的検査、免疫学的検査、内分泌学的検査、骨密度測定があるが、それぞれの実施の有無は各追跡調査班で異なる。検診時に作成された検診票の写しを、追跡調査班の協力を得て 2023 年 2 月に収集し、3 月に電子化した。その後、4 月から記入内容を点検し、疑義照会により修正を行い、6 月にデータを確

定した。確定したデータは検診情報一元管理システムへ追加登録した。

検診受診者の情報は、受診者区分（認定、同居家族認定、未認定）や氏名、住所等、検診受診後に変更が生じるものがある。これら個人の情報に変更があった際、油症事務局、油症ダイオキシン研究診療センター及び追跡調査班から当所へ情報が提供される。提供された情報により、受診者の情報を適宜更新した。

2. 過去の検診情報の提供

血液中 2, 3, 4, 7, 8PeCDF の濃度測定は、認定者は 4 年に 1 度実施する。このため、検診時に測定対象者を判断できるよう、測定実績を追跡調査班へ提供した。また、受診者の多い追跡調査班には、診定会議のための基礎データを提供した。その他、研究班長の指示のもと研究者へ解析用データを送付した。

（倫理面への配慮）

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 R3-7 令和 3 年 10 月 1 日承認）。

C. 研究結果

1. 検診情報の収集・整理

2023 年度検診について、集計の所見区分を表 1 に、受診者の内訳を表 2 に示す。認定及び同居家族認定（以下、認定と略）が 413 人、未認定が 181 人の計 594 人受診していた。年齢階級別では、認定者は 60 歳代が、未認定者は 40 歳代が最も多かった。表 1 の所見区分をもとに集計した各検診の有所見率を表 3～6 に示す。内科検診においては、認定者及び未認定者ともに全体でみると 7 割以上が全身倦怠感を訴えていた。皮膚科検診では、認定者は全体でみると黒色面皰の、未認定者は全体、男性、女性ともざ瘡様皮疹の有所見率が高かった。眼科検診では、認定者及び未認定者の全体、男性、女性ともに眼脂過多の訴えが 1 割程あるものの、他覚所見では、有所見率は 2% に満たなかった。歯科検診では、認定者及び未認定者の全体、男性、女性ともに色素沈着は歯肉が 3 割以上でみられ、次いで、唇粘膜が 2 割弱の者で見られた。

2. 検診情報の提供

検診前までに、11 追跡調査班へ各受診者の直近の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 測定情報を送付した。また、研究班長の指示のもと、研究者が指定する条件に従いデータを送付した。検診受診者の多い追跡調査班（広島県班、福岡県班、長崎県班）には、診定会議に使用する血液特殊検査のデータを加工可能な形で提供した。

D. 考察

表 7 に直近 5 年間の受診者数を示す。2023 年度の検診は、前年度（2022 年度）と比較して、認定者が 74 人増加し、未認定者は 52 人減少し、全体として 24 人増えた。検診種別では、内科検診の受診者数は前年と同程度であったが、皮膚科、眼科、歯科の受診者数は前年度の 8 倍以上となった。これは、2022 年度は、新型コロナウ

イルス感染症対策の一環として、検診内容の縮小および検診時間の短縮が継続されていたためで、2020 年度から 2022 年度の検診では、皮膚科、眼科、歯科は、検診を行わない、対象者を未認定者に限定する等、受診機会が制限されていた。一方、2023 年度は、新型コロナウイルス感染症発生前と同様の検診体制に戻ったことで、各診療科の受診者数が 2019 年度以前と同じ程度になっていた。2020 年度から 2022 年度の 3 年間は、検診の規模が縮小されたことにより、集団としての傾向把握が困難であったが、2023 年度は、2019 年度以前と同様の受診体制になったことから、今後は、再び受診者区分別の分析や経年的な傾向の把握が可能になると考えられる。

E. 結論

2023 年度の検診受診者は、同居家族認定を含む認定者が 413 人、未認定者が 181 人の計 594 人だった。2020 年度から 2022 年度の 3 年間においては、検診内容や対象者を減らして実施していたが、今回は、検診種別でも 2019 年度以前と同程度の受診者数になっていた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 所見区分

検診票	項目	所見有
内科検診	自覚症状	＋、‡
	他覚所見	正常、純、－以外
皮膚科	問診	有
	他覚所見 ^{*1}	＋、‡、¶
眼科	主訴	＋、‡、¶
	他覚所見	＋、‡、¶
歯科	主訴	有
	口腔所見	有
	色素沈着所見 ^{*2}	＋、‡、¶

*1 いずれかの部位に所見が認められれば、所見有とした。

*2 上歯肉、下歯肉を歯肉、右頬粘膜と左頬粘膜を頬粘膜、上唇粘膜と下唇粘膜を唇粘膜とした。

表2 2023年度検診受診者内訳

受診者区分及 び年齢階級	総数		男性		女性	
	n	%	n	%	n	%
総数	594	100.0	270	100.0	324	100.0
0 - 29 歳	31	5.2	15	5.6	16	4.9
30 - 39 歳	21	3.5	4	1.5	17	5.2
40 - 49 歳	50	8.4	17	6.3	33	10.2
50 - 59 歳	93	15.7	40	14.8	53	16.4
60 - 69 歳	169	28.5	81	30.0	88	27.2
70 - 79 歳	141	23.7	68	25.2	73	22.5
80 歳以上	89	15.0	45	16.7	44	13.6
認定	413	100.0	202	100.0	211	100.0
0 - 29 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
30 - 39 歳	0	0.0	0	0.0	0	0.0
40 - 49 歳	3	0.7	2	1.0	1	0.5
50 - 59 歳	63	15.3	29	14.4	34	16.1
60 - 69 歳	151	36.6	76	37.6	75	35.5
70 - 79 歳	120	29.1	57	28.2	63	29.9
80 歳以上	76	18.4	38	18.8	38	18.0
未認定	181	100.0	68	100.0	113	100.0
0 - 29 歳	31	17.1	15	22.1	16	14.2
30 - 39 歳	21	11.6	4	5.9	17	15.0
40 - 49 歳	47	26.0	15	22.1	32	28.3
50 - 59 歳	30	16.6	11	16.2	19	16.8
60 - 69 歳	18	9.9	5	7.4	13	11.5
70 - 79 歳	21	11.6	11	16.2	10	8.8
80 歳以上	13	7.2	7	10.3	6	5.3

表3 2023年度内科検診の有所見率

	全体	男性	女性
認定			
自覚症状			
全身倦怠感	71.2% (292/410)	67.8% (135/199)	74.4% (157/211)
頭重・頭痛	48.0% (197/410)	37.2% (74/199)	58.3% (123/211)
咳嗽	49.8% (204/410)	47.2% (94/199)	52.1% (110/211)
喀痰	47.6% (195/410)	51.3% (102/199)	44.1% (93/211)
腹痛	32.7% (134/410)	30.2% (60/199)	35.1% (74/211)
下痢	38.3% (157/410)	45.7% (91/199)	31.3% (66/211)
便秘	42.7% (175/410)	34.2% (68/199)	50.7% (107/211)
しびれ感	62.9% (258/410)	61.3% (122/199)	64.5% (136/211)
関節痛	69.6% (284/408)	67.0% (132/197)	72.0% (152/211)
月経異常	1.7% (2/121)	.	1.7% (2/121)
他覚所見			
心音	4.7% (19/406)	6.1% (12/197)	3.3% (7/209)
呼吸音	1.7% (7/406)	0.5% (1/197)	2.9% (6/209)
肝腫	0.2% (1/403)	0.5% (1/197)	0.0% (0/206)
脾腫	0.2% (1/403)	0.5% (1/197)	0.0% (0/206)
浮腫	7.9% (32/404)	5.6% (11/196)	10.1% (21/208)
リンパ節腫大	0.2% (1/404)	0.0% (0/197)	0.5% (1/207)
四肢けん反射	13.4% (54/403)	15.2% (30/197)	11.7% (24/206)
感覚障害	27.8% (112/403)	30.5% (60/197)	25.2% (52/206)
胸部レ線	23.8% (91/382)	24.3% (46/189)	23.3% (45/193)
心電図	26.7% (107/401)	30.5% (60/197)	23.0% (47/204)
未認定			
自覚症状			
全身倦怠感	71.5% (128/179)	66.7% (44/66)	74.3% (84/113)
頭重・頭痛	67.0% (120/179)	53.0% (35/66)	75.2% (85/113)
咳嗽	36.9% (66/179)	45.5% (30/66)	31.9% (36/113)
喀痰	32.4% (58/179)	39.4% (26/66)	28.3% (32/113)
腹痛	31.8% (57/179)	19.7% (13/66)	38.9% (44/113)
下痢	39.7% (71/179)	43.9% (29/66)	37.2% (42/113)
便秘	48.6% (87/179)	28.8% (19/66)	60.2% (68/113)
しびれ感	49.7% (89/179)	54.5% (36/66)	46.9% (53/113)
関節痛	50.8% (91/179)	42.4% (28/66)	55.8% (63/113)
月経異常	45.7% (42/92)	.	45.7% (42/92)
他覚所見			
心音	1.7% (3/178)	1.5% (1/66)	1.8% (2/112)
呼吸音	0.6% (1/178)	1.5% (1/66)	0.0% (0/112)
肝腫	0.6% (1/176)	0.0% (0/66)	0.9% (1/110)
脾腫	0.0% (0/175)	0.0% (0/66)	0.0% (0/109)
浮腫	4.5% (8/178)	4.5% (3/66)	4.5% (5/112)
リンパ節腫大	0.0% (0/178)	0.0% (0/66)	0.0% (0/112)
四肢けん反射	15.7% (28/178)	15.2% (10/66)	16.1% (18/112)
感覚障害	13.5% (24/178)	18.2% (12/66)	10.7% (12/112)
胸部レ線	12.4% (21/169)	14.3% (9/63)	11.3% (12/106)
心電図	16.9% (30/178)	22.7% (15/66)	13.4% (15/112)

表4 2023年度皮膚科検診の有所見率

	全体	男性	女性
認定			
問診			
最近の化膿傾向	7.4% (30/406)	7.0% (14/199)	7.7% (16/207)
最近の粉りゅう再発傾向	7.2% (29/405)	6.1% (12/198)	8.2% (17/207)
他覚所見			
黒色面皰	14.8% (60/406)	19.1% (38/199)	10.6% (22/207)
ざ瘡様皮疹	10.3% (42/406)	12.6% (25/199)	8.2% (17/207)
瘢痕化	13.8% (56/406)	12.6% (25/199)	15.0% (31/207)
色素沈着	6.7% (27/404)	7.1% (14/197)	6.3% (13/207)
未認定			
問診			
最近の化膿傾向	8.4% (15/179)	10.3% (7/68)	7.2% (8/111)
最近の粉りゅう再発傾向	6.7% (12/180)	7.4% (5/68)	6.3% (7/112)
他覚所見			
黒色面皰	10.0% (18/180)	11.8% (8/68)	8.9% (10/112)
ざ瘡様皮疹	19.4% (35/180)	23.5% (16/68)	17.0% (19/112)
瘢痕化	10.0% (18/180)	16.2% (11/68)	6.3% (7/112)
色素沈着	2.8% (5/180)	4.4% (3/68)	1.8% (2/112)

表5 2023年度眼科検診の有所見率

	全体	男性	女性
認定			
主訴			
眼脂過多	8.7% (35/403)	9.1% (18/198)	8.3% (17/205)
他覚所見			
眼瞼浮腫	0.5% (2/403)	1.0% (2/198)	0.0% (0/205)
眼瞼結膜色素沈着	1.0% (4/403)	0.5% (1/198)	1.5% (3/205)
瞼板腺囊胞形成	1.7% (7/403)	2.5% (5/198)	1.0% (2/205)
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	0.3% (1/375)	0.0% (0/187)	0.5% (1/188)
未認定			
主訴			
眼脂過多	11.7% (21/180)	11.8% (8/68)	11.6% (13/112)
他覚所見			
眼瞼浮腫	0.0% (0/180)	0.0% (0/68)	0.0% (0/112)
眼瞼結膜色素沈着	0.0% (0/180)	0.0% (0/68)	0.0% (0/112)
瞼板腺囊胞形成	0.0% (0/180)	0.0% (0/68)	0.0% (0/112)
瞼板腺チーズ様分泌物圧出	0.6% (1/163)	0.0% (0/61)	1.0% (1/102)

表6 2023年度歯科検診の有所見率

	全体	男性	女性
認定			
主訴	25.9% (92/355)	25.6% (45/176)	26.3% (47/179)
歯周病	44.3% (158/357)	48.6% (86/177)	40.0% (72/180)
色素沈着所見			
歯肉	36.7% (135/368)	33.5% (61/182)	39.8% (74/186)
頬粘膜	12.8% (47/368)	14.3% (26/182)	11.3% (21/186)
口蓋粘膜	4.1% (15/368)	3.3% (6/182)	4.8% (9/186)
唇粘膜	16.6% (61/368)	17.6% (32/182)	15.6% (29/186)
未認定			
主訴	37.7% (66/175)	36.5% (23/63)	38.4% (43/112)
歯周病	32.6% (56/172)	45.2% (28/62)	25.5% (28/110)
色素沈着所見			
歯肉	36.7% (65/177)	36.9% (24/65)	36.6% (41/112)
頬粘膜	7.3% (13/177)	9.2% (6/65)	6.3% (7/112)
口蓋粘膜	3.4% (6/177)	3.1% (2/65)	3.6% (4/112)
唇粘膜	17.5% (31/177)	16.9% (11/65)	17.9% (20/112)

表7 検診受診者数(2019年度から2023年度)

年度	全体			内科			皮膚科			眼科			歯科		
	全体	認定	未認定												
2019	613	493	120	611	493	118	590	472	118	582	466	116	340	261	79
2020	102	36	66	92	36	56	46	36	10	44	35	9	35	26	9
2021	111	19	92	65	19	46	20	19	1	20	19	1	8	8	0
2022	570	337	233	568	337	231	70	50	20	26	16	10	7	7	0
2023	594	413	181	591	412	179	586	406	180	583	403	180	545	368	177

分担研究報告書

油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル異性体分析におけるナローボアカラムの検討

研究分担者	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	課長
研究協力者	上原口 奈美	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	広瀬 勇気	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	市村 清隆	公益財団法人北九州生活科学センター	理事長

研究要旨 油症患者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)の分析は電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(GC-ECD)を用いて行っている。令和5年8月に、油症研究班のご厚意により、PCQ測定用GC-ECD装置の更新を行った。PCQは一般健常人の血液中にはほとんど検出されず、油症患者の血液中に検出され、油症検診では検出下限値として0.02ppbを達成することが必要である。今回、通常用いるカラムより径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ異性体の分離および測定感度の改善に関して検討を行った。その結果、注入口圧力が高くなり、試料導入が効率的に行われていないので、PCQ異性体の分離および感度面において、従来法よりも高精度および高感度な分析法を確立するまでに至らなかった。

A. 研究目的

ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)は熱媒体として使用されたポリ塩化ビフェニル(PCB)が高温・高圧の条件下に曝され、二つのPCB分子が結合した化合物で、6種類の基本構造を持ち、異性体の数は数万種あると考えられている。

PCQは油症患者が摂取したライスオイル中に高濃度に含まれていたことが報告されている。そのため、血液中PCQ濃度は油症の診断基準に追加され、現在も油症に特徴的かつ有用な基準の一つになっている。

PCQの分析法は、PCQの完全塩素化物である十八塩素化クアテルフェニル(ODCQ)として電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(GC-ECD)で定量する方法が確立されている。さらに、キャピラリーカラムを用いた分析法が開発され¹⁾、その方法を用いて、油症患者血液中のPCQ分

析が行われてきた。

今回、さらに高精度および高感度な分析を行うために、従来使用していた分析カラムよりも内径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ異性体の分離および測定感度に関して検討を行った。

B. 研究方法

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(GC-ECD)は島津製作所社製Nexis GC-2030(⁶³Ni-ECD)を使用した。従来使用していた分析カラムは、Quadrex社製007-65HT-25(長さ25m、内径0.25mm、膜厚0.1μm)を使用してきた。今回、分析カラムとし、Quadrex社製007-65HT-25HS(長さ25m、内径0.18mm、膜厚0.1μm)を用いて測定法に関する検討を行った。昇温は、80°Cで2分間保持した後、300°Cまで1分間に30°Cの割合で昇温後30分間保持の条件化を行った。注入口温度と

検出器温度は、それぞれ 300°C および 340°C で、キャリアガスとしてヘリウムを、マイクアップガスとして窒素を用いた。6 種類の ODCQ は、2, 2' -OCDQ, 2, 3' -OCDQ, 2, 4' -OCDQ, 4, 4' -OCDQ, 3, 3' -OCDQ および 3, 4' -OCDF で、これら異性体の一斉分析を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果・考察

令和 5 年 8 月に、油症研究班の尽力により PCQ 専用の測定装置 GC-ECD が生活科学センターに配備された。この装置を用いて PCQ の分析法を検討した。注入部のライナーを従来使用していたライナー (4.0mm × 7.85cm) より、内径が細く、長さが長いライナー (3.5mm × 9.5cm) を用いたことにより、キャリアガスの線速度が速くなり、分析時間が 20 分短縮可能となった。感度面に関しても、従来法と比較して、各異性体のピーク強度が約 2 倍に増大した (図 1)。さらに、従来使用していた GC-ECD は、装置の感度変動が大きく不安定であったが、更新した装置は、その問題点が改善され、取り扱いが容易になった。

今回、通常用いるカラムより内径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ 異性体の分離および感度面に関する検討を行った。その結果、ナローボアカラムを用いた場合、従来使用しているカラムより注入部の圧力が 2 倍以上高くなり、試料導入が効率的に行われていない可能性が高い。この問題を解決するために、試料の導入方法および分析条件を最適化する検討を行ったが、異性体の分離および感度面において、従来法より良好な結果が得

られなかった。

D. 結論

電子捕獲型検出器 (ECD) は、⁶³Ni の放射線源を使用した検出器で、有機ハロゲン化合物や有機金属化合物に高感度である。主にハロゲンを含む化合物が高感度で検出できるので、その原理に基づいて PCQ の分析に用いられている。今回、通常用いるカラムより径の細いナローボアカラムを用いて、PCQ 異性体の分離および感度面に関する検討を行ったが、従来法よりも高精度および高感度な分析法を確立するまでに至らなかった。

今後、注入方法を検討し、さらに He ガス流量および線速度を最適化する必要性があり、これら測定条件の最適化が、来年度の最重要課題として残された。

来年度も今年度のテーマを継続し、新しい分析法を確立した上で、従来法との妥当性評価を行う。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) ○Hori T, Tobiishi K, Yasutake D, Shintani Y, Furutani T, Takao Y, Todaka T, Hirose Y, Katsuki S, Tsuji G. Blood dioxin concentrations and their tendencies examined in family members living with certificated Yusho patients and considered as Yusho patients. Fukuoka Igaku Zasshi, 2023;14(1): 10-16.

2. 学会発表

- 1) ○廣瀬勇氣, 戸高尊, 上原口奈美、市村清隆、辻学、中原剛士：油症患者血液中ポリ塩化ビフェニールの異性体分析における分析条件の検討 (2)、第

3 回環境化学物質合同大会（広島）、
2024 年 7 月 2-5。

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

- 1) 芦塚由紀、中川礼子、平川博仙、堀就英、梶原淳睦、飯田隆雄、吉村健清：
2005 年度油症検診における血液中ボリ塩化クアテルフェニルの分析。福岡
医誌 98 : 232-235, 20

○ 分担研究報告書

カネミ油症患者への漢方治療の有用性に関する情報発信に関する研究

研究分担者 貝沼 茂三郎 富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座 教授

研究要旨 カネミ油症患者への漢方治療の有用性に関する情報発信として油症外来におけるオンラインによる漢方専門家の診療参加の取り組みや動画配信による漢方に関する情報発信を行った。五島中央病院油症外来では現地での診療陪席ならびにオンラインでの参加を交互に4回行うことによって油症外来の担当医師の漢方医学的な診察能力の向上ならびに漢方医学的な所見をもとに油症患者に漢方処方することができるようになった。またカネミ油症患者の疑問や処方されている人数の多い処方に関する動画を5編作成し、配信した。その動画に対するフィードバックを参考にしながら、油症患者のためになる漢方薬の情報発信を継続していきたい。

A. 研究目的

前年までの研究でカネミ油症患者の漢方薬の使用に関する実態調査や意識調査を行ったところ、年々漢方薬を服用している患者が増加し、意識調査において多くの患者が漢方治療の情報を求めていることがわかった。そこですでに漢方薬を服用している患者の満足度を上げるために油症患者に対する漢方情報発信ならびに漢方専門医との連携によるオンライン診療の確立に関する研究を行う。

B. 研究方法

①オンライン診療の確立

長崎県五島中央病院油症外来での診察に3ヶ月ごとにオンライン同席と現地での診察に同席し、漢方医学的な所見の取り方の指導や漢方処方の選択に関して指導を行う。

②油症患者に対する漢方の情報発信に関する研究

油症患者向けの動画を作成し、九州大学油症センターホームページ上で公開する。

(倫理面への配慮)

日常診療の一部として行ったため、特に倫理面への問題はない」と判断した。

C. 研究結果

2024年4月五島中央病院油症外来に陪席し、油症外来担当医師に5名の患者を対象とした漢方医学的所見の取り方や処方の選択について指導した。7月には油症外来での診察にオンラインで参加した。担当医師が問診しているところと一緒に拝聴し、患者への担当医師からの問診で漢方医学的な観点から不足していると思われた点について追加で確認した。また担当医師が脈診や腹診をして得られた所見を共有した。さらに舌診に関しては患者の舌を画面で共有し、漢方医学的所見を担当医師と共有した。5名中4名が初診時に処方した漢方薬が有効であったが、1名は処方変更することとなった。さらに10月には再度現地で診察に参加し、担当医師の漢方医学的所見の取り方の精度を上げるための指導を行った。

そして本年1月に再度オンラインで診療に参加し、7月と同様のことを行った。その結果、指導医と担当医との所見の不一致も減り、より精度の高い漢方医学的な診察を行うことができるようになっている。<担当医師(赤羽目翔悟医師)からの報告書>カネミ油症は長期にわたる慢性疾患であり、西洋医学的な治療に加えて、患者の体質改善や症状緩和を目的とした漢方診療の有用性が期待されている。そのため、漢方専門家の指導のもと、カネミ油症の患者に対する漢方的診察方法や処方選択について学びながら、実際の診療に活かす試みを行っている。

具体的には、四診(望診・聞診・問診・切診)の実践を通じて、患者一人ひとりの症状の変化や体質を見極め、補氣・利水・解毒といったアプローチを取り入れた処方選択を学んでいる。また、長期にわたる症状への対応として、患者の生活習慣や食事指導を含めた包括的なケアの重要性についても指導を受けている。

引き続きより多くの患者に対して適切な漢方診療を提供できるよう研鑽を積み、カネミ油症の長期的な健康管理に貢献したいと考えている。

昨年のアンケート調査で漢方薬に関する実態調査から内服歴のある患者のみならず、内服歴のない患者でも漢方治療に関して興味があり、情報を求めていることがわかった。そこで<5分で解決漢方薬の疑問シリーズ>として下記の5つの動画を作成し、九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センターのHPで動画を視聴できるようにした。

- ①漢方薬はどこから来たの？
- ②風邪には葛根湯！？ 効果的な飲み方
- ③患者さんが飲んでいる漢方薬 第3位 大建中湯
- ④患者さんが飲んでいる漢方薬 第2位 桂枝茯苓丸
- ⑤患者さんが飲んでいる漢方薬 第1位

芍薬甘草湯

なお①と②は2024年11月5日、③～⑤は2025年3月3日に動画配信を開始した。その結果、2025年3月27日までの間にそれぞれ90回、51回、18回、7回、17回視聴されている。

D. 考察

カネミ油症患者に対する桂枝茯苓丸などの有用性は報告され、昨年行ったアンケート調査では約24%の患者が漢方薬を服用していることを報告した1-3)。しかしそのほとんどは漢方非専門医が処方したものであり、カネミ油症患者により適切な漢方薬の情報を発信するためには漢方専門医が処方した症例を多く集積していくことが必要であると考えた。これまで九州大学病院油症外来でも陪席して漢方処方のアドバイスを行っているが、今回はさらに五島中央病院油症外来で漢方専門医と担当医が一緒に診察する仕組みを構築するためにオンライン診療も取り入れることとした。オンライン診療を行うにあたり、その前に現地で陪席をしながら漢方医学的所見の取り方を指導する時間を設けた。その結果、オンライン診療をする時には腹部診察は画像を通じても漢方医学的異常所見をしっかりと把握できた。さらに今回漢方指導医による現地ならびにオンラインでの診療参加によりこれまでアンケートで上位にランギングされていた桂枝茯苓丸以外にも、八味地黄丸や小建中湯なども有効な事例が増えた。またオンラインによる診療参加を成功させるためには初回だけでなく定期的な現地指導も必要であると考えられた。今回の検討でも現地とオンラインを交互に行うことにより、漢方専門医でない担当医師の漢方医学的診察技術の向上につながったと考えられる。将来的には専門家のオンラインによる診療参加のみにできればよいが、患者の状態変化による処方変更などはまだ漢方専門医ではない担当医師には難しいため、今後も同

様のやり方を継続し、症例の集積を行っていきたい。特にカネミ油症患者が多い福岡県や長崎県で同様の取り組みを継続しながら、専門家が一緒に診察する患者を増やし、他の地区での油症患者の診察の参考になるフローチャートなどを作成できればと考えている。

次に漢方の情報発信に関しては、これまで油症患者対象として 2022 年 3 月 9 日に漢方セミナー『血液サラサラは健康のもと』を開催し、その内容を 4 回のダイジェスト版に分けてそれぞれ 15 分程度の動画で配信を行ってきた(第 1 回 漢方の歴史と考え方 2022 年 3 月 12 日, 第 2 回 陰陽と気血水 2022 年 6 月 14 日、第 3 回 目で見る瘀血 2022 年 9 月 5 日、第 4 回代表的な駆瘀血剤 2022 年 12 月 7 日)。またその視聴回数はこれまでにそれぞれ 158 回、100 回、36 回、48 回であった。それに対して今回の動画配信は 1 回の視聴時間を 5 分に短縮し、さらに患者が疑問に思っていることや自分が現在服用している漢方薬についての動画であるため、これまでの動画配信と比較しても短期間に視聴回数が増えている可能性がある。一方でこれまでのアンケート結果から漢方薬が効くのかわからないとの意見が多かったが、今回は患者向けの漢方薬の作用機序などに関する動画は作成していない。しかし今後は HP に加えて会報での紹介や検診会場などでも動画を視聴できる環境を整え、動画を見た患者から聞き取り調査を行い、その結果をふまえてさらに油症患者のニーズにあった動画を作成、配信していきたいと考える。

E. 結論

油症外来におけるオンラインによる漢方専門家の診療参加の取り組みや動画配信による漢方に関する情報発信を行った。さらに症例を積み重ね、動画に対するフィードバックを参考にしながら、油症患者に役立つ漢方薬の情報発信を継続しておこな

っていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

参考文献

- 1.. Mitoma C, Uchi H, Tsukimori K, et al. Current state of yusho and prospects for therapeutic strategies. Environ Sci Pollut Res Int. 25. 16472-80.
2. Kainuma M, Nakahara T, Tsuji G. Responder analysis of keishibukuryogan for the symptoms of Yusho certified patients. Traditional and Kampo medicine. 2024 <https://doi.org/10.1002/tkm2.14002>.
3. 令和 5 年厚生労働行政推進調査事業費（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」令和 5 年度総括・分担研究報告書 P40-43.

分担研究報告書

油症暴露による継世代健康影響に関する研究 -油症2世、3世における婦人科関連症状-

研究分担者 加藤 聖子 九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学分野 教授
研究協力者 濱田 律雄 九州大学環境発達医学研究センター 特任助教

研究要旨 カネミ油症発生後に油症患者より出生した児(油症2世) および油症3世の婦人科関連症状の検討を行った。油症発生2年後の1970年の検討では月経不順が58%(47例/81例)、2005年に福岡県および長崎県油症患者を対象としたアンケート調査で油症暴露前後における月経異常に関する調査では月経不順は23%(70例/305例)であり、長期フォローアップにより月経不順の頻度は減少していた。今回は対象を油症2世および油症3世とし、調査票の結果より初経年齢、閉経年齢、月経不順および多嚢胞性卵巣症候群について調査した。その結果、初経年齢は12才(9-19才)、自然閉経年齢は50才(48-53才)、月経不順は23.4%、多嚢胞性卵巣症候群は6.5%であった。閉経年齢、月経不順、多嚢胞性卵巣症候群は報告とほとんど変わりなかった。今後、他の婦人科疾患も含めたさらなる検討が必要であると考える。

A. 研究目的

ダイオキシン類などの化学物質曝露が次世代の健康にどのような影響をいかに及ぼすのかという継世代的な健康影響とその発現機序に世界的な関心が高まっている。なかでもダイオキシン類は抗エストロゲン作用や抗アンドロゲン作用などのホルモン様作用を有することから、ヒトの生殖現象に影響を及ぼすのではないかと危惧されている¹⁾。

以前の報告で油症曝露後に月経不順の頻度が上昇し、その後の長期的フォローアップで月経不順の発現頻度の減少が示された²⁾。

本研究では、油症2世および油症3世における初経年齢、閉経年齢、月経不順および多嚢胞性卵巣症候群についての実態調査を行った。

B. 研究方法

1. 対象：カネミ油症発生後に油症患者より出生した児(油症2世) および油症3世を対象とした。

2. 方法：令和6年度油症検診時の次世代調査表結果を収集し、初経年齢、閉経年齢、月経不順および多嚢胞性卵巣症候群について、解析

を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会「カネミ油症の実態調査」(許可番号 30-384)の承認を経て実施した。

C. 研究結果

1. 次世代調査票の臨床像(表1)：

臨床像を表1に示す。年齢の中央値(範囲)は、41才(1-55才)であった。初経年齢の中央値(範囲)は12才(9-19才)、自然閉経年齢の中央値(範囲)は50才(48-53才)、月経不順は23.4%、多嚢胞性卵巣症候群は6.5%であった。油症2世は108例、油症3世は16例で、油症2世における母親曝露の割合は61.1%、父親曝露の割合は49.1%であった。

2. 生殖年齢における臨床像(表2)：

油症2世および油症3世の生殖年齢における臨床像を表2に示す。油症2世および3世の年齢の中央値(範囲)は、それぞれ34才(20-42才)、26才(21-32才)であった。月経不順の割合は、それぞれ26.9%、20%、多嚢胞性卵巣症候群は

それぞれ11.5%、0%であった。油症2世は52例、油症3世は5例で、油症2世における母親曝露の割合は55.8%、父親曝露の割合は48.1%であった。

3. 初経年齢

油症2世と3世の初経年齢(平均値±SD)は、油症2世(12.2±1.7歳)、油症3世(12.0±0.6歳)であった。

4. 閉経年齢

油症2世の自然閉経年齢(平均値±SD)は、50.6±1.5歳であり、油症3世では自然閉経症例はいなかった。また油症2世において、40歳未満で閉経となる早発閉経症例はなかった。

D. 考察

正常の月経周期日数は25～38日と定義され、これに当てはまらないものが月経不順であり、初経から間もない時期や閉経前によくみられる。多嚢胞性卵巣症候群では排卵障害により月経不順を来たし、多嚢胞性卵巣症候群の診断基準項目の一つとして、月経周期異常が使用される³⁾。

油症発生2年後の1970年の検討では月経不順が58%(47例/81例)、2005年に福岡県および長崎県油症患者を対象としたアンケート調査で油症暴露前後における月経異常に関する調査では月経不順は23%(70例/305例)であり、長期フォローアップにより月経不順の頻度は減少していた²⁾。今回の検討で生殖年齢における月経不順の頻度は油症2世で26.9%、油症3世で20.0%であった。

ダイオキシン類であるPCBの血中濃度が多嚢胞性卵巣症候群において対照と比較して有意に高く、PCBと多嚢胞性卵巣症候群の関連が報告されている⁴⁾。多嚢胞性卵巣症候群は排卵障害による月経周期異常を来たし、不妊の一因となる。生殖年齢の女性の5-15%程度がかかっているとされる頻度の高い疾患である。今回の次世代調査の油症2世および3世における多嚢胞性卵巣症候群の割合は6.5%で、生殖年齢に限ると油症2世で11.5%、油症3世で0%であった。今後、ダイオキシン類濃度との関連の

検討が必要である。

初経年齢に関しては、以前の報告で油症患者と初経年齢に関して検討が行われている⁵⁾。初経年齢(平均値±SD)は、子宮内曝露群(12.4±1.2歳)、0-7歳時曝露群(13.0±1.2歳)、8-14歳曝露群(13.6±1.5歳)で8-14歳曝露群が子宮内曝露群と比較して有意に初経年齢が遅く、子宮内曝露群は全国平均と同程度であった。今回の油症2世と3世における初経年齢の検討では、初経年齢(平均値±SD)は、油症2世(12.2±1.7歳)、油症3世(12.0±0.6歳)と全国平均12.2か月とほぼ同程度であった。

閉経年齢に関して、以前の報告で油症患者の閉経年齢についての検討が行われている⁶⁾。自然閉経年齢(平均値±SD)は、0-19歳時曝露群(47.7±6.2歳)、20-29歳時曝露群(49.6±3.0歳)、30-39歳時曝露群(50.3±4.2歳)で、各群間に有意な差はなかった。40歳未満に閉経となる早発閉経は0-19歳時曝露群2例(3.5%)、20-29歳時曝露群1例(2.0%)、30-39歳時曝露群1例(1.4%)に認められたが、3群間に有意な差はなかった。今回の油症2世と3世における閉経年齢の検討では、油症2世の自然閉経年齢(平均値±SD)は、50.6±1.5歳であり、油症3世では自然閉経症例はいなかった。また油症2世において、40歳未満で閉経となる早発閉経症例はなかった。今回の検討では閉経年齢は平均と変わらず、早発閉経症例はなく、閉経に対する油症曝露による明らかな影響は認められなかった。

一方、ヒトが高濃度のダイオキシン類に曝露した事例での観察では、Sevesoの農薬工場の爆発事故で高濃度のTCDDに曝露した群では対照群と比較して閉経年齢が早くなることが報告されている⁷⁾。

E. 結論

今回、カネミ油症発生後に油症患者より出生した児(油症2世)および油症3世の婦人科関連症状との検討を行った。油症2世および油症3世で油症曝露に関連する婦人科関連症状は認められなかったが、今後、他の婦人科疾患も

含めたさらなる検討が必要であると考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第69回日本生殖医学会学術講演会

令和6年11月14日-15日

「油症2世における卵巣予備能と油症曝露との関連」

濱田律雄、田浦裕三子、友延尚子、河村圭子、横田奈津子、河村英彦、磯邊明子、加藤聖子

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 参考文献

- 1) Ulbrich B, et al. Developmental toxicity of polychlorinated biphenyls (PCBs): a systematic review of experimental data. *Arch Toxicol.* 78:483-487, 2004.
- 2) 月森清巳、加藤聖子、諸隈誠一. 油症曝露による女性特有の健康影響に関する研究. 令和2年度分担研究報告書. 36-39, 2020.
- 3) 松崎利也、岩佐武、岩瀬明、金崎春彦、久具宏司、齊藤和毅、馬場剛、原鐵晃、野拓樹、湊沙希. 本邦における多嚢胞性卵巣症候群の診断基準の検証に関する小委員会(令和3年度)検討結果報告. *日産婦誌* 75: 624-631, 2023.
- 4) Yang Q, et al. Association of serum levels of typical organic pollutants with polycystic ovary syndrome (PCOS): a case-control study. *Hum Reprod.* 2015. 30(8): p. 1964-73.
- 5) 月森清巳. 油症患者における婦人科疾患に関する研究. 平成20年度分担研究報告書.

30-32, 2008.

- 6) 月森清巳. 油症患者における婦人科疾患に関する研究. による継世代健康影響に関する研究. 平成20年度分担研究報告書. 111-113, 2008.
- 7) Eskenazi B, et al. Serum dioxin concentrations and age at menopause. *Environ Health Perspect.* 113(7): 858-862, 2005.

表1 次世代調査の臨床像(n=124)

項目	中央値(範囲)、割合(内訳)
年齢(才)	41(1-55)
BMI(kg/m ²)	21.1(13.7-43.3)
喫煙習慣あり	16.9%
多嚢胞性卵巣症候群	6.5%
月経不順	23.4%
初経後	91.1%
初経年齢(n=113)	12(9-19)
自然閉経	7.3%
自然閉経年齢(n=9)	50(48-53)
手術や治療による閉経	9.7%
手術や治療による閉経年齢(n=12)	41(22-47)
油症2世	87.1%
油症曝露状況	
母親曝露(n=108)	61.1%
父親曝露(n=108)	49.1%
油症3世	12.9%

表2 生殖年齢における臨床像

	油症2世(n=52)	油症3世(n=5)
項目	中央値(範囲)、割合(内訳)	
年齢(才)	34(20-42)	26(21-32)
BMI(kg/m ²)	21.4(17.6-43.3)	17.9(16.6-19.6)
喫煙習慣あり	9.6%	20.0%
多嚢胞性卵巣症候群	11.5%	0.0%
月経不順	26.9%	20.0%
初経年齢	12(9-19)	12(12-13)
油症曝露状況(2世のみ)		
母親曝露	55.8%	—
父親曝露	48.1%	—

分担研究報告書

油症における抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討

研究分担者 辻 博 北九州若杉病院西日本総合医学研究所 所長

研究要旨 2024 年度福岡県油症一斉検診の受診者 194 例において抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定した。抗ミトコンドリア抗体は同居家族を含む油症患者の 3 例 (2.1%) のみに認め、対照者に認めなかつた。抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体は対照者と油症患者の間に出現率に差をみなかつた。そして、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の血中 PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の PCB 高濃度群の比較では、抗ミトコンドリア抗体は血中 PCB 低濃度群の 0.7% に比べ PCB 高濃度群では 4.1% と高い傾向を認めたが、差をみなかつた。抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 低濃度群の 7.6%、PCB 高濃度群の 6.1% に認め両群間に差をみなかつた。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度群の 6.1% と PCB 低濃度群の 3.4% に比べ高い傾向を認めたが、差をみなかつた。

A. 研究目的

1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の毒性影響が大きいと考えられる¹⁾²⁾。PCDF は、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾ-パラ-ジオキシン (PCDD) およびコプラナー PCB とともにダイオキシン類と総称され、これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である³⁾。油症発生以来 50 年以上が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内的 PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される⁴⁾⁵⁾⁶⁾。2001 年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され、油症患者では未だに血中 PCDF 濃度が高値であり、PCDF の体内残留が推測される⁷⁾。

近年、PCB、ダイオキシン類が内分泌搅乱物質として正常なホルモン作用を搅乱

し、生殖機能の阻害、悪性腫瘍の発生、免疫機能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている⁸⁾⁹⁾。油症における免疫機能影響については、1996 年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認め油症患者における免疫機能の障害が推測された¹⁰⁾。そして、1997 年度の福岡県油症一斉検診において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0% に、自己抗体では抗核抗体を 45.6% と高率に認め、油症において液性免疫の障害を高頻度に認めることが報告されている¹¹⁾。

今回我々は、2024 年度福岡県油症一斉検診において自己抗体検査として抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定し、油症における液性免疫に対する慢性的影響について検討した。

B. 研究方法

2024 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者で自己抗体検査にアンケートにて同意が得られた 194 例を対象

者とした。

抗ミトコンドリア抗体は抗ミトコンドリア抗体/抗平滑筋抗体(FA)「FR」(富士レビオ)にてラット腎胃複合組織切片を用いた蛍光抗体法により測定した。抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の測定はステイシア MEBLux テスト SS-A およびステイシア MEBLux テスト SS-B(医学生物学研究所)を用いて全自动臨床検査システム STACIA(LSI メディエンス)にて測定した。

PCB の測定は福岡県保健環境研究所、福岡市保健環境研究所、北九州市環境科学研究所および北九州生活科学センターで行なった。血中 PCB 濃度は 2024 年度福岡県油症一斉検診において測定した 194 例の測定値を用い、抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体との関連について検討した。

結果は平均土標準偏差 (mean±S.D.) で表し、平均値の比較については t 検定で、出現頻度の比較は χ^2 検定で行なった。

C. 研究結果

2024 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者で免疫検査に同意が得られた 194 例の内訳は女性 113 例、男性 81 例で、平均年齢は 63.6 ± 16.2 (18–93) 歳であり、油症患者 123 例、油症発生当時に油症患者と同居し、カネミ倉庫製の PCB 等が混入していた当時の米ぬか油を摂取した油症患者(同居家族) 21 例、未認定患者 49 例、診定保留 1 例であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.4980, P<0.001$) を認めた。

抗ミトコンドリア抗体が 20 倍以上の上昇を認めたものは 3 例であった。その内訳は全例女性であり、平均年齢は 67.3 ± 13.1 (55–81) 歳であり、油症患者 2 例、油症患者(同居家族) 1 例であった。抗 SS-A/Ro 抗体が測定下限値 1.0 U/ml 以上の上昇を認めたものは 20 例であった。その内訳は女性 15 例、男性 5 例で、平均年齢は 58.5

± 18.3 (23–84) 歳であり、油症患者 11 例、油症患者(同居家族) 1 例、未認定患者 7 例、診定保留 1 例であった。そして、抗 SS-A/Ro 抗体が基準値 10.0 U/ml 以上の上昇を認めるものは 14 例であり、その内訳は女性 12 例、男性 2 例で、平均年齢は 58.6 ± 17.7 (27–84) 歳であり、油症患者 7 例、油症患者(同居家族) 1 例、未認定患者 6 例であった。抗 SS-B/La 抗体が測定下限値 1.0 U/ml 以上の上昇を認めたものは 56 例であった。その内訳は女性 38 例、男性 18 例で、平均年齢は 61.6 ± 16.0 (27–90) 歳であり、油症患者 29 例、油症患者(同居家族) 10 例、未認定患者 17 例であった。そして、抗 SS-B/La 抗体が基準値 10.0 U/ml 以上の上昇を認めるものは 8 例であり、その内訳は女性 4 例、男性 4 例で、平均年齢は 59.5 ± 19.1 (39–84) 歳であり、油症患者 4 例、油症患者(同居家族) 1 例、未認定患者 3 例であった。

2024 年度福岡県油症一斉検診を受診した同居家族を含む油症患者 144 例について診定保留を含む未認定患者 50 例を対照者として、両群間の抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の出現頻度について検討した(表 1)。抗ミトコンドリア抗体は対照者に認めず、油症患者の 3 例 (2.1%) のみに認めた。抗 SS-A/Ro 抗体が基準値 10.0 U/ml 以上の上昇は対照者の 6 例 (12.0%)、油症患者の 8 例 (5.6%) に認め、出現率に差をみなかった。抗 SS-B/La 抗体は対照者の 3 例 (6.0%)、油症患者の 5 例 (3.5%) に認め、出現率に差をみなかった。

2024 年度福岡県油症一斉検診の受診者 194 例について血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の 145 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 49 例を血中 PCB 高濃度群として両群間の抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の出現頻度について検討した(表 2)。血中 PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は

0.41±0.26 ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 1.83±1.02 ppb であった。抗ミトコンドリア抗体を血中 PCB 高濃度群の 2 例 (4.1%) に認め、PCB 低濃度群の 1 例 (0.7%) に比較し高い傾向を認めたが、差をみなかった。抗 SS-A/Ro 抗体を血中 PCB 低濃度群に 11 例 (7.6%)、PCB 高濃度群に 3 例 (6.1%) 認め両群間に差をみなかった。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度群の 3 例 (6.1%) と PCB 低濃度群の 5 例 (3.4%) に比較し高い傾向を認めたが、差をみなかった。

D. 考察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている。油症発症 28 年後の 1996 年の甲状腺機能検査において、甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかつたが、抗サイログロブリン抗体を高濃度群の 41 例中 8 例 (19.5%) と低濃度群の 40 例中 1 例 (2.5%) に比べ高頻度に認めた¹⁰⁾。そして、1997 年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0% に、自己抗体についてはリウマチ因子を 8.9% に、抗核抗体を 45.6% と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された¹¹⁾。さらに、2007 年度福岡県油症一斉検診において、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に正の相関を、抗核抗体を血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に高頻度に認め、油症における免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に 2,3,4,7,8-PeCDF が関与している可能性が考えられ、液性免

疫に対する 2,3,4,7,8-PeCDF の慢性的影響が示唆された¹²⁾。

2024 年度福岡県油症一斉検診を受診した 194 例において抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の出現頻度について検討した。抗ミトコンドリア抗体は原発性胆汁性胆管炎において高率に陽性であり、その診断に特異性の高い自己抗体であることが報告されている¹³⁾¹⁴⁾。そして、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体は眼および口腔の乾燥を主症状とするシェーグレン症候群、全身性エリテマトーデスに高率に出現し、シェーグレン症候群に特異的に出現すると考えられている¹⁵⁾¹⁶⁾。原発性胆汁性胆管炎ではシェーグレン症候群等の自己免疫性疾患が高率に合併することが報告されており、Epstein ら¹⁷⁾は原発性胆汁性胆管炎について胆管、唾液腺、涙腺等の外分泌機能が障害される dry gland syndrome の概念を提唱した。油症患者における抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討については、穂山ら¹⁸⁾が 2006 年度および 2007 年度の長崎県油症検診受診者において抗 SS-A/Ro 抗体を油症患者 57 例中 2 例 (3.5%) に、抗 SS-B/La 抗体を油症患者 56 例中 1 例 (1.8%) に認め、健常人 21 例には認めなかつたと報告している。そして、2013 年度福岡県油症一斉検診の受診者 276 例において抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体が検討されている¹⁹⁾。抗 SS-A/Ro 抗体を油症患者の 4.2%、対照者の 1.6% に認め、対照者に比べ油症患者において高い傾向を認めたが、出現率に差をみなかつた。そして、抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者の 3.8% に、PCB 低濃度患者の 4.7% に認め、出現率に差をみなかつた。また、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度油症患者の 3.9% に、2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度患者の 4.5% に認め、出現率に差をみなかつた。一方、抗 SS-B/La 抗体は油症患者の 1.4% に認め、

対照者にはみられなかった。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度油症患者にのみ認められ、血中 PCB 低濃度患者にはみられなかった。また、抗 SS-B/La 抗体は血中 2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度患者にのみ認め、2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度患者にはみられなかった。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 濃度および血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高濃度の油症患者に認められることより、油症において抗 SS-B/La 抗体の出現に PCB および 2,3,4,7,8-PeCDF が関与している可能性も考えられた。

2024 年度福岡県油症一斉検診の受診者 194 例において抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定し、抗ミトコンドリア抗体は同居家族を含む油症患者の 3 例 (2.1%) のみに認め、対照者にみられなかった。抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体は対照者と油症患者の出現率に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の血中 PCB 低濃度群と血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の血中 PCB 高濃度群の出現頻度の比較では、抗ミトコンドリア抗体を血中 PCB 高濃度群の 4.1% に認め、PCB 低濃度群の 0.7% に比較し高い傾向を認めたが、差をみなかった。抗 SS-A/Ro 抗体は血中 PCB 低濃度群の 7.6%、PCB 高濃度群の 6.1% に認め両群間に差をみなかった。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度群の 6.1% と PCB 低濃度群の 3.4% に比べ高い傾向を認めたが、差をみなかった。抗ミトコンドリア抗体および抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 低濃度群に比較し PCB 高濃度群において高い傾向が認められた。今後、油症における抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体に対する慢性的影響を検討するため血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の関連の検討が必要と考えられた。

E. 結論

2024 年度福岡県油症一斉検診の受診者 194 例（油症患者 123 例、油症患者（同居家族）21 例、未認定患者 49 例、診定保留者 1 例）において抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体を測定した。同居家族を含む油症患者 144 例について診定保留を含む未認定患者 50 例を対照者として、抗ミトコンドリア抗体は油症患者の 3 例 (2.1%) のみに認め、対照者に認めなかった。抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体は対照者と油症患者の間に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の 145 例を血中 PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 49 例を血中 PCB 高濃度群として、両群間の抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の出現頻度について検討した。抗ミトコンドリア抗体を血中 PCB 低濃度群の 1 例 (0.7%) に対し PCB 高濃度群の 2 例 (4.1%) と高い傾向を認めたが、差をみなかった。抗 SS-A/Ro 抗体を血中 PCB 低濃度群に 11 例 (7.6%)、PCB 高濃度群に 3 例 (6.1%) 認め両群間に差をみなかった。抗 SS-B/La 抗体は血中 PCB 高濃度群に 3 例 (6.1%) と PCB 低濃度群の 5 例 (3.4%) 比べ高い傾向を認めたが、差をみなかった。

F. 参考文献

1. Masuda Y, Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance : A Review. Amer. J. Ind. Med. 5 : 31-44, 1984.
2. Oishi S, Morita M, Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 43 : 13-22, 1978.
3. Gonzalez FJ, Liu SY, Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : mole-

- cular mechanism. *Pharmacogenetics* 3 : 51-57, 1993.
4. 飯田隆男, 芥野岑男, 高田智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人:ヒトの血液中におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリ塩化クアテルフェニルについて. *福岡医誌* 72 : 185-191, 1981.
 5. 増田義人, 山口早苗, 黒木広明, 原口浩一:最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール異性体. *福岡医誌* 76 : 150-152, 1985.
 6. 増田義人, 原口浩一, 古野純典:油症患者におけるPCB異性体の30年にわたる特異な残留. *福岡医誌* 94:136-143, 2003.
 7. 飯田隆男, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆:油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査(2001年). *福岡医誌* 94 : 126-135, 2003.
 8. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, Becker JL: Endometriosis in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam. Appl. Toxicol.* 21 : 433-441, 1993.
 9. Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y, Kato S: Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 423 : 545-550, 2003.
 10. 辻博, 佐藤薰, 下野淳哉, 東晃一, 橋口衛, 藤島正敏:油症患者における甲状腺機能:油症発生28年後の検討. *福岡医誌* 88 : 231-235, 1997.
 11. 辻博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏:油症患者における免疫機能の検討. *福岡医誌* 90 : 147-149, 1999.
 12. 辻博:油症患者における免疫機能の検討. 熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究 平成19年度総括・分担研究報告書 37-39, 2008.
 13. Mackay IR, Gajdusek DC : An 'autoimmune' reaction against human tissue antigens in certain acute and chronic liver diseases. II. Clinical correlations. *Arch. Intern. Med.* 101 : 30-46, 1958.
 14. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S: Serological tests in diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1: 827-831, 1965.
 15. Teplova M, Yuan YR, Phan AT, Malinina L, Ilin S, Teplov A and Patel DJ: Structural basis for recognition and sequestration of UUU(OH) 3' temini of nascent RNA polymerase III transcripts by La, a rheumatic disease autoantigen. *Mol. Cell* 21:75-85, 2006.
 16. Peene I, Meheus L, Veys EM and De Keyser F: Diagnostic associations in a large and consecutively identified population positive for anti-SSA and/or anti-SSB: the range of associated diseases differs according to the detailed serotype. *Ann. Rheum. Dis.* 61:1090-1094, 2002.
 17. Epstein O, Thomas HC, Sherlock S : Primary biliary cirrhosis is a dry gland syndrome with features of chronic graft-versus-host disease. *Lancet* 1: 1166-1168, 1980.
 18. 穂山雄一郎, 小川文秀, 清水和宏, 佐藤伸一:油症認定患者血清中抗SS-A抗体, 抗SS-B抗体の検討. *福岡医誌* 100: 124-126, 2009.
 19. 辻博:油症における抗SS-A/Ro抗体および抗SS-B/La抗体の検討. *福岡医誌* 106: 119-123, 2015.

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 油症患者および対照者における抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体

	Controls	Yusho
No.	50	144
抗ミトコンドリア抗体	0	3 (2.1 %)
抗 SS-A/Ro 抗体	6 (12.0 %)	8 (5.6 %)
抗 SS-B/La 抗体	3 (6.0%)	5 (3.5%)

表2 血中 PCB 濃度と抗ミトコンドリア抗体、抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の関連

No.	PCB concentration	
	<1.0 ppb	≥1.0 ppb
抗ミトコンドリア抗体	1 (0.7 %)	2 (4.1 %)
抗 SS-A/Ro 抗体	11 (7.6 %)	3 (6.1 %)
抗 SS-B/La 抗体	5 (3.4%)	3 (6.1%)

分担研究報告書

気道上皮細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) の役割の検討

研究分担者 岡本 勇 九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 教授

研究協力者 坪内 和哉 九州大学病院 呼吸器内科 助教

高野 智嗣 九州大学病院 呼吸器内科 助教

研究要旨 ヒト気道上皮細胞において、基底細胞、特に基底膜側の最下層に位置する基底細胞で Signal regulatory protein alpha (SIRP α) が発現していた。基底細胞の SIRP α 発現をノックダウンすると、EGFR シグナルの下流シグナルを変化させた。基底細胞において、SIRP α はシグナル伝達に関与することが明らかになり、このシグナルをターゲットとした、油症気道損傷に対する新たな治療戦略の可能性が示唆された。

A. 研究目的

油症の呼吸器症状としては喀痰、咳嗽、喘鳴などの気道症状が主体である。ダイオキシン類や類似の多環芳香族炭化水素により気道上皮細胞が傷害をうけ粘液(ムチン)産生過多を引き起こしている可能性がある[1-4]。これまで我々は、肺サーファクタント蛋白などの肺の恒常性を維持する因子を産生している分泌細胞に着目して研究を行い、肺サーファクタント蛋白の一つであり肺サーファクタント D (SP-D) の保護作用を検討してきた。SP-D が分泌細胞の一種である杯細胞において、ベンツピレンで誘導された ERK のリン酸化の抑制を介して、MUC5AC の発現を抑制することを見出し、そのメカニズムは杯細胞における Signal regulatory protein alpha (SIRP α) 経路の活性化を介していることを報告した[5]。このように、SIRP α を介した経路は、粘液産過多による症状を有する油症の呼吸器症状の治療ターゲットになる可能性がある。

SIRP α は骨髓系の免疫細胞に発現する膜タンパク質として知られているが、気道上皮細胞に発現する SIRP α の機能

は十分に解明されていない。SIRP α の気道上皮細胞における役割および制御メカニズムを明らかにすることを目的に研究を行った。

B. 研究方法

初代ヒト気道上皮細胞を Air-Liquid Interface (ALI) 培養で分化させ、気道上皮モデルを作成した。作成した気道上皮モデルおよび肺癌手術検体の気管支断端を用いて、フローサイトメトリーおよび免疫染色を行い、SIRP α の局在を評価した。公開されている気道上皮モデルの single cell RNA-sequence のデータを再解析し、また *In vitro* で基底細胞の SIRP α 発現をノックダウンし、SIRP α の機能を検討した。

C. 研究結果

気管支鏡検査で採取し培養した初代ヒト気道上皮細胞を Transwell® に播種して、下層にのみ培養液を満たし、21 日間培養すること (ALI 培養) で、基底細胞から分泌細胞や線毛細胞に分化した気道上皮モデルを作成した。この気道上皮モデルを単細胞化し、フローサイト

メトリーで NGFR、Acetylated α tubulin、MUC5AC、CD66c、SIRP α の発現を評価し、基底細胞・分泌細胞、線毛上皮細胞などにクラスター化し、細胞個々の SIRP α の発現を確認した。すると、SIRP α は NGFR 陽性の基底細胞の一部で発現していた。またヒト気道上皮モデルを SIRP α で免疫蛍光染色を行うと、SIRP α は基底細胞の中でも、基底膜側の最下層に位置する基底細胞に発現していた。手術検体の気管支断端を用いた免疫蛍光染色も同様の結果であり、気道上皮における SIRP α の局在が明らかになった。

そこで、公開されているデータベースを用いて SIRP α の高発現と低発現の基底細胞を比較し、気道上皮細胞における SIRP α の機能を推定した。パスウェイ解析を行うと、両群間で創傷治癒に関連のある遺伝子の発現変動を認めた。実際に *In vitro* の実験系で SIRP α をノックダウンした基底細胞を用いて Scratch assay を行ったところ、創傷治癒が障害された。また SIRP α をノックダウンすると創傷治癒に重要な EGFR/ERK/AKT の活性が低下していた。SIRP α の機能には、SIRP α の細胞内ドメインのチロシンリシン酸化が重要であり、その結果、チロシンホスファターゼである SHP1 あるいは SHP2 が結合し SIRP α の下流分シグナルとして機能することが知られている。そこで SIRP α 経路の下流の SHP2 を阻害したところ基底細胞において EGFR/ERK/AKT の活性が低下し、創傷治癒が障害された。

D. 考察

本研究で、気道上皮において SIRP α は基底細胞に発現し、創傷治癒を調節していることを明らかにした。またそのメカニズムは SHP2 を介した EGFR シグナルの制御であると考えられた。

創傷治癒の異常は気管支喘息や COPD

などの気道上皮が傷害される疾患の病態形成に関与している[6]。これらの慢性気道疾患ではアレルゲンやタバコの煙によって上皮に傷害が生じると、上皮細胞の異常な修復により線毛細胞の減少や杯細胞の過形成などの構造変化(リモデリング)を引き起こす[7]。本研究で示された SIRP α の創傷治癒への関与は、これらの慢性気道疾患の病態と密接に関連している可能性がある。特に、EGFR シグナルは気道上皮の修復に重要であり、その活性低下は創傷治癒遅延や異常分化を引き起こすことが報告されている[8]。本研究では、基底細胞において SIRP α のノックダウンにより EGFR シグナルが低下し、上皮の創傷治癒が遅延することから、SIRP α は EGFR シグナルを維持することで適切な修復機構を支えていると考えられる。

SIRP α はこれまで主に免疫細胞における機能が注目されてきたが、本研究の結果は、気道上皮においても SIRP α が重要な機能を担っていることを示しており、新たな創傷治癒制御因子としての意義を有する。今後、SIRP α を介した EGFR シグナル制御機構の詳細を明らかにすることで、油症による呼吸器症状を含めた慢性気道疾患に対する新たな治療標的となる可能性が示唆された。

E. 結論

気道上皮において、SIRP α は基底細胞に発現しており、SHP-2 を介して EGFR シグナルを制御し、創傷治癒を調節する。SIRP α およびそのシグナル経路は油症気道損傷に対する新たな治療標的となる可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

H. 参考文献

- 1) Låg, M., Øvrevik, et al. Potential role of polycyclic aromatic hydrocarbons in air pollution-induced non-malignant respiratory diseases. *Respir. Res.* 21, 299 (2020).
- 2) Sun, Y. et al. Benzo(a)pyrene induces MUC5AC expression through the AhR/mitochondrial ROS/ERK pathway in airway epithelial cells. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 210, 111857 (2021).
- 3) Gakidou, E. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 390, 1345- 1422 (2017).
- 4) Doiron, D. et al. Air pollution, lung function and COPD: Results from the population-based UK Biobank study. *Eur. Respir. J.* 54, (2019).
- 5) Hata K, et al. Surfactant protein D prevents mucin overproduction in airway goblet cells via SIRP α . *Sci Rep.* 2024 Jan 20;14(1):1799.
- 6) Mottais, A. et al. Epithelial-Mesenchymal Transition Mechanisms in Chronic Airway Diseases: A Common Process to Target? *Int. J. Mol. Sci.* 24, 12412 (2023)
- 7) Heijink, I. H. et al. Airway epithelial barrier function regulates the pathogenesis of allergic asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 44, 620–30 (2014)
- 8) Burgel, P. et al. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium. *Thorax.* 59, 992–996 (2004)

分担報告書

抗酸化作用を有するポリアミンが消化管上皮の細胞死に与える影響

研究分担者 鳥巣 剛弘 九州大学病態機能内科 講師

研究要旨 油症の病態としてダイオキシン類による酸化ストレスの亢進が指摘されている。酸化ストレスはフェロトーシスを含む様々な細胞死にかかる。油症の機序として知られる芳香族炭化水素受容体のシグナルがフェロトーシスにかかるか探索するためにメタボローム解析を行った。グルタチオンの代謝は最も変化が大きくまたフェロトーシスの誘導とリガンド刺激で反対の方向に変化するため、芳香族炭化水素受容体のシグナルはフェロトーシスを抑制していることが示された。油症の病態にフェロトーシスが関与する可能性がある。

A 研究目的

ポリ塩化ビフェニル混入したオイルの摂取により発生した油症が発生し長期間経過したがいまだ症状が持続し治療法も確立していない(1)。油症の病態としてダイオキシン類による芳香族炭化水素受容体(Ah)受容体のシグナル亢進とそれに伴う酸化ストレスの亢進が指摘されているため、酸化ストレスの軽減が治療の候補と考えられている。酸化ストレスは様々な細胞死にかかる従来指摘されているネクローシス、アポトーシスだけではなく近年フェロトーシスにも重要であることが明らかとなってきている。フェロトーシスは鉄の過剰や活性酸素ストレスにより脂質の酸化が生じ細胞膜が傷害され細胞死につながる。その防御機構としてグルタチオンとグルタチオンペルオキシダーゼが中心的役割を果たす(2)。我々はAh受容体のリガンド(AhL)がフェロトーシスの抑制にかかることを示しており、そのメカニズムの探索のためにメタボローム解析を行った。

B 方法

腸上皮細胞としてCaCo-2細胞を用いた。AhLによる影響は添加後24時間、フェロトーシスの誘導はErastin-2を添加し12時間後の細胞を回収した。塩を含まないマンニトールで洗浄後に代謝産物をメタノールで固定、遠心分離により抽出物を得た。抽出物を乾燥後Milli-Q水に懸濁し、CETOFMS system(Agilent Technologies)のカチオンモード、アニオンモードにより網羅的にピークを測定した。MasterHands ver2を用いピークを抽出しライブラリと照合し代謝物を同定した。

C 研究結果

カチオンモードで121、アニオンモードで74のピークが抽出された。多くの代謝産物はErastin-2でもAhLでも産物が増加と共通していた(Fig1)。Erastin-2により減少しているにもかかわらずAhLに増加しているものは還元型グルタチオン(GSH)と酸化型

グルタチオン(GSSG)であった。なかでも GSH はとびぬけて変動していた。AhL による変化を Fig2 に示す。またフェロトーシス誘導時の AhL による GSH の変化を Fig3 に示す。この結果 AhL により通常でもフェロトーシス誘導時も GSH や GSSG は増加し、フェロトーシスでは下がることから AhL によるフェロトーシス拮抗する一因である可能性がある。一方 Erastin-2 により増加し AhL に減少しているものは spermidine と Fructose 1,6-diphosphate であった。これらは増加することでフェロトーシスに誘導する可能性がある。

D 考察

今回 AhL による腸上皮細胞における細胞の代謝変化を示した。特にグルタチオン経路に著明な変化があった。グルタチオンの合成にはシステイン、グルタミン酸、グリシンを原料とし細胞質に存在するグルタミン酸システインリガーゼとグルタチオンシンセターゼにより合成される。グルタチオンは細胞内に多く存在し、フェロトーシスに重要な役割を果たすことが知られている(1)。過去の我々の検討から AhL はフェロトーシスを抑制することを示している。その中で AhL は NRF2 の核移行による抗酸化ストレス遺伝子の転写活性亢進を見出していた。本検討では AhL はグルタチオンを保つことによりフェロトーシスを抑制することが示された。NRF2 の転写産物に GCLM などグルタチオンの合成酵素も含まれこれらの結果は互いに支持される結果である(3)。今回の結果ではフォロトーシス誘導によりグルタチオンの減量となるアミノ酸のうち著明にシステインが枯渇することが確認され

た。軽度グルタミン酸とグリシンは増加しており、GCLM だけではなく細胞全体の代謝が変化しているのかもしれない。他方 spermidine はフェロトーシスにより増加する代謝産物として抽出された。我々は腸炎において spermidine がアポトーシスを抑制することを示している(4)。これらの代謝産物はフェロトーシスとアポトーシスのスイッチの切り替えにかかわるのかもしれない。フェロトーシスはこの近年分子機構が明らかとなっており油症との関連はあまり検討されていない。本研究の結果から患者検体においてもフェロトーシスの変化は検討する意義があると考えられた。

E 結論

AhR シグナルはグルタチオン代謝に影響を及ぼす。

参考文献

- 1) 油症の最新の知見と治療開発に向けて. 三苦千景, 内博史, 辻学, 古賀沙緒里, 古江増隆. 福岡医学雑誌 106(5): 184-194, 2015.
- 2) Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Cell. 2012;149:1060-72.
- 3) Ferroptosis in the colon epithelial cells as a therapeutic target for ulcerative colitis. Yokote, A., Imazu, N., Umeno, J. et al. J Gastroenterol 58, 868-882 (2023).
- 4) Arginase 2 attenuates ulcerative colitis by antioxidant effects of spermidine. Imazu, N., Torisu, T., Yokote, A. et al. J Gastroenterol 59, 682-698 (2024).

Fig1

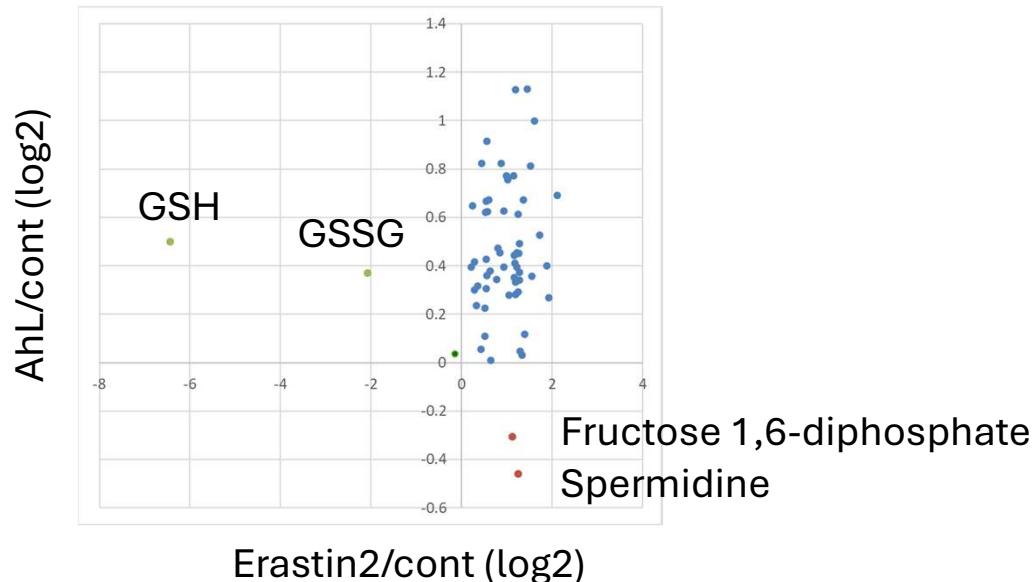


Fig1 代謝産物のcontrolに対する変化の分布を示す。

Fig2

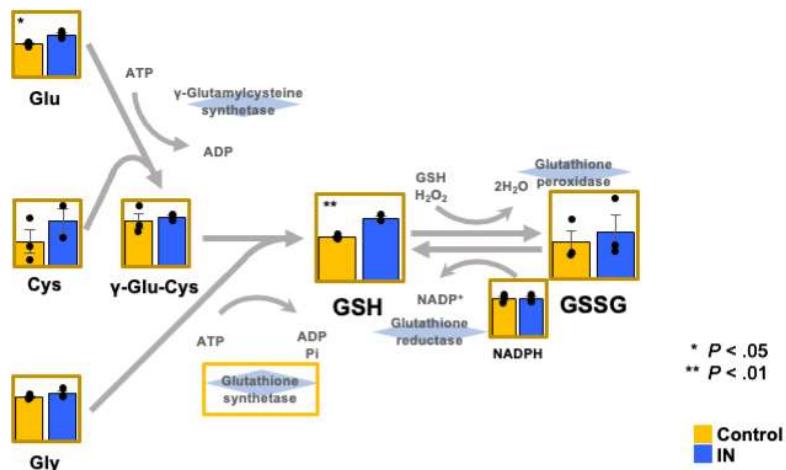


Fig2 グルタチオンの生合成パスウェイの代謝を示す。

Fig3

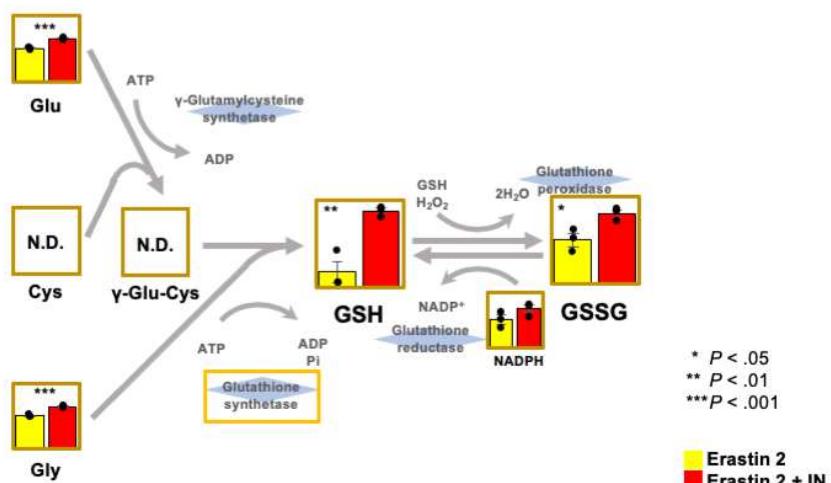


Fig3 フェロトーシス誘導時のグルタチオン生合成。

分担研究報告書

油症検診における眼病変の追跡調査

研究分担者 園田 康平 九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授

研究要旨 令和6年度油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査した。

A. 研究目的

研究の目的は、油症患者の眼所見の把握および治療法の確立である。したがって、患者の眼症状を把握し、その症状、苦痛を除くことに関する研究である。

B. 研究方法

令和6年度の油症検診にて、九州大学病院眼科外来あるいは福岡県の油症一斉検診時に油症患者を診察し、眼所見および症状を把握する。

(倫理面への配慮)

本研究の解析結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない事を確認している。

C. 研究結果

油症患者の眼症状の発生およびその経過を調査した。眼科的所見として、眼脂過多、眼瞼浮腫、眼瞼結膜色素沈着、瞼板腺囊胞形成、瞼板腺チーズ様分泌物圧出の5項目を検討した。

D. 考察

受診者の高齢化が進み臨床所見は少なくなってきた。また、油症患者の眼科領域における臨床所見は徐々に軽くなっている。

E. 結論

今後も油症患者の眼科的所見の経過観察が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

分担研究報告書

油症検診受診者における角膜上皮障害

研究分担者 井上 大輔 長崎大学病院眼科 助教
研究協力者 上松 聖典 長崎大学病院眼科 准教授

研究要旨：角膜上皮細胞は角膜の表面を健常に保つために重要である。今回油症認定患者の角膜上皮状態と、血中の PeCDF 濃度との関連を調査した。

A. 研究目的

角膜の表層は角膜上皮細胞が重層扁平上皮を構成し、異物や病原微生物の眼への侵入を防いでいる。この上皮細胞を保護するのは涙腺から分泌される涙液で、マイボーム腺から分泌される油層が涙液の蒸発を防いでいる。しかし油症患者ではマイボーム腺機能異常から角膜上皮障害をきたしやすい可能性がある。今回の研究では油症検診受診者における角膜上皮状態を調査し、ダイオキシン類と角膜上皮障害の関連を検討する。

B. 研究方法

長崎県油症検診の 4 地区すなわち、玉之浦、奈留、福江、長崎地区において 2024 年度油症検診の眼科部門を受診し、血中 PeCDF 濃度が測定された油症検診受診者を対象とした。手持ち細隙灯顕微鏡を用いて、フルオレセイン染色した右眼の角膜の上皮障害の程度を、点状表層角膜症の面積 (area) と密度 (density) をそれぞれ 0~3 の 4 段階でスコアリングする AD (area-density) 分類¹⁾で評価した。睫毛内反などによる明確な物理的角膜上皮障害要因がある眼や何らかの理由（診察時にソフトコ

ンタクトレンズを装用中であったなど）によりフルオレセイン染色や結果の記録が正常に行えなかった対象者は除外した。

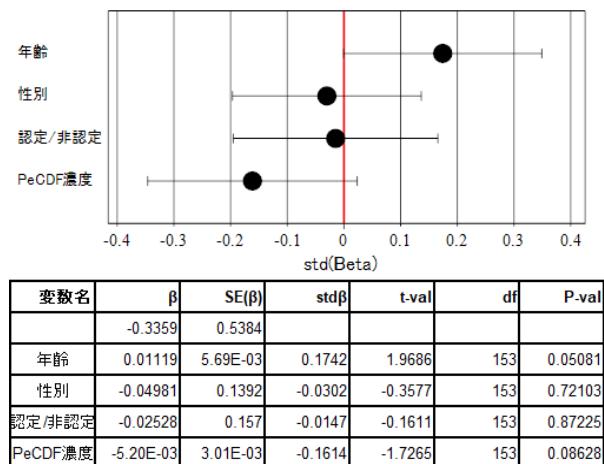
その後、AD 分類のスコアと直近の血中 PeCDF 濃度との関連を解析した。（倫理面への配慮）

本研究のデータ解析においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果

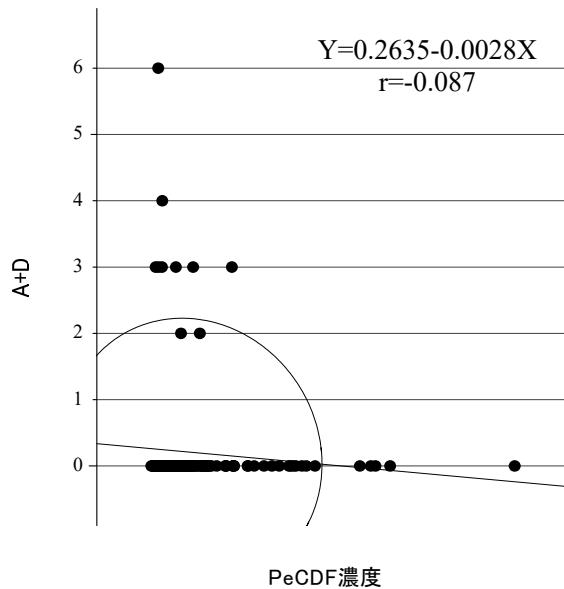
対象者は 158 名（男性 83 名、女性 75 名）で、年齢は 68.0 ± 12.8 (平均士標準偏差) 歳であった。そのうち点状表層角膜障害を認めた対象者は 10 名 (6.3%) のみであり、点状表層角膜症を全く認めない (AD 分類では A0D0 に分類される) 対象者が大多数であった。直近の血中 PeCDF 濃度は 21.7 ± 25.6 pg/g lipids であった。

AD 分類の A スコアと D スコアを合算した A+D を目的変数、年齢、性別、油症患者としての認定の有無、血中 PeCDF 濃度を説明変数として重回帰分析を行った。いずれの変数も A+D への影響を認めなかった（図 1）。



(図 1)

また血中 PeCDF 濃度と A+D との相関係数は-0.087 であり、明らかな相関は認められなかった (図 2)。



(図 2)

D. 考察

今回血中 PeCDF 濃度や年齢、性別、油症患者認定の有無と角膜上皮障害の関連は認められなかった。PeCDF 濃度が高値の場合でも、マイボーム腺やそこから

分泌される油分による涙液蒸発抑制効果が障害されるわけではない、とも示唆される結果である。ただし今回は油症検診受診者におけるマイボーム腺自体の評価や涙液層安定性の評価は行っていないため、更なる検討が必要と考える。

E. 結論

今回の長崎県油症検診受診者において血中 PeCDF 濃度は角膜上皮障害と関連はなかった。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

参考文献

- 1) 宮田和典・澤充・西田輝夫・三島弘・宮本裕子・大鳥利文：びまん性表層角膜炎の重症度の分類. 臨眼 48 : 183-188, 1994

分担研究報告書

カネミ油症患者における脳・精神・神経・自律神経の病気・症状の現状把握と考察

研究分担者 緒方 英紀 九州大学病院 脳神経内科 助教

研究要旨 カネミ油症患者を対象に施行された令和3年度健康実態調査で、本調査に回答するのは初めてと回答した14人を対象に、脳・精神・神経・自律神経の病気・症状の割合を確認したところ、「頭痛」「神経痛」「物忘れ」と回答した患者が共に3件(21.4%)で、自律神経系の病気・症状については「過敏性腸症候群」と回答した患者が2件(14.3%)で確認された。これらの疾病・症候が、カネミ油症患者を対象とした研究の対象として重要であることを再認識するに至った。

A. 研究目的

カネミ油症患者における脳・精神・神経・自律神経の病気・症状に関するアンケートニーズを認識することは重要である。

「カネミ油症患者に関する施策の推進に関する基本的な指針」(厚生労働省・農林水産省告示)に基づき、カネミ油症患者の生活習慣、病状、治療内容等について把握するために行われた令和3年度健康実態調査結果の報告を基に、カネミ油症患者における神経・精神疾患および神経症候の現状を確認し、今後の研究の糸口とする。

B. 研究方法

令和3年4月～6月末に各都道府県で把握している1,553人の認定患者(令和3年3月31日時点の調査対象見込者数、前年度1,562人)のうち、死亡や所在不明の方、非協力の意向を示された方等を除いた1,344人【1,362人】から回答を得た令和3年度健康実態調査結果¹を利用した。そのうち、同調査に回答するのは初めてと回答した14人に注目し、脳・精神・神経・自律神経の病気・症状の割合を確認した。

脳・精神・神経の病気・症状として脳卒中・脳出血・くも膜下出血、脳梗塞、頭痛、頭重(頭が重い)、神経痛、知的障害、躁

うつ病、統合失調症、幻覚、認知症、物忘れ、かつとなりやすい・短気の有無を確認した。

自律神経系の病気・症状として、起立性低血圧、過敏性腸症候群、多汗症、汗が出にくい、不眠、不安神経症、自律神経失調症の有無を確認した。

頻度の高い病気・症状に関して考察を行った。

(倫理面への配慮)

個人情報は原則的に検証の倫理面対象としていないが、個人のプライバシーが侵害されないように配慮した。

C. 研究結果

同調査に回答するのは今回が初めての方は男性9名、女性5名で、50歳代が5名、60歳代が3名、70歳代が3名、80歳代が3名であった。これまで罹患したことのある脳・精神・神経の疾病・症候は、「頭痛」「神経痛」「物忘れ」が共に3件(21.4%)と最も多く、続いて頭重(頭が重い)が2件(14.3%)であった。その他はいずれも1例(7.1%)に留まった。これまでに罹患したことのある自律神経系の病気・症状は「過敏性腸症候群」が2件(14.3%)と最も多く、不安神経症が1例でみられた

(7.1%)。

D. 考察

頭痛・頭重は、過去の調査でも半数以上に認めており、調査に新たに参加した患者でも最も頻度が高かった。引き続き、評価・研究の対象と成り得る。一方、日本の主な一次性頭痛の有病率は、片頭痛 8.4%、緊張型頭痛 22.3%、群発頭痛 0.4%²であり、カネミ油症症例における特異的な症候とは言えないことは認識しておくべきである。

物忘れについても、カネミ油症の原因であるダイオキシンにより認知機能障害が生じることが報告されており、患者の高齢化と共に研究の重要性が増していると言える。曝露後、長期間が経過しており、因果関係を評価することは簡単ではないことも付記しておく。

神経痛は非特異的な症候であるが、カネミ油症症例では四肢の感覚障害を来すことが知られている。感覚障害主体であり、電気生理学的にも運動・感覚障害が確認されるが、その生涯の程度は軽度に留まるため、その他のバイオマーカーの発見、開発が望まれる。

自律神経障害については過敏性腸症候群の頻度が高かったが、確立した診断バイオマーカーが存在せず、客観的な評価は容易ではない。研究の対象とすることは難しいと考える。

E. 結論

カネミ油症に関する調査に新たに参加した患者では、脳・精神・神経の病気では頭痛、神経痛、物忘れの割合が高く、自律神経系の病気では過敏性腸症候群の割合が高かった。曝露から長期間経過しているため、カネミ油症との因果関係を証明することは容易ではないが、適当なバイオマーカーの発見・開発が、研究の発展に寄与する。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

- (予定を含む。)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
特記事項なし

参考文献

1. 令和3年度 カネミ油症健康実態調査の結果
(https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_24193.html)
2. 頭痛の診療ガイドライン 2021

分担研究報告書

慢性ベンゾピレン中毒ラットに対する芍薬甘草湯の効果検討

研究分担者 申 敏哲 熊本保健科学大学、リハビリテーション学科 教授
研究協力者 吉村 恵 医療法人社団温故会 直方中村病院

研究要旨 本研究では、ベンゾピレンを投与ラットに対する芍薬甘草湯の効果と、それに伴う神経系の変化を行動学的および分子生物学的手法を用いて検討した。その結果、コーンオイル投与群 (Corn-DW) に対し、ベンゾピレン投与群 (Ben-DW) で感覚閾値の有意な上昇が認められた。その上昇はベンゾピレン投与後に芍薬甘草湯を投与したラット群において抑制された。ベンゾピレンおよび芍薬甘草湯投与による感覚閾値の変化と神経内の変化との関連を検討するため、坐骨神経を取り出し、CYP1A1 および MAG タンパク質の発現を測定した。AHR の標的遺伝子である CYP1A1 について、Ben-DW 群では Corn-DW 群と比較して CYP1A1 タンパク質の有意な発現増加が認められたが、芍薬甘草湯投与群ではその発現増加の抑制が見られた。一方、MAG タンパク質の発現に関しては Ben-DW 群で低下が認められた。しかし、芍薬甘草湯投与群では MAG タンパク質の発現低下の抑制傾向が見られたが、有意差は認められなかった。さらに、酸化ストレスに関する検討では、Ben-DW 群で酸化ストレス度の上昇が認められたが、芍薬甘草湯投与群ではその上昇の抑制が認められた。以上の結果から、ベンゾピレン投与は AHR を介して末梢神経に障害や炎症を引き起こし、それが感覚閾値の変化につながる可能性が示唆された。しかし、この影響は、芍薬甘草湯の抗炎症および抗酸化作用により抑制され、神経損傷からの保護により感覚異常の改善に寄与した可能性が示唆された。

A. 研究目的

ダイオキシン類化合物による複合中毒事件であるカネミ油症は、発生から約 55 年が経過した現在においても、多くの後遺症が報告されている¹⁾。カネミ油症における神経障害は、Polychlorinated biphenyls (PCB) が神経系に与える影響の一つであり、暴露された人々は手足のしびれや刺すような痛み、筋力低下、運動機能障害などを訴えることが多い。これらの症状は神経への損傷によって引き起こされると考えられているが、そのメカニズムには依然として不明な点が多い。特に、全身倦怠感、頭痛、手足のしびれといった自覚症状は現在も約 50% の患者に認められ、これらの症状はダイオキシン類が末梢神経系のみならず、中枢神経系にも何らかの

影響を及ぼす可能性を示唆している²⁻⁴⁾。

近年、私たちはダイオキシン類似化合物の一つであるベンゾピレンを用いた動物実験において、ベンゾピレンの投与が触・圧覚を伝える $\text{A}\beta$ 線維に作用し、感覚異常を引き起こす可能性があることを報告した⁵⁾。また、この作用は生薬の一つであるケイヒの投与によって改善される可能性も報告している。カネミ油症患者に対する漢方治療に関する報告では、芍薬甘草湯が神経症状を緩和することが報告されている。芍薬甘草湯は、血液不足や血行不良の改善、筋肉のつっぱり・こわばり・けいれんを伴う筋肉痛や神経痛、さらには腰痛や肩こりなどに広く用いられている。最近では、抗がん剤治療後に生じる末梢神経障害 (CIPN: Chemotherapy-Induced

Periphera 1 Neuropathy) に伴うしびれや痛みの予防および軽減に芍薬甘草湯が効果を示す可能性が報告されている^{8,9)}。昨年、油症研究班の会議において、芍薬甘草湯が神経のしびれに有効である可能性が臨床研究結果として報告された。しかし、この報告は油症患者の一部を対象としたものであり、その効果は未だ明確ではないのが現状である。そこで、本研究では、ベンゾピレン暴露ラットにおける芍薬甘草湯の効果を、行動学的手法および分子生物学的手法を用いて検証することを目的とした。

B. 研究方法

5週齢のWistar系雄ラット (SLC株、 静岡)を用い、コーンオイル 2週間連続投与後蒸留水投与群 (Corn-DW)、ベンゾピレン 2週間連続投与後蒸留水投与群 (Ben-DW)、ベンゾピレン 2週間連続投与後芍薬甘草湯投与群 (Ben-100 mg SKT および Ben-300 mg SKT) に分けた。

コーンオイル投与群にはコーンオイルを、ベンゾピレン投与群には 30mg/kg ベンゾピレンを、それぞれ経口投与器で 2 週間、一回 500 μ l ずつ胃に直接に投与した。2 週間のベンゾピレン投与後、コーンオイル投与群およびベンゾピレン投与群には蒸留水、芍薬甘草湯投与群には 100 mg/kg および 300 mg/kg の芍薬甘草湯を、それぞれ経口投与器を用いて 500 μ L ずつ、4 週間にわたり胃に直接投与した。時間的経過による感覚の変化は、小動物用電気刺激装置 (STG2000 バイオリサーチセンター) を用いて、電気刺激による感覚閾値を測定した。測定に際しては、ラットを拘束装置に入れて一定時間放置し、ラットが環境に慣れた頃合いをみて開始した。周波数は、5 Hz、250Hz、2000Hz の正弦波電気刺激を用い、覚醒下のラット右後肢足底部に与えた。刺激後、ラットの逃避反応が観察されるまでの時間を計測し、p-clamp ソフトウ

ェア (Axon Instrument 社製) で刺激時間から刺激強度 (μ A) に換算した。測定はコーンオイルおよびベンゾピレン投与前と最終日のみ行った。最終日の行動実験後、直ちに 3 種混合麻酔薬を用いてラットを麻酔し、心臓から採血後に安楽死を誘導した。その後、坐骨神経を採取し、-80°C に凍結しました。凍結した坐骨神経標本は解凍後、T-PER Tissue Protein Extraction Reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いてタンパク質を抽出した。得られたタンパク質抽出液は、cytochrome P450 1A1 (CYP1A1、Santa Cruz Biotechnology)、myelin-associated glycoprotein (MAG、Cosmo Bio)、 β -Actin (Cell Signaling Technology) の抗体を用いて、タンパク質自動分析装置 WES (Protein Simple) で分析を実施した。血液試料は遠心分離し、取り出した血清を用いて、72 時間以内に酸化ストレスと抗酸化力の測定を行った。測定機器はフリーラジカル解析装置 FREE CARRIO DUO (WISMERLL 株) を用いた。

(倫理面への配慮)

動物の飼育および実験に関しては、熊本保健科学大学動物倫理委員会の許可(登録番号、動 18-10)を得て行った。全身麻酔下でラットの心臓から採血を行い、その後過量の 3 種混合麻酔薬を腹腔内に追加投与して死に至らしめるため痛みなどの侵襲は殆ど無い。

C. 研究結果

ベンゾピレンと芍薬甘草湯の経口投与後、電気刺激による感覚閾値の経時的变化を小動物用電気刺激装置で測定した。その結果、5Hz および 250Hz の電気刺激周波数における感覚閾値の測定では、各群で若干の閾値変化が認められたが、有意差はなかった (図 1A、B)。一方、2000Hz の電気刺激周波数での感覚閾値変化において、Corn+DW 群に対し、Ben+DW 群で感覚閾値の

有意な上昇が認められ、芍薬甘草湯を投与した Ben-100 mg SKT および Ben-300 mg SKT 群では、その感覚閾値上昇の抑制傾向または抑制が見られた（図 1C）。

ベンゾピレンと芍薬甘草湯の投与によるラットの行動変化および末梢神経内の変化の関連性を検討するため、坐骨神経を取り出し、アリル炭化水素受容体（AHR）の活性を測定するために CYP1A1 タンパク質（図 2A）、閾値変化との関係を検討するために myelin-associated glycoprotein (MAG) タンパク質（図 2B）を測定した。AHR の標的遺伝子である CYP1A1 に関しては、Ben+DW 群で Corn+DW 群に対し CYP1A1 タンパク質の有意な発現増加が認められた。この増加は、芍薬甘草湯を投与した Ben-100 mg SYK および Ben-300 mg SYK 群で抑制が見られた。MAG タンパク質においては、Corn+DW 群に対し Ben+DW 群で発現減少が見られ、Ben-100 mg SKT および Ben-300 mg SKT 群ではその発現減少の抑制傾向が見られたものの、有意差は認められなかった。

ラットの行動変化と酸化ストレスの関連性を明らかにするため、酸化ストレス度への影響を検討した。Corn-DW 群に対し、Ben-DW 群で酸化ストレスの有意な上昇が認められ、その上昇は Ben-100 mg SYK および Ben-300 mg SYK 群で抑制傾向が見られたが、有意差はなかった（図 3A）。抗酸化力に関しては、Corn-DW 群に対し、Ben-DW 群で抗酸化力の低下が認められ、Ben-100 mg SKT および Ben-300 mg SKT 群では、Ben 群に対して抗酸化力低下の抑制傾向が見られた（図 3B）。これらの結果から、酸化ストレス度を計算した結果が図 3C に示されている。酸化ストレス度が BAP/d-ROMs \leq 12.5 の場合、酸化ストレス状態とみなされる。酸化ストレス度に関しては、Ben-DW 群が Corn-DW 群に対して酸化ストレス状態であり、Ben-100 mg SKT および Ben-300 mg SKT 群では Ben-DW 群に対して

酸化ストレス状態の改善が認められた。

D. 考察

本実験では、ダイオキシン類似化合物であるベンゾピレンを投与したラットに対し、芍薬甘草湯の効果を行動学的評価法と分子生物学的手法を用いて検討した。その結果、感覚閾値の測定において、ベンゾピレン投与群ではコーンオイル投与群に比べて感覚閾値の有意な上昇が認められた。一方、芍薬甘草湯投与群では、その感覚閾値上昇の抑制傾向が観察された。カネミ油症に関する報告では、患者の約 50% に感覚鈍麻、しびれ感、刺すような痛み、筋力低下、さらには運動機能障害が見られるとされている。これらの症状は、末梢神経障害や中枢神経障害によるものであり、特にダイオキシン類や PCB が長期間にわたり蓄積し、神経系に対する慢性的な毒性を与えることが関与しているとされている²⁻⁴⁾。末梢神経障害の一因として、末梢神経の A β 線維や C 線維の損傷が関与していることが報告されており⁵⁻⁷⁾、これが感覚異常やしびれ感を引き起こすメカニズムの一つと考えられる。本研究の結果、ベンゾピレン投与による感覚閾値の上昇が、A β 線維の伝導速度低下や 2000Hz の電気刺激での閾値上昇と関連している可能性が示唆されている。A β 神経線維は 2000Hz の電気刺激によって選択的に刺激されることが知られており¹⁰⁾、この結果からベンゾピレンが引き起こす感覚異常は、A β 線維の異常によるものであることが考えられる。閾値の上昇は神経障害や炎症によってみられ、感覚異常やしびれ感を引き起こすことが報告されている^{11, 12)}。

さらに、ベンゾピレン投与ラットにおける AHR の活性化と脱ミエリン、酸化ストレスの関与についても検討した。ダイオキシン類の毒性は AHR を介して引き起こされることが報告されており、AHR 活性化による神経障害や炎症の進行が考えられる。こ

れに関連して、いくつかの生薬が AHR 活性を抑制することも報告されており¹³⁾、本研究でもその可能性が示唆されている。本研究では、ベンゾピレン投与ラットにおける感覚閾値の上昇と CYP1A1 タンパク質発現上昇、また MAG タンパク質の発現低下と酸化ストレス度の上昇を確認した。その結果、神経の伝導速度の低下が脱髓疾患によるものである可能性が高いことを示唆しており¹¹⁻¹⁵⁾、ベンゾピレンによる神経毒性が A β 線維の異常や脱髓に関与していることを裏付けている。近年、生薬の一つであるケイヒの主成分であるシンナムアルデヒドが AHR の標的遺伝子である CYP1A1 タンパク質の発現を抑制し、抗酸化ストレス作用が強いことが明らかになっている¹³⁾。本研究では、芍薬甘草湯がベンゾピレン中毒ラットにおける神経症状に与える影響を調べた結果、以下の重要な知見が得られた。

本研究では、漢方薬の一種である芍薬甘草湯がベンゾピレン中毒ラットに対する効果を検討した。その結果、ベンゾピレン中毒による感覚閾値上昇の抑制や CYP1A1 タンパク質発現の増加抑制、MAG タンパク質の発現低下の抑制傾向が確認された。また、酸化ストレス度の上昇が抑制される傾向が示され、これが神経保護に寄与している可能性が示唆されている。芍薬甘草湯は、血液不足や血行不良の改善、筋肉の緊張を緩和し、痛みを和らげる作用があるとされている。特に、筋肉痛や神経痛、腰痛や肩こりなどに広く使用されている。最近では、抗がん剤治療後の末梢神経障害の予防や軽減に有効であることが報告された^{8,9)}。芍薬甘草湯には、芍薬と甘草が主に入っています。芍薬と甘草の成分には、強力な抗酸化作用、抗炎症作用、神経保護作用があることが報告されている¹⁶⁻¹⁹⁾。特に、芍薬の成分であるペオニフロリンやペオニカラシル、甘草の主要成分であるグリチルリチンが、神経炎症を抑制し、神経修

復を助ける作用を示すことが動物実験や細胞実験で報告されている¹⁶⁻¹⁹⁾。これらの成分は、ベンゾピレンの毒性に関する神経の炎症や酸化ストレスを軽減し、神経修復を促進する可能性があると考えられる。これらの報告から、芍薬甘草湯はベンゾピレンの毒性による神経損傷（脱髓）を抑制し、神経異常の改善に寄与する可能性が示唆される。

E. 結論

本研究の結果、ベンゾピレンの投与は、その毒性が AHR を介して触覚および圧覚を伝達する A β 線維に作用し、これらの線維の軸索変性を引き起こすことで感覚異常などの症状を引き起こした可能性が示唆された。一方、芍薬甘草湯は、抗炎症作用および抗酸化作用を通じて、ベンゾピレンの毒性による神経損傷を保護し、感覚異常の症状の改善に寄与する可能性が示唆された。これらの結果から、今後の神経疾患や神経障害の予防・治療において、芍薬甘草湯が有効な治療薬として利用できることが示唆された。

引用文献

- 1) Aoki Y : Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxin, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters what we have learned from Yusho disease. Environ Res, 86(1):2-11, 2001.
- 2) 黒岩義五郎, 村井由之, 三田哲司 : 油症患者における神経学的所見. 福岡医誌, 60 : 462-463, 1969.
- 3) 岩下宏, 志田堅四郎, 増田義人 : 慢性油症患者における頭痛, 四肢異常感と血中 PCB. 福岡医誌, 68 : 139-144, 1977.
- 4) 古谷博和, 大八木保政, 山田猛, 他 : 36 年以上経過した油症患者における神経症候. 福岡医誌, 96: 152-156,

- 2005.
- 5) 申 敏哲, 行平 崇, 小牧龍二, 他:感覚評価を用いたベンゾピレン投与ラットに対するケイヒの効果検討. 福岡医誌, 112(2) : 155-163, 2021.
 - 6) 小牧龍二, 行平崇, 福永貴之, 他:ベンゾピレンの投与による感覚障害モデルラットに対する Vitamin B2 関連物質 β -NMN の効果検討. Journal of Kumamoto Health Science University, 20 : 01-10, 2023.
 - 7) 蜂須賀研二:自由走行がラットの acrylamide neuropathy に及ぼす影響-いわゆる overwork weakness について - リハ医学, 20:241-250, 1983.
 - 8) Kimata Y, Ogawa K, Okamoto H, et al.: Efficacy of Japanese traditional (Kampo) medicine for treating chemotherapy-induced peripheral neuropathy: A retrospective case series study. World J Clin Cases. 4(10): 310-317, 2016.
 - 9) Andoh T, Kurokawa Y, Kato M, et al.: Local preventive effects of shakuyakukanzoto and paeoniflorin external gel on paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain in mice. Traditional & Kampo Medicine 9(3):186-191, 2022.
 - 10) 植田 弘師, 松本 みさき: ニューロメーターを用いた新しい知覚線維選択的侵害受容評価法. 日本薬理学雑誌, 131: 367-371, 2008.
 - 11) O'Neill J, Sikandar S, McMahon SB, et al.: Human psychophysics and rodent spinal neurones exhibit peripheral and central mechanisms of inflammatory pain in the UVB and UVB heat rekindling models. Pain, 156(9):16 66-1675, 2015.
 - 12) Bove GM, Delany SP, Hobson L, et al.: Manual therapy prevents onset of nociceptor activity, sensorimotor dysfunction, and neural fibrosis induced by a volitional repetitive task. Pain, 160(3):632-644, 2019.
 - 13) Uchi H, Yasumatsu M, Morino-Koga S, et al: Inhibition of aryl hydrocarbon receptor signaling and induction of NRF2-mediated antioxidant activity by cinnamaldehyde in human keratinocytes. J Dermatol Sci, 85 (1): 36-43, 2017.
 - 14) Michalek JE, Akhtar FZ, Arezzo JC, et al: Serum dioxin and peripheral neuropathy in veterans of Operation Ranch Hand. Neurotoxicol, 22(4): 479-490, 2001.
 - 15) Thömke F, Jung D, Besser R, et al: Cranial nerve function in workers exposed to polychlorinated dioxins and furans. Acta Neurol Scand, 106(3): 155-158, 2002.
 - 16) Zhu K, Zhu X, Liu S, et al: Glycyrrhizin Attenuates Hypoxic-Ischemic Brain Damage by Inhibiting Ferroptosis and Neuroinflammation in Neonatal Rats via the HMGB1/GPX4 Pathway. Oxid Med Cell Longev. 2022; 2022: 8438528.
 - 17) Kim MJ, Kang HH, Seo YJ, et al: Paeonia lactiflora Root Extract and Its Components Reduce Biomarkers of Early Atherosclerosis via Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects In Vitro and In Vivo. Antioxidants (Basel) 23;10(10):1507, 2021.
 - 18) Hong HZ, Lu X, Wu CS, et al: A

- review for the pharmacological effects of paeoniflorin in the nervous system. *Front Pharmacol.* 15;13:898955, 2022.
- 19) Lee YK, Roh SS. The Experimental Study of Glycyrrhiza uralensis on Wound Healing by Antioxidant Effect 大田大學校韓醫學研究所論文集. 25(1) :145-153, 2016.

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

小牧 龍二, 福永 貴之, ○申敏哲. 舌への感覚刺激が脳血管性認知症モデルラットの認知機能低下に及ぼす影響. 第58回日本作業療法学会札幌コンベンションセンター11月9.10. 2024年11月9日-10日.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

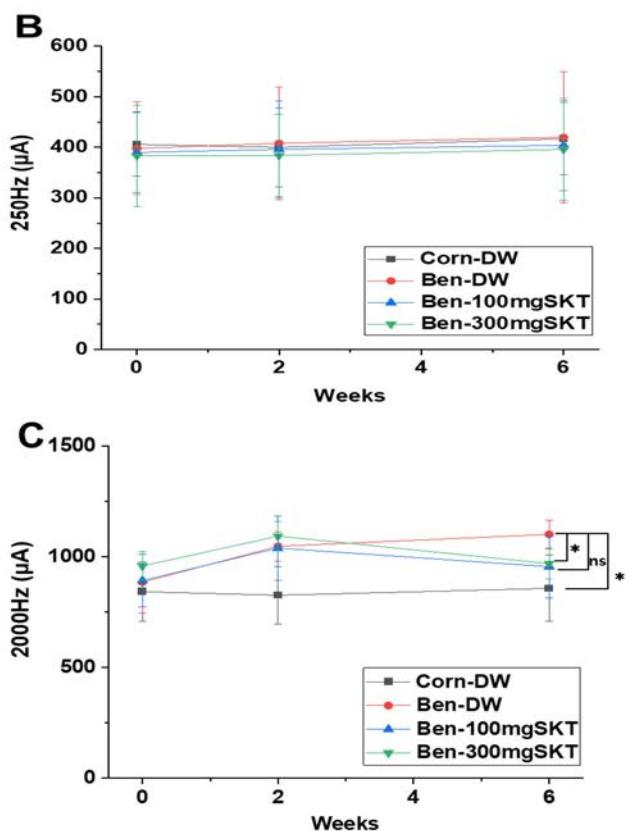
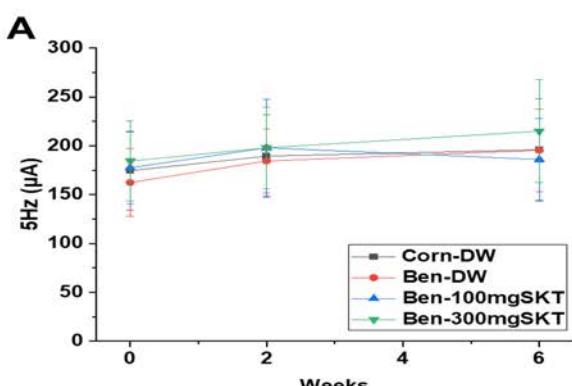
2. 実用新案登録

なし

3. その他

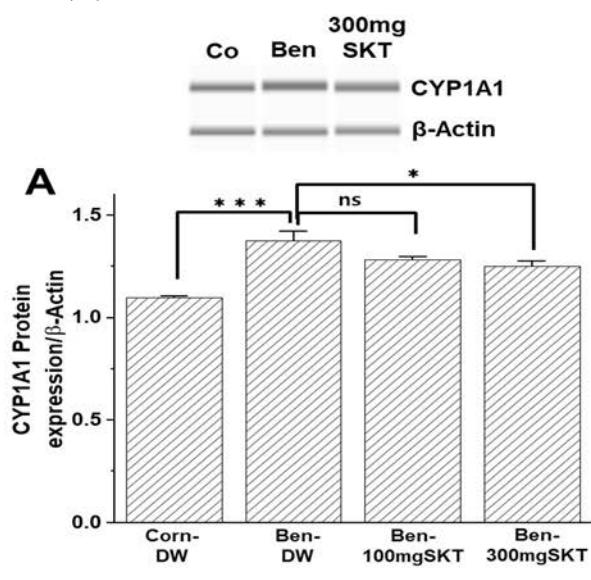
なし

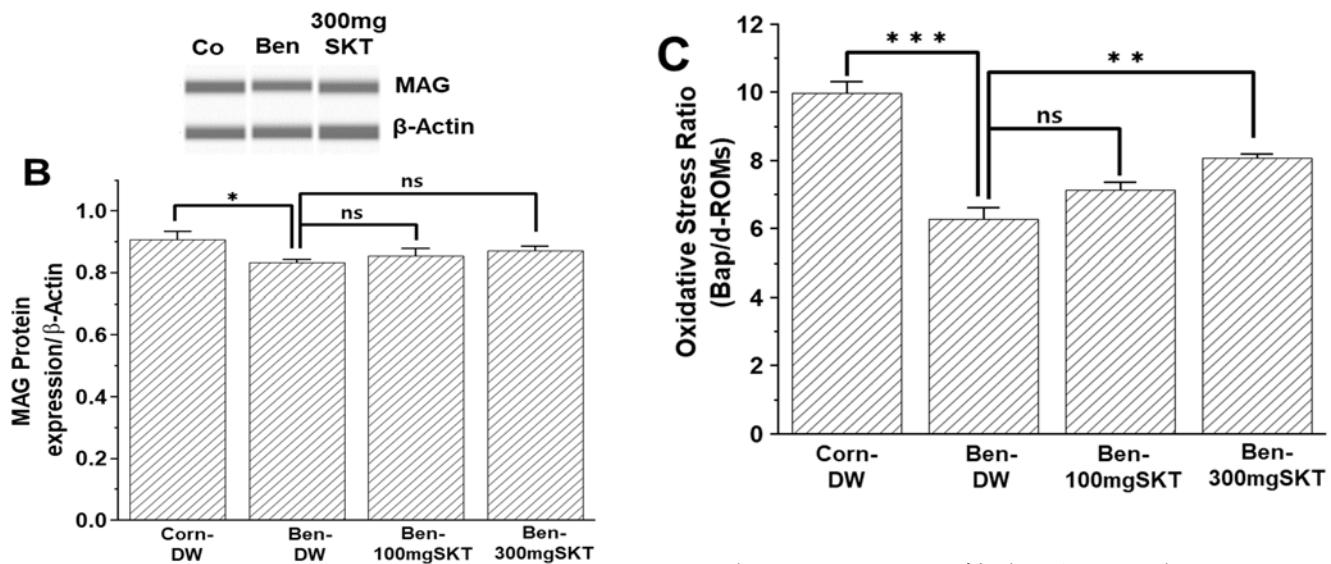
Fig 1. ベンゾピレンと芍薬甘草湯の投与がラットの感覚閾値の変化に及ぼす影響。



Corn, Corn-oil; DW, 蒸留水; Ben, 30mg/kg ベンゾピレン; SKT, 芍薬甘草湯。*, P<0.05; ns, not significant; Mean±S.D.

Fig 2. ベンゾピレンと芍薬甘草湯の投与がラットの CYP1A1、MAG タンパク質の発現に及ぼす影響。

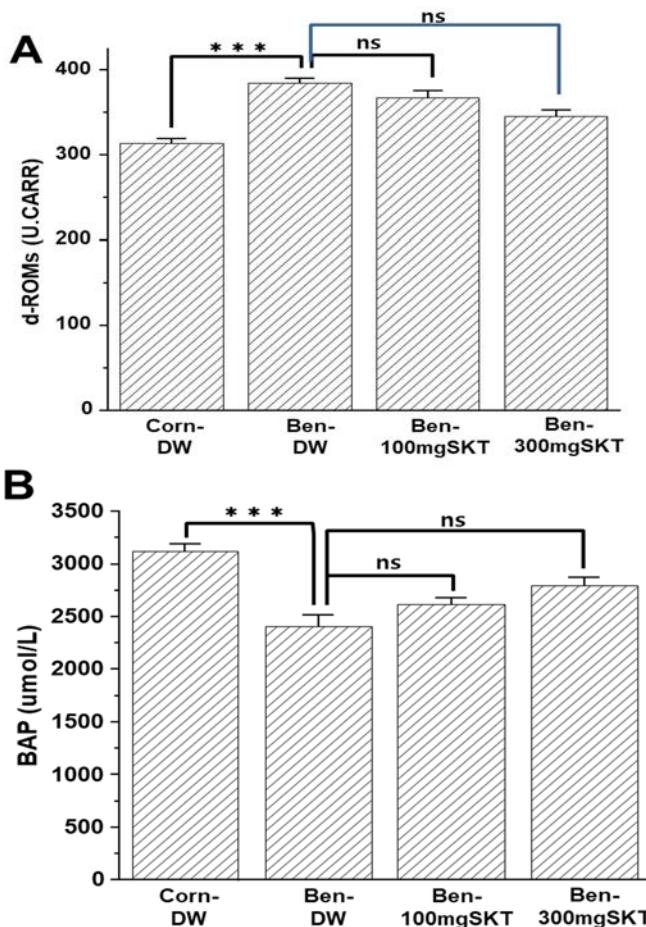




A、CYP1A1 タンパク質の変化; B、MAG タンパク質の変化; Co・Corn、Corn-oil; DW、蒸留水; Ben、30mg/kg ベンゾピレン; SKT、芍薬甘草湯; CYP1A1、cytochrome P450 (P450) 1A1; MAG、myelin-associated glycoprotein。*、 $P<0.05$; ***, $P<0.001$; ns、not significant; Mean±S.E.

A、酸化ストレス。B、抗酸化力。C、酸化ストレス度; Corn、Corn-oil; DW、蒸留水; Ben、30mg/kg ベンゾピレン; SKT、芍薬甘草湯; *、 $P<0.05$; ***, $P<0.01$; ***, $P<0.001$; ns、not significant; Mean±S.E.

Fig 3. ベンゾピレンと芍薬甘草湯の投与がラットの酸化ストレス度に及ぼす影響。



分担研究報告書

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin による出生児の性未成熟の機構解析：脳の性分化と生殖腺の発達に対する芳香族炭化水素受容体の寄与

研究分担者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院細胞生物薬学分野 准教授

研究要旨

思春期芳香族炭化水素受容体 (AHR)欠損ラットにおいて精巣成長関連因子の発現に変動が見られたことから、本年度は AHR 欠損ラットの胎児期の精巣におけるそれら種々の因子についての解析を行った。解析の際、野生型と AHR 欠損型の比較を行うだけでなく、妊娠母体に gestational day (GD)15 で 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) を経口投与し、GD20 でサンプリングを行うことでダイオキシンによる次世代毒性についても検討を行った。その結果、AHR 欠損により精巣や精子の形成に関わる因子である FGF (fibroblast growth factor) およびその受容体である FGFR (FGF receptor) に関して、思春期では FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 は mRNA 発現量が増加、FGF9 は mRNA 発現量が減少していた (R5 年度報告)。一方、胎児期においては、FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 は mRNA 発現量が減少、FGF9 は mRNA 発現量が増加と逆向きの変動が起こっていることが明らかとなった。また、胎児期の FGF 類の発現量に関しては TCDD による変動は見られなかった。加えて、コレステロールのミトコンドリアへの輸送に関与する steroid genic acute regulatory protein (StAR) やテストステロン合成酵素についても胎児精巣で解析を行ったところ、StAR や 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (3 β -HSD) には TCDD により有意ではないものの抑制傾向があった。StAR は AHR 欠損により野生型の発現レベルより低下する傾向があり TCDD 依存性の変動はなくなった。3 β -HSD については、AHR 欠損の影響は明確ではなかった。野生型において胎児精巣 17 β -HSD、CYP11A1、CYP17 は、TCDD により有意に mRNA レベルが低下した。また、AHR 欠損により、TCDD による抑制作用が認められなくなった。従って、17 β -HSD、CYP11A1、CYP17 は、AHR 依存的な変動をしていることが明らかとなった。胎児期のテストステロン合成酵素の発現低下には AHR が関与し、これが TCDD 母体曝露による胎児期のテストステロン低下、出生後の性未成熟に関与することが示唆された。

A. 研究目的

妊娠期のダイオキシン曝露による性未成熟等の出生児発育障害は、低用量で発現し、影響が長期間持続するため問題である (1)。当教室では、最強毒性ダイオキシンである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD; 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、経口) の妊娠ラットへの曝露により、出生前後の限定された時期に

脳下垂体 luteinizing hormone (LH) が低下し、これを起点として成長後の性未成熟が固着することを報告している (2, 3)。更に、別の脳下垂体ホルモンである 成長ホルモンの発現も TCDD 母体曝露により胎児期に減少させ、これと付随して低体重や低体長が生じることも見出している (4, 5)。多くのダイオキシン毒性発現には、aryl

hydrocarbon receptor (AHR) 活性化が重要であるが (6)、周産期における胎児/新生児脳下垂体の LH 合成、精巣での性ホルモン合成については、未解明な点が多い。また、発達過程、思春期における精巣と性ホルモン合成への AHR の関与については、分かっていない。

芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor, AHR) は、細胞質に存在するリガンド活性化型の転写因子である。リガンドと結合することで活性化され核内に移行する。核内に移行した AHR は、AHR nuclear translocator (Arnt) とヘテロダイマーを形成し、xenobiotic responsive element (XRE) に結合して、標的遺伝子の転写制御を行う (7)。AHR は全身の組織に発現し、この転写制御を介して、薬物代謝経路及び毒性発現経路を仲介する。

これまで行われた AHR 欠損動物を用いた研究から、AHR は脳 (8)、肝臓 (9)、腸 (10)、生殖腺 (11)、様々な組織において重要な役割を果すと考えられている。その中でも、生殖腺は生殖機能の発達に重要であり、生殖機能は動物種の繁殖、生存にとって必要不可欠であるため、その機構の解明は非常に重要である。AHR 欠損が生殖腺に与える影響として、雌の卵巣の矮小化、性周期の異常、卵胞発達の異常、排卵数の低下など、卵巣への様々な影響が見られている (12)。その機構として、AHR 欠損によりアロマターゼの転写が抑制されることが考えられている (13)。一方、雄では、AHR が、老齢期での精子機能の老化に寄与することが示唆されているが (11)、発達過程における AHR の機能に関しては、まだ報告されていない。

当研究室では、AHR 欠損 (KO) ラットを作成し、ダイオキシンによる肝毒性発現における AHR の関与について研究を行っている (14)。また、同ラットを用いて、ダイオキシン非投与条件下においても、AHR 欠損による影響が解析されている。

その中で、成熟期における精巣の機能低下や形態学的異常、さらに交尾行動における異常が確認された (平成 27 年度分担研究報告)。また、胎児期において、脳下垂体ホルモンである LH β および、性ステロイド合成の律速過程の中心的役割を担う StAR (steroidogenic acute-regulatory protein) の mRNA 発現が AHR 欠損により、胎生 20 日 (gestational day 20, GD20)において低下することが確認されたことから (15)、AHR には胎児期の性ステロイド合成を介して性成熟および生殖機能に重要な役割があることが示唆された。これまでの当研究室の研究成果から、AHR 欠損ラットでは上述のように雄の生殖機能の低下が顕著であることが示唆されている。しかし、その機構には未だ不明な点が多く残されている。平成 30 年度および令和元年度の検討により、WT と AHR ヘテロ欠損雄胎児間で AHR の LH β の XRE 配列への結合能に有意な差は見られなかった。一方、GD18において脳下垂体の LH 産生細胞への分化に関与する因子、GATA2, Pitx1 および Prop1 の発現の有意な低下を認めた。AHR は胎児期の脳下垂体に作用し LH 産生細胞への分化に重要な役割を示す可能性が浮上した。また、令和 2 年度、AHR 欠損が PND28 において脳の雄優位の性的二型核 (sexually dimorphic nucleus of the preoptic area, SDN-POA) の体積を有意に低下させることも示唆された。思春期の生殖腺の発達への寄与と作用機構の解明を目指し、testosterone 低下の機構について検証する中で、精巣重量の低下を見出した。

線維芽細胞成長因子 fibroblast growth factor (FGF) は、発生、細胞増殖、代謝調節、創傷治癒および修復など、複数の生物学的機能を有していることが報告されている (16)。FGF は精巣での発現が確認されており (16)、FGF はその受容体である FGF 受容体 (FGFR) に作用して効果を発揮する (17)。このため、FGF 及び FGFR の

発現への AHR-KO の影響を調べた。その結果、精巣に発現する FGF1, FGF2, FGFR1 及び FGFR3 すべてにおいて AHR-KO ラットで有意に増加することが明らかになった。これらのことから、精巣重量の低下への代償的応答として、精巣の成長に関与する FGF 及び FGFR の発現が増加することが強く示唆された。

R3 年度は、FGF の機能に重要な HSPG (heparan sulfate proteoglycan) とその関連遺伝子 glypican および syndecan について検討したところ glypican の一部の分子種に有意な抑制が観察された。R4 年度は、ステロイドホルモンの合成に関与する酵素およびステロイド硫酸化の調節に重要な酵素について検討した。また、HSPG の硫酸化酵素に着目するとともに、これらに共通な硫酸供与体 PAPS の合成酵素 mRNA レベルについても変動を明らかにした。

これらの結果はすべて精巣における解析であり、他の臓器でも同様の変動が起こるは明らかになっていない。そこで R5 年度は、これらの AHR 欠損による影響が他のステロイド産生臓器である副腎や上位制御器官の視床下部でも起こりうるのか、またその機構を明らかにすることを目的として研究を行い、精巣特異的であることを見出した。

R6 年度は、野生型と AHR 欠損型の胎児期での FGF 及び FGFR の発現の比較を行うだけでなく、TCDD による次世代毒性についても検討を行い、GD20 胎児精巣でのテストステロン合成系酵素の mRNA 発現を調べた。

B. 研究方法

1. 動物実験

AHR-KO ラットは、XTNTM TAL nuclease ベクターを用いて作出した (14)。遺伝子型の判別は、出生児の尾あるいは耳小片よりゲノム DNA を抽出し、AhR 遺

伝子をコードするプライマーを用いた PCR によって行った。

1-1. 児の AHR 遺伝子型間での比較

雌雄の AHR-Het ラットを一晩交配し、翌朝膣内に精子が確認された場合、その日を妊娠 0 日目とした。出生後の成熟に対する影響を調べるため、母ラットを自然に出産させたのち、生後 21 日において離乳させた。遺伝子型を判別したのち、継続飼育を行い、AHR-Het ラットを交配して、系統維持を行った。

1.2 ダイオキシン次世代影響

雌雄の AHR-Het ラットを一晩交配し、翌朝膣内に精子が確認された場合、その日を妊娠 0 日目とした。妊娠 15 日目に 1 µg/kg の TCDD を経口投与し、GD20 でサンプリングを行った。遺伝子型の判別は胎児の尾よりゲノム DNA を採取し、AHR 遺伝子をコードするプライマーを用いた PCR によって行った。これらにより、野生型と AHR 欠損型の比較を行うだけでなく、ダイオキシンによる次世代毒性についても検討を行った。胎児より肝臓、視床下部、下垂体、精巣および血液を採取した。

2. リアルタイム RT-PCR 法

組織より total RNA を抽出したのち、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ社) を用いて cDNA を合成した (18)。これを鑄型とし、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies 社) を用いて目的タンパク質の mRNA 発現変動を解析した。解析は、ターゲット mRNA の threshold cycle (Ct) 値を β-actin mRNA の Ct 値で補正した。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第 12 条第 4 号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認の

もとに、動物の苦痛を可能な限り軽減して実施した。動物実験承認番号：A22-068 及び A24-137-0。遺伝子組換え実験は、「九州大学遺伝子組換え実験安全管理規則」第 10 条第 2 項の規定に基づき、委員会の承認を得て行った（承認番号：1-9 及び 6-7）。

C. 研究結果

AHR 欠損により精巣や精子の形成に関わる因子である FGF (fibroblast growth factor) およびその受容体である FGFR (FGF receptor) に関して、思春期では FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 は mRNA 発現量が増加、FGF9 は mRNA 発現量が減少していた（R5 年度報告）。一方、R6 年で検討した胎児期においては、AHR 欠損により精巣の FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 は mRNA 発現量が減少、FGF9 は mRNA 発現量が増加と逆向きの変動が起こっていることが明らかとなった（Figs. 1, 2）。また、胎児期の精巣 FGF 類の mRNA 発現レベルに関しては TCDD による変動は見られなかった。加えて、テストステロン合成酵素 mRNA レベルについても胎児精巣で解析を行ったところ、StAR や 3 β -HSD には TCDD により有意ではないものの抑制傾向があった。StAR は AHR 欠損により野生型の発現レベルより低下する傾向があり TCDD 依存性の変動はなくなった（Fig. 3）。3 β -HSD については、AHR 欠損の影響は明確ではなかった。野生型において胎児精巣 17 β -HSD、CYP11A1、CYP17 は、TCDD により有意に mRNA レベルが低下した。また、AHR 欠損により、TCDD による抑制作用が認められなくなった（Fig. 3）。従って、17 β -HSD、CYP11A1、CYP17 は、AHR 依存的な変動をしていることが明らかとなった。

D. 考察

精巣や精子の形成に関わる因子である

FGF (fibroblast growth factor) およびその受容体である FGFR (FGF receptor) に関して、AHR 欠損により、FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 は胎児期では減少（Fig. xx）、思春期では増加（R5 年度報告）、老齢期では有意差がない（R5 年度報告）という結果になった。思春期において AHR 欠損による精巣重量の減少や精子数の減少が当研究室の先行研究で明らかになっていることから、胎児期及び出生前後で FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 の発現量が減少し、そのフィードバックとして思春期にこれらの発現量が増加した可能性が考えられる。今後は出生後から思春期にかけての FGF 類の解析を行う必要があるだろう。

また、TCDD 低用量母体曝露による胎児精巣での StAR や CYP17 の GD20 での発現低下は、先行研究で明らかになっており、AHR 依存性についても検証されており（15）、その影響を支持した。本研究でも、StAR については、AHR 欠損により構成的な発現レベルが低下する傾向があった（Fig. 3）。以前の検討で AHR 欠損により構成的 LH の mRNA レベルが有意に半分程度まで低下することが分かっており、これが、性未成熟につながることを明らかにしている（15）。従って、本研究で観察された AHR 欠損による胎児期精巣 StAR mRNA 発現への影響は先行研究における下垂体 LH β の mRNA 発現変動と合致する。

また、胎児精巣の CYP17 だけでなく、CYP11A1, 3 β -HSD の mRNA 発現が TCDD 依存的に有意に抑制され、AHR 欠損ではこの抑制作用が認められなかったことから、これらの構成的な発現には AHR は影響しないと推定され、TCDD 依存的な抑制に AHR が関与することが強く示唆された。ラット胎児精巣におけるテストステロン合成系酵素のうち、CYP11A1, 3 β -HSD の発現に AHR が関与することを示したのは、筆者の知る限り本研究が初めてである。

E. 結論

- 1) AHR 欠損により胎児期においては、
FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR3 は mRNA 発現量が減少、FGF9 は mRNA 発現量が増加していることが明らかとなった。
- 2) 胎児期の FGF 類の発現量に関しては TCDD による変動は見られなかった。
- 3) コレステロールのミトコンドリアへの輸送に関与する StAR やテストステロン合成酵素についても胎児精巣で解析を行ったところ、StAR や 3 β -HSD には TCDD により有意ではないものの抑制傾向があった。StAR は AHR 欠損により野生型の発現レベルより低下する傾向があり TCDD 依存性の変動はなくなった。
- 4) 野生型において胎児精巣 17 β -HSD、CYP11A1、CYP17 は、TCDD により有意に mRNA レベルが低下した。また、AHR 欠損により、TCDD による抑制作用が認められなくなった。従って、17 β -HSD、CYP11A1、CYP17 は、AHR 依存的な変動をしていることが明らかとなった。

AHR は、TCDD により活性化され、その次世代毒性に関与するが、そのような影響が現れるのは、AHR が構成的条件下に、性成熟において重要な役割を担っているためだと考えられる。TCDD 非依存的な胎児期の FGF や FGFR への AHR 欠損の影響がこれに当たると考えられ、精巣の働きや精子形成への FGF 類の重要性とも合致する。また、胎児期のテストステロン合成系への影響のように、TCDD 依存的かつ AHR 依存的なものもあることも分かった。当研究室の先行研究で観察された影響、すなわち AHR 欠損させた場合に、ダイオキシン低用量暴露と類似の性未成熟作用が現れることから、ダイオキシンが AHR の構成的働きを搅乱させることを示唆しているのであろう。

F. 研究発表

1. 第 41 回日本薬学会九州山口支部大会 (2024 年 11 月 23 日、熊本)。

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

H. 参考文献

- 1) Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. *Crit Rev Toxicol*, **23**: 283-335 (1993).
- 2) Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, Kagawa T, Ishida T, Ishii Y, Yamada H. *Endocrinology*, **147**: 927-936 (2006).
- 3) Takeda T, Matsumoto Y, Koga T, Mutoh J, Nishimura Y, Shimazoe T, Ishii Y, Ishida T, Yamada H. *J Pharmacol Exp Ther*, **329**: 1091-1099 (2009).
- 4) Hattori Y, Takeda T, Taura J, Ishii Y, Yamada H. *Endocrine*, **47**: 572-580 (2014).
- 5) Taura J, Takeda T, Fujii M, Hattori Y, Ishii Y, Kuroki H, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Yamada H. *Toxicol Appl Pharmacol*, **281**: 48-57 (2014).
- 6) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. *Toxicol Appl Pharmacol*, **140**: 173-179 (1996).
- 7) Mimura J, Fujii-Kuriyama Y. *Biochim Biophys Acta*, **1619**: 263-268 (2003).
- 8) Latchney SE, Hein AM, O'Banion MK, DiCicco-Bloom E, Opanashuk LA. *J Neurochem*, **125**: 430-445 (2013).
- 9) Harrill JA, Hukkanen RR, Lawson M, Martin G, Gilger B, Soldatow V, Lecluyse EL, Budinsky RA, Rowlands JC, Thomas RS. *Toxicol Appl Pharmacol*, **272**: 503-518 (2013).
- 10) Ikuta T, Kurosumi M, Yatsuoka T, Nishimura Y. *Exp Cell Res*, **343**: 126-134 (2016).
- 11) Baba T, Shima Y, Owaki A, Mimura J,

- Oshima M, Fujii-Kuriyama Y, Morohashi K. *Sex Dev*, **2**: 1-11 (2008)
- 12) Barnett KR, Tomic D, Gupta RK, Miller KP, Meachum S, Paulose T, Flaws JA. *Biol Reprod*, **76**: 1062-1070 (2007).
- 13) Baba T, Mimura J, Nakamura N, Harada N, Yamamoto M, Morohashi K, Fujii-Kuriyama Y. *Mol Cell Biol*, **25**: 10040-10051 (2005).
- 14) Takeda T, Komiya Y, Koga T, Ishida T, Ishii Y, Kikuta Y, Nakaya M, Kurose H, Yokomizo T, Shimizu T, Uchi H, Furue M, Yamada H. *J Biol Chem*, **292**: 10586-10599 (2017).
- 15) Hattori Y, Takeda T, Nakamura A, Nishida K, Shioji Y, Fukumitsu H, Yamada H, Ishii Y. *Biochem Pharmacol*, **154**: 213-221 (2018).
- 16) Nies VJ, Sancar G, Liu W, van Zutphen T, Struik D, Yu RT, Atkins AR, Evans RM, Jonker JW, Downes MR. *Front Endocrinol (Lausanne)*, **6**: 193 (2015)
- 17) Eswarakumar VP, Lax I, Schlessinger J. *Cytokine Growth Factor Rev*, **16**: 139–49 (2005)

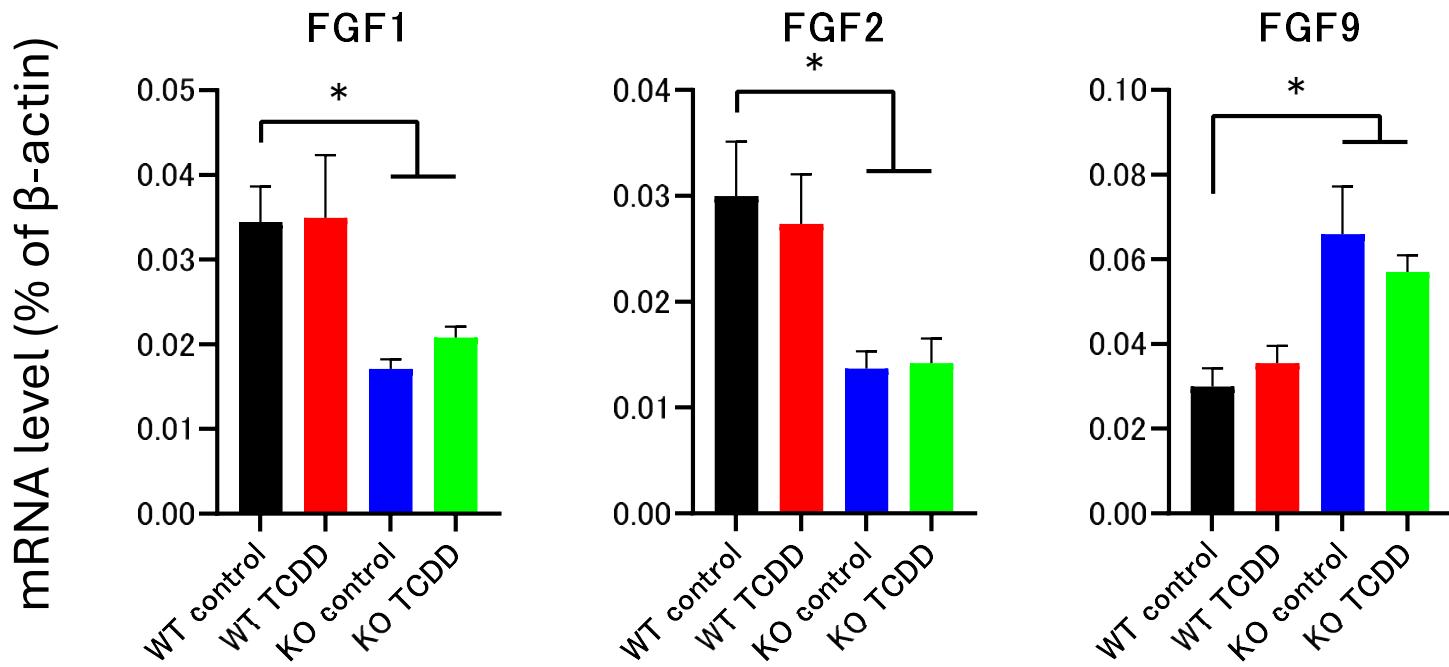


Fig. 1 The testicular expression levels of the FGF mRNA level in AHR deficient rat fetuses. Each bar represents the means \pm S.E.M. of 4-5 rats. Significantly different from the control: * $p<0.05$.

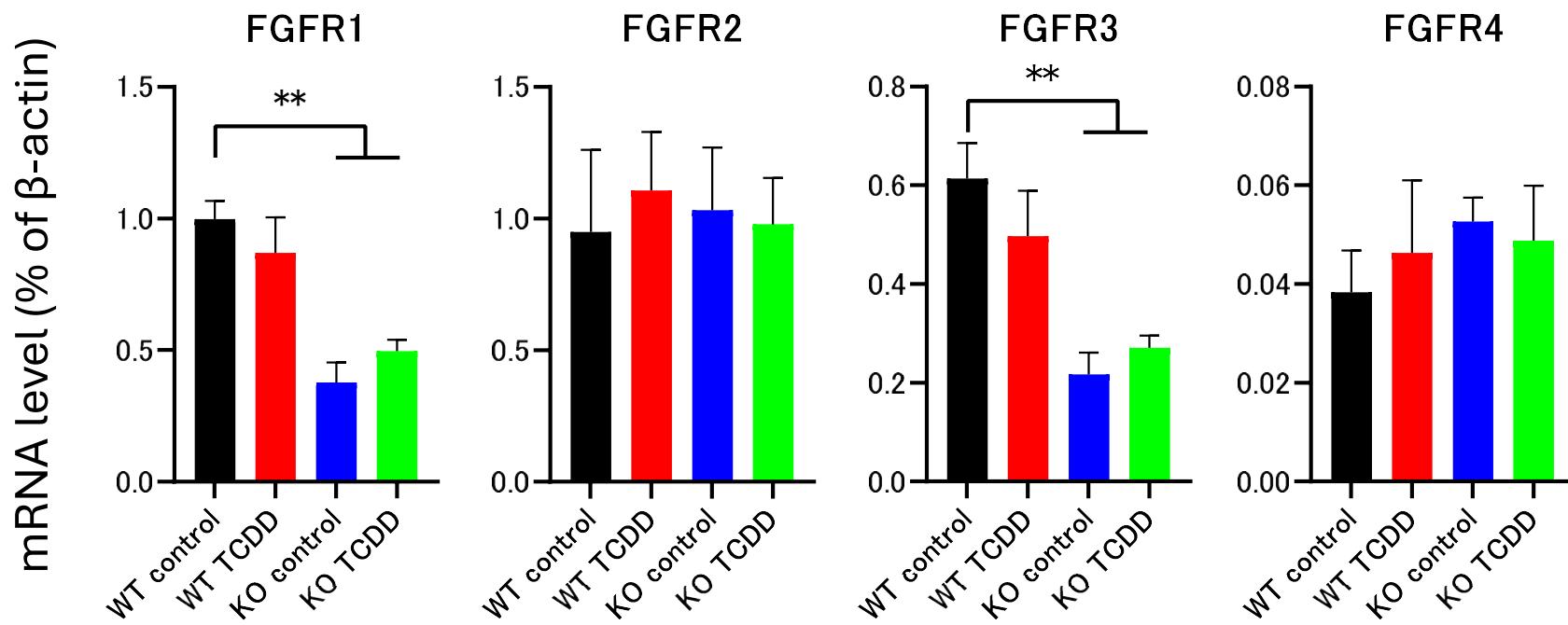


Fig. 2 The testicular expression levels of the FGF-receptor mRNA in AHR deficient rat fetuses. Each bar represents the means \pm S.E.M. of 4-5 rats. Significantly different from the control: **p < 0.01.

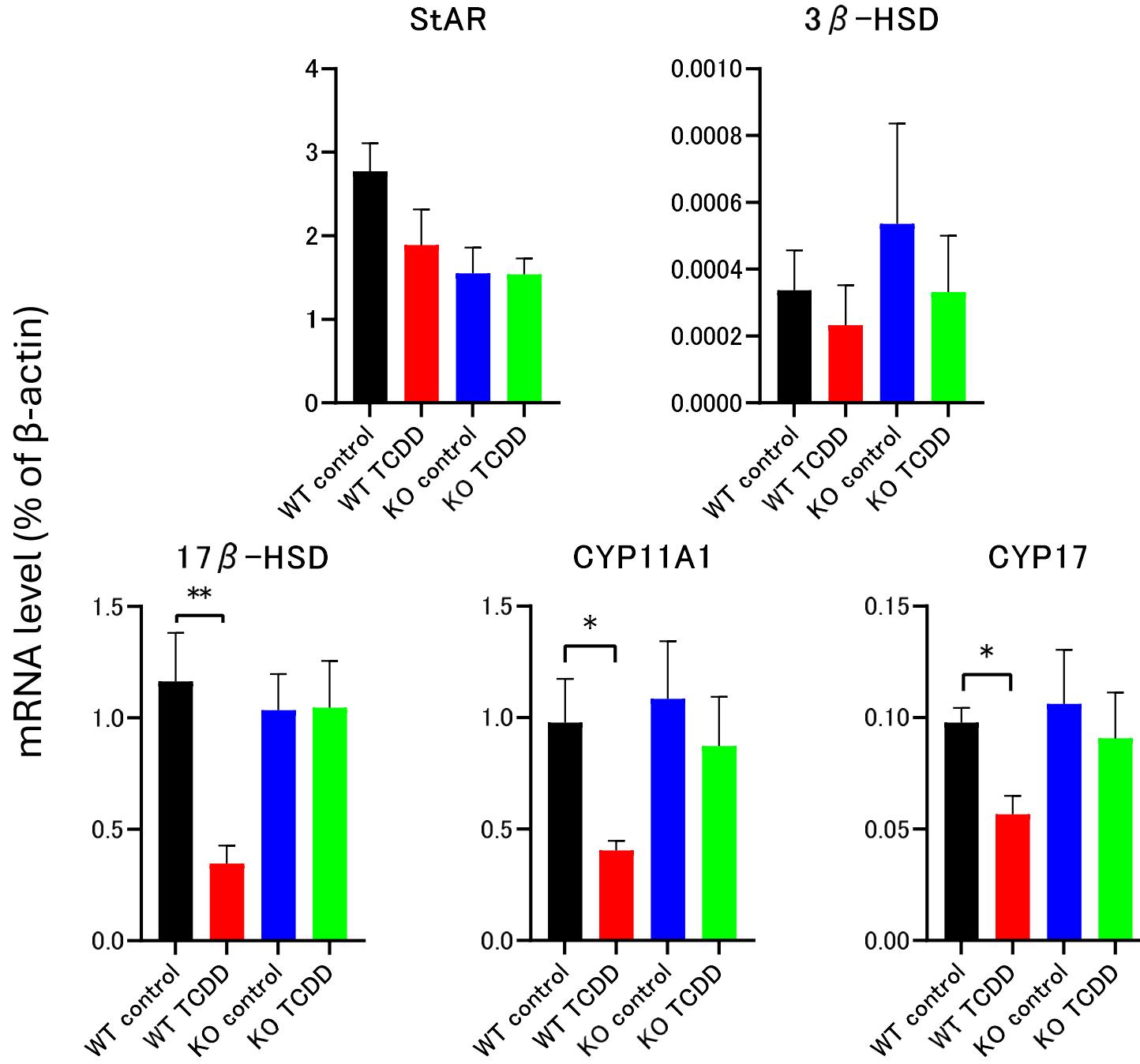


Fig. 3 The testicular expression levels of the mRNA for enzymes involved in testosterone production in AHR-deficient rat fetuses. Each bar represents the means \pm S.E.M. of 4-5 rats. Significantly different from the control: * p <0.05, ** p <0.01.

分担研究報告書

ヒト末梢感覺神経における AHR シグナルを介した皮膚炎の制御機構の解明

研究分担者 山村 和彦 九州大学病院油症ダイオキシン研究センター 助教

研究要旨 ヒト末梢感覺神経細胞を Tapinarof で刺激したところ、Nrf2 といくつかの共通点を持つ転写因子 NFE2 が誘導された。この転写因子は神経細胞における役割はまだあまりよくわかっておらず、神経における AHR シグナルの働きを解明する上で新たな標的となりうる可能性がある。

A. 研究目的

油症は PCB 類とダイオキシン類の混合中毒であり、ダイオキシンの代表的な受容体の一つである AHR を介してさまざまな皮膚障害を引き起こすことが知られている。加えて油症患者では末梢感覺の低下・しびれなどの感覺障害の頻度も健常人に比べて有意に多い。近年の研究では AHR を過剰発現させたマウスでは皮膚の表皮内神経伸長が促され、皮膚炎が惹起されるという機序が明らかとなっている。また、研究者は昨年度の研究でヒト神経芽細胞株(SH-SY5Y)を AHR のリガンドである Benzo[a]pyrene(BaP)で刺激したところ、特徴的な遺伝子発現がみられるなどを明らかにした。今年度は同研究を発展させ、ヒト iPS 細胞から誘導された末梢神経細胞における AHR シグナルの役割を探求した。

B. 研究方法

ヒト iPS 細胞から誘導された末梢神経細胞を複数の AHR リガンドで刺激した。AHR は細胞内で転写因子 Nrf2(Nuclear Factor, Erythroid 2-Like 2; 別名 NFE2L2)を介して炎症を制御している。すなわち、酸化ストレス応答を誘導する物質: Benzo[a]pyrene(BaP)や、PM2.5 としても知られるディーゼル排気由来の粒子状物質 DEP (Diesel Exhaust Particles) によって炎症を増強する働きがある。一方で抗酸化作用のある物質: AHR モジュレータ

Tapinarof、内因性リガンドである IAId(Indole-3-aldehyde)では炎症を抑える働きがあることがわかっている。研究者は iPS 誘導性ヒト末梢神経を培養し、これらの物質で 6 時間刺激したのちに細胞を回収、mRNA を抽出し、RNA-seqencing で解析を行なった。

C. 研究結果

BaP、DEP、Tapinarof、IAId による刺激で Ahr や Nrf2 の発現は変わらなかったものの、NFE2 (Nuclear Factor, Erythroid 2)の発現が Tapinarof 刺激で大きく上昇することがわかった (Figure 1)。また、AHR の活性化を調べるため代表的な下流のターゲット遺伝子 CYP1A1 と CYP1B1 の発現も調べた。CYP1A1 の発現いずれの物質でも大きな差はなく誘導されていた。CYP1B1 は BaP で誘導され、そのほかの物質ではほとんど誘導されなかった。

D. 考察

Nrf2 と NFE2 は別の転写因子であるがいくつかの共通点を持つ。両者とも bZIP 型 (basic leucine zipper) 転写因子で、cap' n' collar (CNC) ファミリーに属している。また、両者とも small Maf タンパク (MafG、MafK など) とヘテロ二量体を形成し、DNA の binding motif に結合する。一方で発現細胞は異なっており、Nrf2 がさまざまな細胞にユビキタスに発現する一方で NFE2 は主に造血系細胞に発現し、

血小板・赤血球の分化に作用するとされている。今回、ヒト末梢神経において Tapinarof 刺激で NFE2 の発現がある程度の特異性を持って大きく誘導されたことは、Tapinarof が実臨床において炎症性皮膚疾患に対して非常に有用であることを鑑みても非常に興味深い。

E. 結論

ヒト末梢感覚神経細胞を Tapinarof 刺激行うことによって、Nrf2 といくつかの共通点を持つ転写因子 NFE2 が誘導された。この転写因子は神経細胞における役割はまだあまりよくわかっておらず、神経における AHR シグナルの働きを解明する上で新たな標的となりうる可能性がある。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

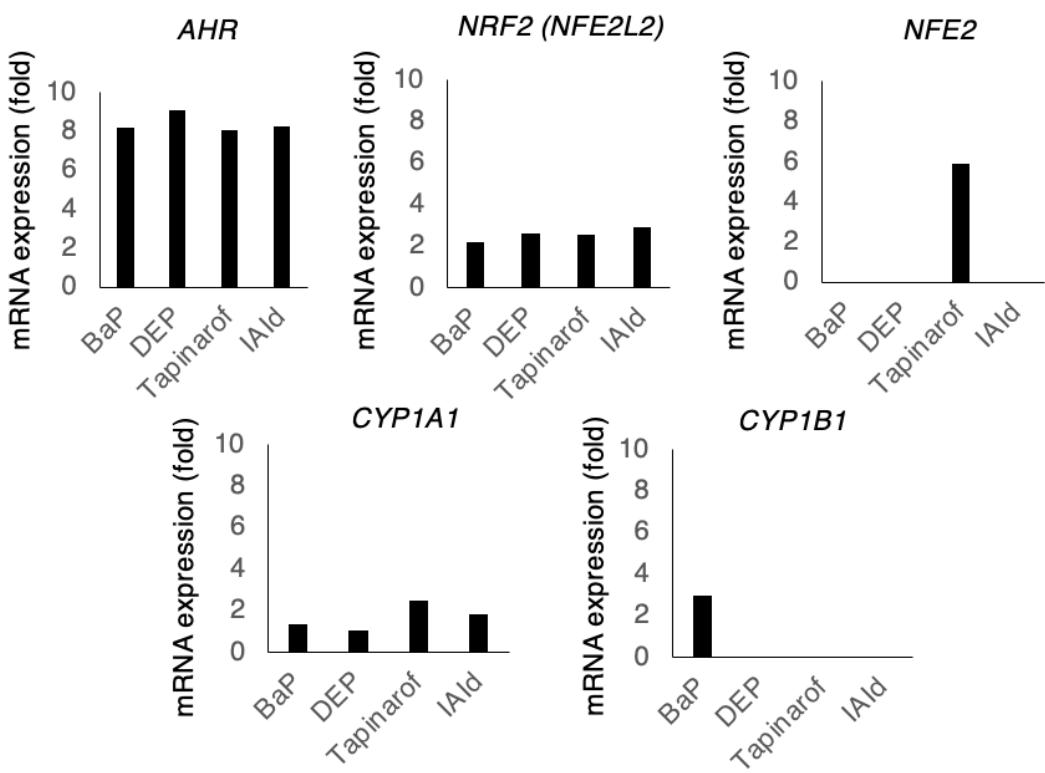


Figure 1

分担研究報告書

油症患者における皮膚ガス分析の検証

研究分担者 室田 浩之 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授

研究協力者 芦田 美輪 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教

研究要旨

油症患者の皮膚表面から採取した多彩な揮発性ガスを網羅的に分析し、油症の病態理解とダイオキシンの影響について非侵襲的に検討を行ってきた。昨年度は機械学習を用いたデータ解析と血中ダイオキシン濃度との関連を解析した結果、油症との関連が考えられるいくつかの成分を抽出した。今年度は被験者数を拡充して調査した結果、昨年に引き続き通常では検出されない成分を検出した。

A. 研究目的

皮膚ガスは皮表から放散される揮発性代謝産物を含む物質の総称である¹⁻³。私たちはダイオキシンが皮脂から排泄されることに着目し⁴、油症患者では皮膚ガス中にダイオキシンに関連する物質が含まれるのではないかと仮説を立て、検証を行ってきた。

昨年度は、油症認定患者2名と健常人ボランティア9名を解析し、油症との関連が考えられる化合物として、いくつかの飽和炭化水素類及び不飽和炭化水素類、酸、トリクロロメタンなどの含ハロゲン化合物、エステル等を抽出した⁵。昨年度の結果を検証するため、今年度は対象者を拡充し解析を行った。

B. 研究方法

対象: 油症認定患者 12 名、対照群として健常人ボランティア 10 名

方法: 安静、座位の状態で被験者の前腕から皮膚ガス回収器を用いて皮膚ガスを回収した。回収した皮膚ガスを用いてガスクロマトグラフィーを施行した。

解析: 無相関検定を行い、有意水準 1% で

相関があった皮膚ガス成分を抽出し、分子量、保持時間から推定される化合物を同定した。

本研究は長崎大学病院、五島中央病院の倫理審査委員会から承認され、すべての被験者に口頭でインフォームドコンセントを行い、文書による同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

患者群と対照群の間で有意差を認めた皮膚ガス成分のうち、有意差が大きかった化合物を表1に示す。含ハロゲン化合物であるトリクロロメタン、イオウ化合物であるメタンスルホニルクロリド、ノナンやドデカン、ウンデカンなどの炭化水素類、オクタノールやジクロロベンゼンなどの芳香族、ノナナールやデカナールなどのアルデヒド類、酸類であるノネン酸、エステル等を検出した。

D. 考察

有意差が大きかった化合物のうち、昨年度に引き続き検出されたものはトリクロロメタン、硝酸メチルエステル、ノナナール、ウンデカン、ジクロロベンゼンなどであった。この中で

もトリクロロメタン(クロロホルム)は、通常の皮膚ガス測定では検出されがちがなく、ダイオキシンと同じ塩素化合物に分類されるため、私たちはこの化合物に注目した。

トリクロロメタン(CHCl_3 :分子量 119.38)はハロゲン化アルキルの一種で、塗料やゴム加工などの溶剤、フッ素系樹脂などの合成原料のほか、消毒剤、麻酔剤などの医療薬に使われている⁶。体内に取り込まれる経路としては、消毒された水道水の摂取や工場、廃棄物処理施設から放出された大気の吸入、直接皮膚に触れて吸収される、などの経路が考えられている⁶。いったん体内に取り込まれたトリクロロメタンは、肝臓でチトクローム P450 酸化還元酵素ファミリーの中でも主に CYP2E1 の働きによって代謝され、代謝産物であるホスゲンや遊離基が人体に対し細胞損傷や毒性を示すと言われている⁷。これに対し、ダイオキシン類やPCB(ポリ塩化ビフェニル)の代謝は主に CYP1A1 や CYP1A2、CYP1B1 が関与し⁸⁻¹⁰、AhR(アリール炭化水素受容体)を介した酸化ストレスや遺伝子発現の変化が主な毒性メカニズムである¹¹。よって、クロロホルムとダイオキシンは同じ塩素化合物ではあるものの、化学構造と代謝経路が異なるため、相互変換や代謝産物にはなりえない。また、トリクロロメタンと AhR の関与も確認されていない。

皮膚ガスからトリクロロメタンが検出された理由の仮説として、CYP の機能異常が他の CYP ファミリーの遺伝子発現を誘導または抑制したのではないかと考えた。よく知られているものとしては、薬剤の代謝において重要な CYP3A4 の機能に異常をきたした場合、他の CYP の発現に影響を及ぼし、結果的に予期しない副作用や治療効果の減弱として現れる。つまり、ダイオキシンによる CYP1, 2 の過剰発現が CYP2E1 を抑制し、酸化還元反応が進まず、体内に残存したクロロホルム

を皮膚ガスが検知したのではないかと推測した。

一方で、油症患者 12 名はほぼ全員が T という地区に住んでいた。以前の我々の研究から、皮膚ガスは生活環境の影響を大きく受けることが判明している¹²。そこでこの地区的工場と水道水を調査したが、クロロホルムを排出する可能性のある施設はなく、水道水のクロロホルム濃度とトリクロロ酢酸濃度も基準値内であった。

トリクロロメタンが体内に蓄積された場合、その代謝産物であるホスゲンやラジカルが毒性を発揮するが⁷、これらの化合物が皮膚ガスから検出されるかどうかが今後の課題である。ただし、トリクロロメタンは体内での代謝が早いため、皮膚ガスとして検出されたとしても影響は少ないと考えられる。

E. 結論

昨年度に引き続き、トリクロロメタン、硝酸メチルエステル、ノナナール、ウンデカン、ジクロロベンゼン等が検出された。皮膚ガスとして検出されがないトリクロロメタンについては、更なる検証が必要であると考えた。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録

なし

謝辞

ご協力いただいた油症患者、健常ボランティアの皆様、および油症研究にお力添え頂いた関係者の皆様に深謝致します。

H. 参考文献

1. Tsuda T, Ohkuwa T, Itoh H. Findings

- of Skin Gases and Their Possibilities in Healthcare Monitoring. In *Gas Biology Research in Clinical Practice*, Yoshikawa T; Naito Y (Eds.) Krager: Basel, Switzerland, 2011, pp.125–132.
2. 関根嘉香、木村桂大、梅澤和夫 皮膚ガス測定は何に役立つか? においてかおり環境学会誌 48巻6号 410-417, 2017
 3. 津田孝雄、小松史哉、鈴木健志、伊藤宏、佐々木陽典、瓜田純久 皮膚ガスの疾病へのアプローチ 皮膚ガス2-エチルヘキサノールの由来と透析中における変動 安定同位体と生体ガス: 医学応用 12巻1号 45-54, 2020
 4. 古江増隆 油症における塩素ガスと色素沈着の発症機序とその対策 aryl hydrocarbon receptor の役割 福岡医学雑誌 111巻3号 124-136, 2020
 5. 室田浩之、芦田美輪 油症患者における皮膚ガス分析のデータマイニング、令和5年度総括・分担報告書 92-93, 2024
 6. 厚生労働省.職場のあんぜんサイト. <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/67-66-3.html>
 7. 環境省. 水・土壤・地盤・海洋環境の保全. <https://www.env.go.jp/content/900437688.pdf>
 8. Shinkyo R, Sakaki T, Ohta M, Inouye K. Metabolic pathways of dioxin by CYP1A1: species difference between rat and human CYP1A subfamily in the metabolism of dioxins. *Arch Biochem Biophys.* 2003 Jan 1;409(1):180–7. doi: 10.1016/s0003-9861(02)00366-1.
 9. Swigonska S, Molcan T, Nynca A, Ciereszko RE. The involvement of CYP1A2 in biodegradation of dioxins in pigs. *PLoS One.* 2022 May 26;17(5): e0267162. doi:10.1371/journal.pone.0267162.
 10. 渡邊昌 ダイオキシン類のヒト暴露状況の把握と健康影響に関する研究 厚生労働科学研究成果データベース. <https://mhlw-grants.niph.go.jp/project/7249>
 11. Céspedes MA, Galindo MI, Couso JP. Dioxin toxicity in vivo results from an increase in the dioxin-independent transcriptional activity of the aryl hydrocarbon receptor. *Plos One.* 2010 Nov 8;5(11): e15382. doi: 10.1371/journal.pone.0015382.
 12. 室田浩之、芦田美輪 油症患者における皮膚ガス分析の追加検証、令和4年度総括・分担報告書 45-47, 2023

表 1 : 患者群と対照群で有意差を認めた皮膚ガス成分

分子量	RT	化合物	分子量	RT	化合物
81,91	280	trichloromethane	67,79,81	490	2-hexyl octanol
91	290		91,109		
75,	390	Nitric acid phenyl ester	91	500	
			109	500	
57,69,70 ,84	410	Methane sulfonyl chloride	83,97	510	nonanal
			109,111	510	
70,81,85 98,109		Nonane, 3-methyl-5-propyl-	109	540	Trans-undecan-1-ol
			89,109	550	Benzene-1,2-dichloro-, 2-ethyl hexanol
91	440		115		
95	440		89	560	decanal
109	440		89	630	
57	450	Dodecane, 2,2,11,11-tetramethyl-	89,104	639	8-methyl-6-nonenoic acid
91	470		640		

RT: Retention Time 保持時間

分担研究報告書

PDE4 阻害と AhR シグナルのクロストークによる皮膚免疫の制御

研究分担者 辻学 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授

研究要旨 PDE4 阻害薬であるジファミラストは、AhR の核内移行を誘導した。しかし、ジファミラストによって核内移行した AhR には ARNT が結合していないことが免疫沈降法によって、明らかとなった。さらに、ジファミラストは AhR シグナルの活性化を示す CYP1A1 の発現誘導を抑制した。これらのことから、PDE4 阻害薬は AhR シグナルを抑制し、油症患者の症状緩和に有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎治療薬としての PDE4 阻害薬ジファミラストは、AhR シグナルを介した免疫制御が想定される。しかし、その具体的なシグナル経路や作用メカニズムは未解明である。本研究では、ジファミラストによる AhR の細胞内動態、特に AhR シグナルの活性化または抑制のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

ヒト表皮細胞を用いてジファミラスト処理後の AhR の細胞内局在を免疫蛍光染色法で評価し、免疫沈降法によって AhR と ARNT の結合を解析した。さらに、AhR シグナルの活性指標である CYP1A1 遺伝子の発現を RT-PCR 法を用いて定量的に解析し、ジファミラストが AhR シグナルに及ぼす影響を検討した。

(倫理面への配慮)

細胞実験であり適応されない。

C. 研究結果

ジファミラスト処理は AhR の核内移行を誘導した(図 1)。しかし、免疫沈降実験では、核内移行した AhR に ARNT が結合していないことが確認された(図 2)。また、AhR シグナル活性化を示す CYP1A1 遺伝子の発現はジファミラスト処理後にむしろ抑制され(図 3)、ジファミラストによる AhR シグナルの抑制的調節が示された。

D. 考察

ジファミラストは AhR を核内へ移行させるものの、転写活性に必要な ARNT 結合を伴わないため、CYP1A1 の発現誘導を抑制し、AhR シグナルを不活性化させる可能性が示唆された(図 4)。この特異的なメカニズムは AhR リガンドによる副作用の軽減につながる新たな知見と考えられる。

E. 結論

ジファミラストは AhR の核内移行を促進するが、ARNT 非結合型の AhR を形成し、結果として AhR シグナルを抑制することが明らかになった。これらのことから、PDE4 阻害薬は AhR シグナルを抑制し、油症患者の症状緩和に有用である可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsuji G, Yumine A, Kawamura K, Takemura M, Kido-Nakahara M, Yamamura K, Nakahara T. Difamilast, a Topical Phosphodiesterase 4 Inhibitor, Produces Soluble ST2 via the AHR-NRF2 Axis in Human Keratinocytes. Int J Mol Sci. 2024 Jul 19;25(14):7910.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1 ヒト表皮細胞においてジファミラストは AHR の核内移行を誘導した。

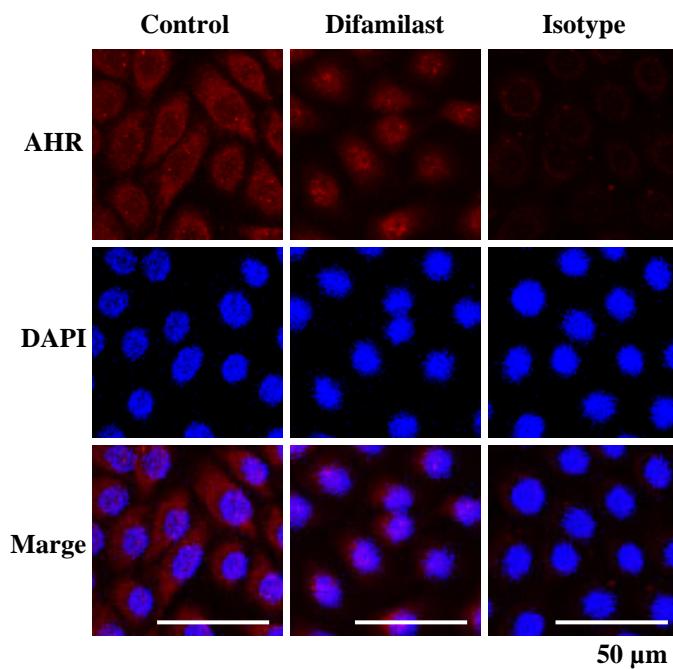


図 2 ジファミラストによって核内移行した AHR は ARNT と結合していない

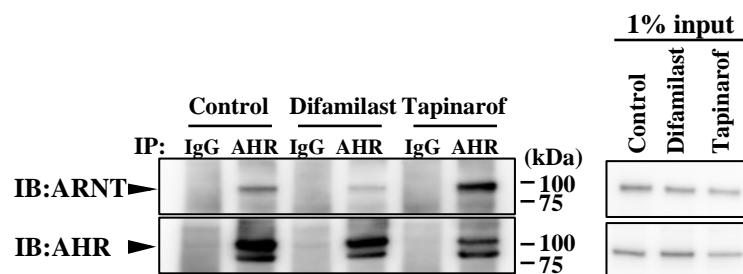


図 3 ジファミラストは CYP1A1 mRNA の発現を抑制する

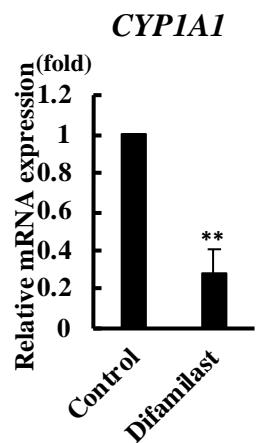
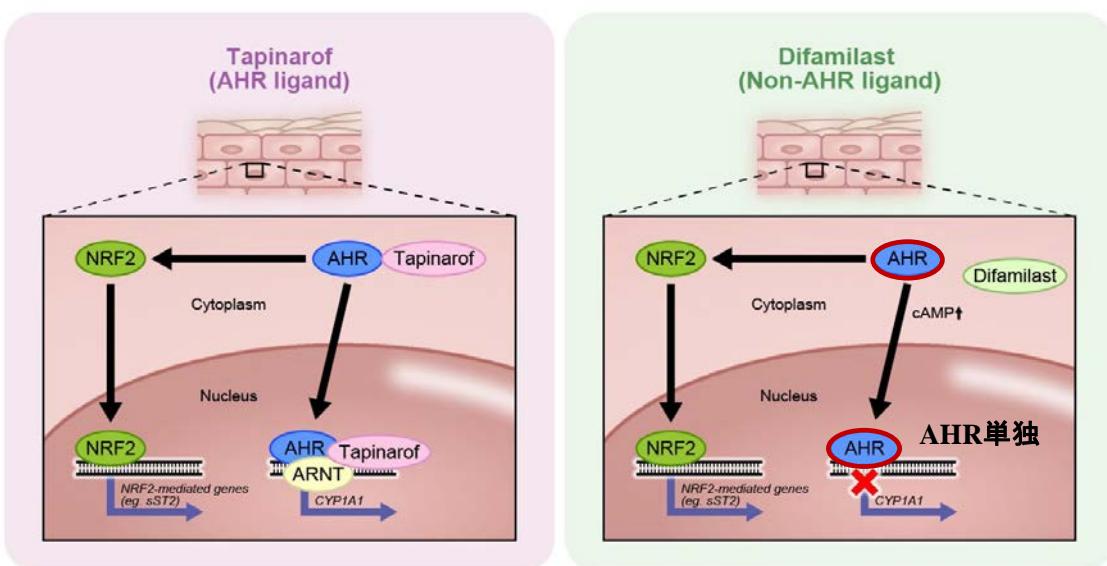


図4 PDE4 阻害薬による AHR シグナルに対する影響



AHRによる遺伝子発現が誘導される

AHRによる遺伝子発現が誘導されない

分担研究報告書

膠原病の皮疹形成機序における AHR の役割に関する研究

研究分担者 冬野 洋子 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 助教

研究要旨 膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの抗炎症作用とその機序を解明した。

A. 研究目的

膠原病の皮疹形成機序には未解明な点が多く、膠原病の病態への AHR の関与について検討を行っている。今回、膠原病様ケラチノサイトモデルに対する AHR リガンドの効果について検討を行った。

B. 研究方法

膠原病様ケラチノサイトモデル (Kuba-Fuyuno Y, J Dermatol. 2024) に対する AHR リガンドの効果の機序に対する検討を、qRT-PCR, ウエスタンプロット, 蛍光免疫染色、single cell RNA sequence で検討し、AHR, IL37 をノックダウンし、AHR 依存性かどうか、ウエスタンプロットで評価を行った。

(倫理面への配慮)

ヒト検体を用いた実験は後ろ向きの観察研究として、九州大学の倫理審査委員会にて承認されている。

C. 研究結果

AHR リガンドにより、膠原病様ケラチノサイトモデルで見られた抗炎症作用のメカニズムとして、一部の interferon regulatory factor の発現抑制が抗炎症作用の機序の一端であると考えられ、AHR 依存性である傾向がみられた。

D. 考察

今回の AHR リガンドによる抗炎症作用は、ダイオキシン類による炎症、油症症状

を緩和させる可能性も考えられ、ダイオキシン類による AHR 活性および酸化ストレスに対する拮抗作用と、抗酸化作用を示すかどうかについて検討予定である。

E. 結論

今回検討を行った AHR リガンドは、膠原病様ケラチノサイトに対して、抗炎症作用を示し、抗炎症作用の一部は AHR 依存性であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kuba-Fuyuno Y, Kido-Nakahara M, Tsuji G, Sakai S, Nakahara T. Proposal of a cutaneous lupus erythematosus-like keratinocyte model in vitro under local conditions using interferon-alpha and Poly I:C and its use in examining the therapeutic effects of tyrosine kinase 2 inhibitor. J Dermatol. 2024. Jul;51(7):1031-1033.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

2,4,6-三塩素置換型 PCB140 のラットにおける *in vivo* 代謝

研究分担者 太田 千穂 中村学園大学栄養科学部 准教授

研究協力者 古賀 信幸 中村学園大学 名誉教授

研究要旨 246型 PCB の 1 つである 2,3,4,2',4',6'-hexachlorobiphenyl (PCB140) の *in vivo* 代謝、すなわち吸収、代謝および排泄（糞中および尿中代謝物）について調べた。まず、PCB140 をラットに経口投与後、0~2 日目の糞中から、未変化体が投与量の約 5%が検出された（恐らく未吸収分）。この結果から、投与量の 95% は小腸から吸収されたものと推定された。また、ラット肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝と同様に、代謝物として M1 (3'-OH 体) が糞中から検出された。M1 は投与後 1 日目に最も多く、PCB140 投与量の 2.1%に相当する量が、2 日目には 0.6%に相当する量が排泄されていた。一方、PCB140 投与後 1 日目の尿中には、M1 をはじめ代謝物は全く検出されなかった。なお、投与後 4 日目の血中を調べたところ、ごく微量の未変化体が検出された。以上の結果から、PCB140 の代謝物は肝から胆汁を介して糞中へ排泄されること、また、245 型 PCB で高残留性の PCB138 よりは、はるかに代謝されやすいと予測された PCB140 であるが、実際には、生体内に吸収されても、一般の医薬品と異なり、代謝から排泄されるまでにかなりの時間を要することが明らかになった。

A. 研究目的

PCB は代表的な POPs の 1 つであるが、PCB 異性体のうち、特に 2,4,5-三塩素置換ベンゼン (245 型) あるいは 2,3,4,5-四塩素置換ベンゼンを有するものが、世界中のヒトの血液、脂肪組織および肝臓で高濃度検出されている。わが国でも、油症患者および健常者の血中 PCB 濃度が調べられ、両者ともに 245 型 PCB の PCB153、PCB180 および PCB138 が最も多いこと、さらに油症患者では健常者の 1.6~2.2 倍も多いことが報告されている¹⁾。

当研究室ではこれまでに、246 型 PCB の PCB155、PCB182 および PCB140 の代謝を、ラット肝ミクロソーム (Ms) を用いて調べ、その結果、いずれの PCB も主に代謝物 M1 (3-あるいは 3'-OH 体) を生成すること、さらに、phenobarbital (PB) 前処理ラット肝 Ms では、M1 の生成が、対応する 245 型 PCB に比べ、10~50 倍に著しく促進されることを明らかにした²⁻⁴⁾。この事実は、246 型 PCB 異性体が

ヒトや野生動物の組織から、ほとんど検出されない理由の 1 つと考えられる。そこで本年度は、このうち PCB140 のラットにおける *in vivo* 代謝、すなわち、吸収、代謝および排泄（糞尿中の代謝物）について調べた。

B. 研究方法

① 投与計画： 実験動物は Wistar 系雄性ラット（体重約 200 g）を 4 匹用いた。実験期間中は、ステンレス製代謝ケージにて個別にし、飼料は CE-2（日本クレア（株））を水とともに自由摂取させた。代謝実験室は、温度 23.0 ± 0.5°C、湿度 60 ± 5% に保持し、照明時間は 12 hr の暗期／明期サイクル（明期 7:00~19:00）とした。一週間馴化後、PCB140 を 50 mg/kg 体重（コーン油に溶解）で 1 回経口投与した。投与後、4 日間の糞と尿を採取し、4 日目に屠殺し、採血した。② 糞中代謝物： 粕は乾燥 (60°C、48 hr) 後、粉碎した。

糞粉末 (0.5 g)を acetone-*n*-hexane (2:1, v/v) で、超音波処理 (室温、10 min) および振盪機 (室温、30 min) で抽出後、3,000 rpm、15 分間遠心分離した (2 回抽出)。得られた上清は濃縮し、ジメチル硫酸にてメチル化後、PCB とその代謝物を *n*-hexane で抽出し、GC-ECD および GC-MS に付した。

② 尿中および血中代謝物：尿は HCl にて酸性にし、一定容量 (20 mL) に調整した。血液は、血清分離剤セパクリーン-A (栄研器材 (株)) に採取後、室温で 30 min 放置後、3,000 rpm、15 分間遠心分離して血清を得た。尿 (1.0 mL) または血清 (0.5 mL) は、chloroform-methanol (2:1, v/v) 1 mL と *n*-hexane 3 mL を加え、ボルテックス (室温、1 min) および振盪機 (室温、30 min) で抽出後、3,000 rpm、15 分間遠心分離した (2 回抽出)。その後、有機層を合わせて濃縮後、ジアゾメタンでメチル化し、以下同様に分析した。代謝物は PCB140 の検量線により定量した。なお、回収率を算出するため、内部標準物質として PCB208 を用い、補正した。

GC-ECD の測定条件は次の通りである。分析機器、GC-ECD (Agilent); カラム、DB-1 フューズドキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d.、0.25 μ m thick、J & W Scientific); キャリアーガス、高純度 N₂ (6.5 mL/min)；カラム温度、210°C；注入口温度、270°C；検出器温度、350°C。次に GC-MS の測定条件を示す。分析機器、GCMS-QP2010 (島津製)；カラム、DB-1 フューズドキャピラリーカラム (30 m × 0.25 mm i.d.、0.25 μ m thick, J & W Scientific 製)；キャリアーガス、He (1 mL/min)；カラム温度、70°C (1.5min) - 20°C/min - 230°C (0.5min) - 4°C/min - 280°C (5min)；注入口温度、250°C；検出器温度、230°C。

(倫理面への配慮)

ラットの屠殺に際しては、「中村学園大学における動物実験のための指針」を遵守し、苦痛をできるだけ軽減するため、セボフル

ランで麻酔後、頸動脈からの脱血により屠殺した。(承認番号 動倫 2022-2)

C. 研究結果

糞中代謝物の定量：未変化体 PCB140 が、投与後 1 日目と 2 日目の糞中に検出され (Fig. 2)、それぞれ 429.4 μ g (投与量の 4.5%) と 66.9 μ g (投与量の 0.7%) であった。これらはいずれも未吸収分と考えられる。これらの結果から、投与量の 95% は小腸から吸収されたものと推定された。一方、代謝物は *in vitro* 代謝と同様に、M1 (3'-OH 体) のみ検出された。M1 は投与後 1 日目に最も多く、その生成量は 197.6 μ g (投与量の 2.1% に相当) であった。投与後 2 日目は 53.1 μ g (投与量の 0.6% に相当) であった (Fig. 1, Table 1)。

尿中代謝物の検索：M1 をはじめ代謝物は、採取したすべての尿から検出されなかった。なお、4 匹中 2 匹から、投与後 1 日目に微量の未変化体が検出されたが、吸収された後、そのまま腎から尿中へ排泄されたとは考えにくい。

血中代謝物の検索：投与後 4 日目に未変化体がごく微量検出された。なお、代謝物は検出されなかった。

D. 考察

これまでの PCB の *in vivo* 代謝研究によると、置換塩素数が 4 個以上の PCB 異性体において、その代謝物はほとんどすべてが糞中から検出されており、尿中へは排泄されない。今回、PCB140 の *in vivo* 代謝を調べた結果、PCB140 代謝物は、*in vitro* 代謝物と同様に 3'-OH 体のみであること、さらに既報と同様に、糞中に排泄されることが明らかとなった (Fig. 2)。さらに、当初、ラット肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝の検討結果から、PCB140 は、比較的代謝されやすいと予想していたのであるが、実際には、代謝物 M1 の排泄は投与後 2 日間で約 3% と少なかった。PCB の場合、一般的

医薬品と異なり、生体内に吸収されても、代謝から排泄されるまでにかなりの時間を要するようである。

E. 結論

今回、PCB140 をラットに経口投与した結果、95%が小腸から吸収されること、代謝物は糞中に排泄されること、代謝物（3'-OH 体）の総量は投与量のほんの 3% であることが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Y. Fujii, Y. Kato, M. Miyatake, S. Akeda, S. Nagata, J. Ando, K. Katsumi, C. Ohta, N. Koga, K. Harada et al., Levels and spatial profile of per- and polyfluoroalkyl substances in edible shrimp products from Japan and neighboring countries; a potential source of dietary exposure to humans. *Environment International*, 2024-05 DOI: 10.1016/j.envint.2024.108685

2. 学会発表

- 1) 釘丸 萌, 杉村果奈, 古賀信幸, 太田千穂, ラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾームによる 5,6,7,3',4',5'-Hexamethoxyflavone (HexaMF) の代謝. 第 78 回日本栄養・食糧学会大会(福岡, 中村学園大学), 2024 年 5 月 24~26 日
- 2) 火山稜斗, 陳 宏斌, 太田千穂, 古賀信幸, 田中嘉孝, 石井祐次, ダイオキシン低用量母体曝露による児の発育抑制に対するノビレチンの改善効果. 児の CYP3A 発現亢進と成長ホルモン低下に対するノビレチンの改善効果. フォーラム 2024: 衛生薬学・環境トキシコロジー (宮城, 東北大学青葉山キャンパス他), 2024 年 9 月 4~5 日
- 3) C. Ohta, Y. Kato, Y. Fujii, K. Haraguchi,

O. Kimura, N. Koga, Comparison of metabolism of 2,2',3,4,4',6'-hexachlorobiphenyl (PCB140) and 2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl (PCB138) by rat and human liver microsomes. *Dioxin 2024* (Singapore, MECC), 2024 年 9 月 29~10 月 4 日

- 3) 釘丸 萌, 富田希望, 古賀信幸, 太田千穂, 5,6,7,3',4',5'-Hexamethoxyflavone (HexaMF) のラットにおける in vivo 代謝. 2024 年度 (公社) 日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および (公社) 日本食品科学工学会西日本支部 合同大会(長崎・長崎大学), 2024 年 11 月 9~10 日
- 4) 富田希望, 釘丸 萌, 古賀信幸, 太田千穂, ラットの肝ミクロゾームによる Scutellarein tetramethyl ether (5674'-TMF) の代謝. 2024 年度 (公社) 日本栄養・食糧学会九州・沖縄支部および (公社) 日本食品科学工学会西日本支部 合同大会(長崎・長崎大学), 2024 年 11 月 9~10 日
- 5) 火山稜斗, 陳 宏斌, 太田千穂, 古賀信幸, 田中嘉孝, 石井祐次, ダイオキシン低用量母体曝露による児の発育抑制に対するノビレチンの改善効果. 第 41 回日本薬学会九州山口支部大会(熊本, 崇城大学薬学部), 2024 年 11 月 23~24 日
- 6) 太田千穂, 木村 治, 藤井由希子, 原口浩一, 加藤善久, 古賀信幸, 潰瘍性大腸炎モデルラットにおけるノビレチンの生体内代謝. 日本薬学会第 145 年会 (福岡, 福岡国際会議場他), 2025 年 3 月 26~29 日

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

参考文献

- 1) T. Todaka, T. Hori, H. Hirakawa, J.

Kajiwara, D. Yasutake, D. Onozuka, T. Iida, M. Furue, Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident, *Chemosphere*, 74, 902-909 (2009).

- 2) 太田千穂, 藤井由希子, 原口浩一, 加藤善久, 木村 治, 遠藤哲也, 古賀信幸, 2,2',3,4,4',5,6'-七塩素化ビフェニル(CB182)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, *福岡医誌*, 108, 51-57 (2017).
- 3) 太田千穂, 山本健太, 加藤善久, 藤井由希子, 原口浩一, 木村 治, 遠藤哲也, 古賀信幸, 2,2',3,4',5,6,6'-七塩素化ビフェニル(CB188)のラットおよびモルモット肝ミクロゾームによる代謝, *福岡医誌*, 110, 83-90 (2019).
- 4) 太田千穂, 加藤善久, 藤井由希子, 原口浩一, 木村 治, 古賀信幸, 2,2',4,4',6,6'-六塩素化ビフェニル(PCB155)のラット、モルモットおよびヒト肝ミクロゾーム、およびヒトチトクロム P450 による代謝, *福岡医誌*, 112, 127-135 (2021).

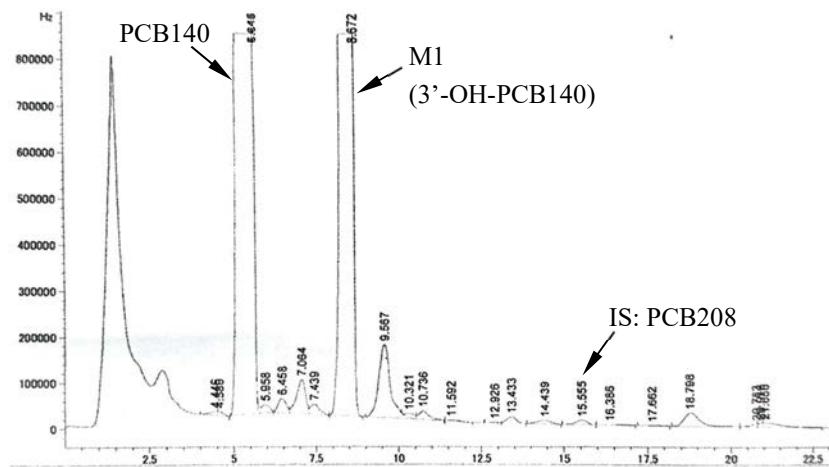


Fig. 1 GC chromatograms of PCB140 and its metabolite M1 in rat feces during 24 hr after oral administration of PCB140

Table 1 Time course of PCB140 and its metabolite M1 in rat feces during 2 days after PCB140 administration

Species	Amount (μg)	
	0-1 day	1-2 day
PCB140 (% of dose)	429.4 ± 74.2 (4.53)	66.9 ± 21.9 (0.70)
M1 (3'-OH) (% of dose)	197.6 ± 111.8 (2.10)	53.1 ± 20.8 (0.56)

Each value represents mean ± S.D. of four animals.

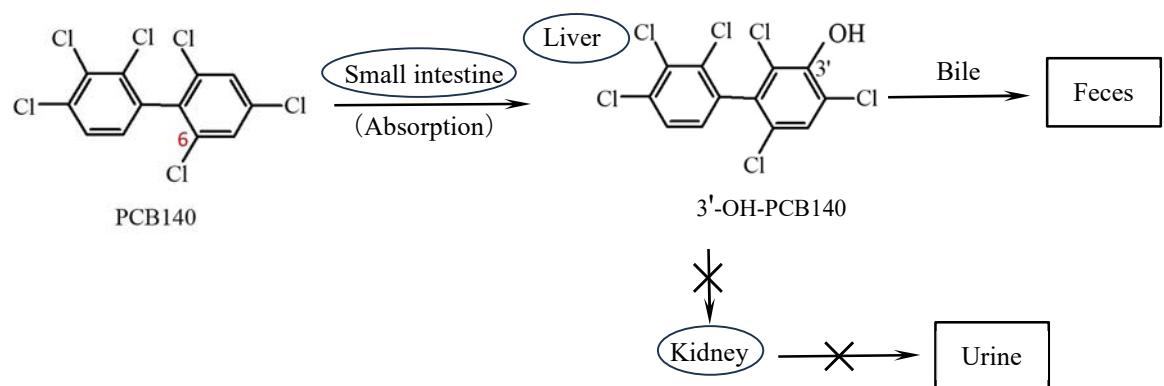


Fig. 2 The *in vivo* metabolism of PCB140 in rats

分担研究報告書

ダイオキシン誘導性セレン結合性タンパク質1 (SELENBP1):ヒト由来細胞を用いた検討

研究分担者 石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院細胞生物薬学分野 准教授

研究要旨

ヒト乳がん由来細胞 T47D 細胞を用いた場合、AHR リガンドの 3-MC および β -naphthoflavone によりヒト SELENBP1 (hSELENBP1)タンパク質が有意に誘導された。さらに、AHR 拮抗薬である α -naphthoflavone と 3-MC を併用しても、hSELENBP1 に対する誘導作用を抑制することはできなかった。SeBP1-KO マウス腎臓では、Ppara 発現レベルが低下した。hSELENBP1 の発現が低い HepG2 細胞を用い、hSELENBP1 のトランスフェクションにより、SeBP 欠損マウス腎臓と逆方向の影響が観察された。すなわち、SELENBP1 は PPARa を正に調節することが確認された。SELENBP1 の Se との結合に関与すると推定される位置のアミノ酸 Cys を Ala に置換した変異体および、さらに機能不全が示唆されている複数の変異体を導入することを通して、PPARa への影響を調べたところ、変異体と野生型は同様に PPARa を誘導した。SELENBP1 には脂質代謝を制御する PPARa を正に調節する生理的役割があることが示唆されている。このようにダイオキシン誘導性 SELENBP1 の新規機能が明らかになりつつある。

A. 研究目的

セレン結合性タンパク質 (Selenbp1, SeBP1) は、肝臓、腎臓、性腺などに多く発現するサイトゾルタンパク質の一つである (1)。Selenbp1 は、生体内においてセレンとの結合能を有し、セレンの生理的役割に関わるものと推定されている。これまでに、抗酸化作用 (2)、増殖抑制作用 (3)、ゴルジ層板間のタンパク質構成因子 (4) 等の機能が報告されているものの、これらは、いずれも決定的とは言い難く、その生理的機能は十分に理解されているとは言い難い。

当研究室では、ダイオキシン類の一種、3,3',4,4'5-pentachlorobiphenyl、および多環芳香族炭化水素、3-methylcholanthrene (MC) のラットへの曝露により肝臓における Selenbp1 タンパク質および mRNA 発現が顕著に誘導することをすでに報告している (5-7)。ダイオキシン類は、免疫

抑制、肝障害、発がんプロモーション作用等、生体に対して非常に多彩な毒性を引き起こすが (8)、その大部分の毒性発現に関与すると考えられているのが芳香族炭化水素受容体 (AhR) である (9)。ダイオキシン類は、細胞内においてサイトゾルに局在している AhR に結合することで核内へと移行し、AhR nuclear translocator とヘテロダイマーを形成する。この複合体が様々な遺伝子上流に存在するコンセンサス配列、xenobiotic responsive element (XRE) に結合することで、cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) に代表される遺伝子発現を変動させていることが知られている (10)。ダイオキシン類により変動する遺伝子は実に数百種類にものぼるが、どの遺伝子変動がどの毒性発現に重要であるのかなど詳細に関しては未だ十分には明らかになっていない。

当研究室では、これまでにラットにおい

て見出されている *Selenbp1* 遺伝子の誘導に注目し、ダイオキシンによる毒性との関連性を検証することを目指して研究を行って来た。マウスにおいては *Selenbp1* とアミノ酸配列で約 97% の相同性を示す *Selenbp2* (アセトアミノフェン結合性タンパク質) が存在することが知られているが、これは異なる遺伝子産物であり臓器分布等も多少異なる (11)。*Selenbp2* は、アセトアミノフェン代謝物との結合を介して肝障害発現に関わると推定されているが (12)、*Selenbp1* 同様に肝臓に多く発現していること、および、その相同性の高さから *Selenbp1* との機能的な関連性も示唆されている。当研究室では、ダイオキシンによる *Selenbp1* の誘導機構を解析するため、ダイオキシン類に対して親和性の異なる AhR を有する二系統のマウス (C57BL/6J マウス: 高親和性 AhR、および DBA/2J マウス: 低親和性 AhR) を用いて比較検討することにより、*Selenbp1* の誘導に対する AhR 依存性が検証されるとともに、*Selenbp1* ノックアウト (KO) マウスを作製し、その表現型の解析を行った (13)。これらの結果から、*Selenbp1* には、卵巣におけるガンへの防御的な役割がある可能性が示された。また、*Selenbp1* と *Selenbp2* は、2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) による誘導性に差があることが分かったが、*Selenbp1*-KO マウスの肝臓においては、依然として *Selenbp2* が発現しており、*Selenbp1*-KO によるダイオキシン毒性の悪化や軽減作用を見出すことは出来ず、その誘導の意義について理解することが難しかった。

最近、当研究室では、絶食により肝臓及び腎臓において、リアルタイム RT-PCR により検討を行った際に、*Selenbp1* 発現は影響を受けないが、*Selenbp2* 発現が著しく低下することを見だした。*Selenbp2* の発現は腎臓において低いことが報告されているため (14)、当研究室では、ダイオキシン誘

導性 *Selenbp1* の腎臓における役割を明らかにすることを目的として研究を推進してきた。

平成 30 年度までの検討により、ダイオキシンにより変動する他の因子を排除して検討するために、ダイオキシン非投与条件下で絶食を行い、野生型の C57BL マウスと *Selenbp1* 欠損マウスの腎臓を用いたメタボロミクス解析を行った。また、マイクロアレイ解析も行った。さらに、リアルタイム RT-PCR による解析を通じて、脂質代謝関連因子が変動する可能性が示唆された。令和元年度は、個体数を増やして、メタボロミクスの精度を上げるとともに、引き続き *Selenbp1* の脂質代謝への影響に着目してさらなる解析を行った。平成 30 年度及び令和元年度の検討において *Selenbp1*-KO マウスの腎臓では、脂肪酸の ω および ω -1 水酸化に関与することが知られている cytochrome P450 4a (Cyp4a) サブファミリーのうち、Cyp4a12a および Cyp4a12b の発現が有意に低下することが示唆された。また、ペルオキシゾームでの分岐脂肪酸の不飽和化を触媒する acyl-CoA oxidase3 (Acox3) の発現も有意に低下した。さらに、脂質代謝系の酵素の発現を制御する peroxisome proliferator-activated receptor- α (Ppar α) の発現レベルの有意な低下が示唆された。これは、先に行ったマイクロアレイの結果を支持した。一方、Ppar- β (Ppar β) および Ppar- γ (Pparg) の発現レベルには影響がなかった。Ppar α とヘテロオリゴマーを形成して遺伝子発現を促進させる retinoid-X-receptor- α (Rxra) の発現の低下が示唆されている。従って、Ppar α および Rxra の発現低下を通じた Cyp4a の低下が示唆された。一方、cyclooxygenase 1 (Cox1), Cox2 および 3 種の lipoxygenase レベルは変動しなかった。これに符合して、ロイコトリエン類の増加が推定された。また、抗酸化酵素の発現解析を行ったところ、superoxide dismutase 1 (Sod1) および Sod2 の

発現が有意に低下していた。また、Sod 活性、過酸化水素生成量が Selenbp1-KO マウス腎臓で低下することを明らかにした。この時、腎臓及び血中のセレン含量については変動がなかった (15)。

一方、ダイオキシン類がヒトにおいても SELENBP1 を誘導するか否かは明らかになっていない。油症患者において脂質代謝異常が起こっていることは、これまでの検討から明らかであり、肝臓の SELENBP1 レベルが変動しているとすれば、ラットやマウスなど実験動物での検討結果が有用となる。R4 年度は、ヒト肝臓がん由来細胞 HepG2 を芳香族炭化水素受容体 (AHR) リガンドで処理し、SELENBP1 が誘導されるか否か検討したが、AHR リガンドによる誘導が観察されなかった。一方、AHR アンタゴニストである α -naphthoflavone (α -NF) により有意に誘導された (R4 年度報告書)。そこで、R5 年度は、市販細胞で薬物代謝酵素レベルが正常肝臓細胞と遜色ない、ヒト肝臓がん由来 HepRG 細胞で検討した。また、ヒト乳がん由来細胞 T47D 細胞でも検討を行い、MC により hSELENBP1 が有意に誘導されることを見出した。これらを基に、AHR リガンドによる hSELENBP1 誘導機構を検討した。R6 年度は、hSELENBP1 の AHR リガンドによる誘導をタンパク質レベルで検証した。また、hSELENBP1 の発現の低い HepG2 細胞を用いて、ヒト SELENBP1 のトランسفェクションにより、脂質代謝への関与について検討した。本研究は油症患者の脂質代謝異常のメカニズム解明の一助となると期待される。

B. 研究方法

1. 細胞培養

T47D 細胞培養と継代および処理

T47D 細胞は 10% ウシ胎児血清 (FBS) を含む RPMI Medium1640 培地を使用して、5% CO₂、37°C の加湿インキュベーターで

培養し、2~3 日に 1 回 0.25% トリプシン / EDTA で継代を行った。

6 well plate に 1×10^6 cells/well 播種した。24 時間後で、試薬が含まれる培地 1 mL/well ずつ添加した (n = 4)。24 時間後に T47D 細胞を回収した。

HepG2 細胞培養と継代および処理

HepG2 細胞は 10% ウシ胎児血清 (FBS) を含む D-MEM 培地を使用して、5% CO₂、37°C の加湿インキュベーターで培養し、2~3 日に 1 回 0.25% トリプシン / EDTA で継代を行った。

6 well plate に 1×10^6 cells/well 播種した。24 時間後で、試薬が含まれる培地 1 mL/well ずつ添加した (n = 3)。24 時間後に、HepG2 細胞を回収した。

ポリエチレンイミン (PEI) を用いたトランسفェクション

細胞を 1×10^6 cells/well ずつ 6 well plate に播種し、37°C、5% CO₂ で 24 時間培養後、培地を交換し、ポリエチレンイミン HCI MAX (Linear, MW40000、トランスフェクショングレード) (PEI) (Polysciences, Lnc., Warrington, PA) を使用してトランスフェクションを行った。コントロールとして、インサートを含まない pcDNA3.1 hygro(-) を使用した。

2. qRT-PCR

回収した細胞から RNeasy® Mini Kit を使用して、total RNA を抽出した。抽出後の total RNA 濃度を定量した。得られた total RNA は gDNA の除去および逆転写反応を行った。なお、逆転写反応に使用した錆型 RNA 量は 250 ng/7.5 mL である。逆転写反応により得られた cDNA を滅菌水にて 10 倍希釈し qRT-PCR 反応を行った。

プライマーの配列と PCR 反応条件を下記に記載している。

Target mRNA; (Genebank Accession); Primer sequence;	Product size	CCACAAGCCAAACGACTTCC-3'
hSeBP1		
Forward:		SOD2
5'-TCCTCTACTTCAGCAACTGG-3' 183 bp (NM_001258288)		Forward: 5'- GGAAGCCATCAAACGTGACTT-3'
Reverse: 5'-GTTTCCCTTGACCACTAGG-3'		116 bp (NM_000636)
PPARA		Reverse: 5'- CCCGTTCCATTGAAACCAAGC-3'
Forward: 5'-TTCGCAATCCATGGCGAG-3' 146 bp (NM_001001928)		β -ACTIN
Reverse: 5'-CCACAGGATAAGTCACCGAGG-3'		Forward: 5'- GGCACACACCTTCTACAATG-3'
ACOX1		163 bp (NM_001101)
Forward:		Reverse: 5'- AGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'
5'-GGAACTCACCTCGAGGGCTTG-3' 164 bp (NM_001185039)		
Reverse:		
5'-TTCCCCTTAGTGATGAGCTGG-3'		
ACOX3		反応は StepOnePlus™ Real Time PCR System (Life Technologies, Inc.) を用いて、96wells 、 Quantitation-Comparative CT ($\Delta\Delta CT$)、Fast mode にて行った。反応条件は、95°C, 15 秒 - 50 サイクル× (95°C, 3 秒 - 60°C, 30 秒)とした。この反応ののち、単一の増幅産物が得られていることを確認するため、melting curve (95°C, 15 秒 - 60°C, 1 分 -0.3°C ずつ上昇し各 15 秒 - 95°C, 15 秒) を作製した。また、上記反応液から cDNA のみを除いて PCR 反応を行った場合にプライマーダイマーの形成などによるシグナル検出が行われていないことを確認した。解析は 2 Δ -CT 法を用いて解析した。内標準物質として β -actin を用い、目的遺伝子の threshold cycle (CT) 値と β -actin の CT の差 (ΔCT) から各目的遺伝子の β -actin に対する相対的発現量を算出した。
Forward:		
5'-CGAGCTGAACTTCCTCGATG-3' 107 bp (NM_001101667.2)		
Reverse:		
5' - CCAGGCACTGAATCAAGGC-3'		
CPT1A		
Forward:		3. タンパク質の定量
5'-ATCAATCGGACTCTGGAAACGG-3' 121 bp (NM_001031847)		PEI によるトランスフェクションを行った後、48 時間後に細胞を PBS 1 mL で洗い、1 ディッシュ当たり 1 mL の PBS で細胞を回収して、5000 g, 4°C で 5 分間遠心を行った。上清を除去した後、プロテア
Reverse: 5'-TCAGGGAGTAGCGCATGGT-3'		
SOD1		
Forward:		
5'-GGTGGGCCAAAGGATGAAGAG-3' 227 bp (NM_000454)		
Reverse:	5'-	

一ゼ阻害剤カクテルを 100 倍希釈して加えた IP バッファーを 1 サンプル当たり 100 μ L 加え懸濁し、超音波で細胞を破碎後、標準品として 0.1% BSA を使用して、Lowry 法にてタンパク質の定量を行った (16)。サンプルは精製水で 50 倍希釈して使用した。

IP バッファー: 20 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 10% glycerol

4. Western blotting

1) SDS-PAGE

Laemmli の方法に準じて行った (17)。Laemmli の方法では、アクリルアミドを Solution I および Solution II として分離ゲルと濃縮ゲルに用いるが、Solution II をどちらのゲルにも使用した。

回収した細胞破碎液を IP buffer で適宜希釈したサンプル 15 μ L に 4 \times sample buffer (0.25 M Tris-HCl buffer (pH 6.8), 8% SDS, 40% glycerol, 20% 2-mercaptoethanol, 0.008% bromophenol blue) を終濃度で 1 \times sample buffer となるように 5 μ L 添加してサンプルを調製し、100°C、3 分加熱後ゲルにアプライした。なお、用いたタンパク質量は 30 μ g/well とした。電気泳動はミニスラブゲル(ATTO 社製 AE-6500 型、1 mm、6.5 \times 9cm) を用い、Running buffer (0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1% SDS; 10 \times 溶液を予製し用時 10 倍希釈して使用) 中で、ゲル 1 枚あたり 10 mA の条件で行った。

2) ブロッティング

ポリアクリルアミドゲル中のタンパク質の PVDF 膜への転写は、Towbin らの方法に準じて行った (18,19)。転写には、セミドライブロッティング装置 (ATTO 社製)

を用い、転写用溶媒 (0.1 M Tris, 0.192 M glycine) での湿潤下、ゲル 1 枚あたり、130 mA、20 分間の条件で行った。0.4 μ m 孔の PVDF 膜を使用し、メタノール処理後、使用するまで転写バッファーで振とうした。

3) 発光法

化学的発光は GE Healthcare の ECL (Enhanced Chemi-luminescence) 発光法に基づいて行った (ECL, GE Healthcare)。転写後の PVDF 膜を TBS-T で洗浄し、5% スキムミルクで、室温で 1 時間振盪しブロッキングを行った。続いて 5% スキムミルクを除去し、TBS-T で、室温で振盪して 5 分 \times 3 回 PVBF 膜を洗浄した。その後、一次抗体につけ、4°C でゆっくりと振盪させ一晩反応させた。使用した抗体は以下の通りで、TBS-T に 1000 倍希釈して使用した。

SeBP: Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA

CYP4A1/4A2/4A3: Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA

β -Actin: BioVision Inc. Mountain View, CA, USA

TBS-T の組成は以下の通りである。

TBS-T: 20 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5), 150 mM NaCl, 0.1% Tween20

一次抗体を除去して、TBS-T で 3 回洗浄し、さらに 15 分間振盪させた後、二次抗体につけ室温で 1 時間振盪した。使用した二次抗体はロバ由来の anti-mouse IgG (GE Healthcare, Chicago, IL, USA) で、TBS-T に 1000 倍希釈して使用した。二次抗体を除去した後、TBS-T で 3 回洗浄し、さらに 15 分間振盪させた。続いて CarityTM Western ELC Substrate (GE Healthcare) を使用して、添付説明書通りに試薬を調整し、PVDF 膜と試薬を室温で 5 分間反応させ、ChemiDocTM MP (BIO-RAD) を用いて化学

発光法によりバンドの検出を行った。

(倫理面への配慮)

本研究における動物実験は、「九州大学動物実験規則」第12条第4号に基づき、動物実験委員会による実験計画の承認のもとに、動物の苦痛を可能な限り軽減して実施した。動物実験承認番号：A23-227。遺伝子組換え実験は、「九州大学遺伝子組換え実験安全管理規則」第10条第2項の規定に基づき、委員会の承認を得て行った（承認番号：1-8, 6-21）。

C. 研究結果

AHR リガンドによるヒト細胞での SeBP1 の誘導作用

ヒト乳がん由来細胞 T47D 細胞を用いた場合、3-MC により hSELENBP1 タンパク質および mRNA レベルが有意に誘導された（Fig. 1-2）。また、AHR リガンドの一つである β -naphthoflavone (β -NF) によっても hSELENBP1 タンパク質および mRNA レベルが有意に誘導された。R5 年度は、mRNA レベルまでの検証にとどまったが、R6 年度はタンパク質レベルでの誘導を確認した。一方、AHR 拮抗薬である α -NF と 3-MC を同濃度併用した場合、hSELENBP1 に対する誘導作用の明確な抑制は観察されなかった（Fig. 5）。

ヒト肝臓がん由来細胞 HepG2 を用い、AHR リガンドである 3-MC 及び β -NF により、hSELENBP1 の mRNA 発現量を検討したが、有意な変化が見られなかった（Figs. 6-7）。以上の結果から、エストロゲン受容体（Gene symbol : ESR1）が hSELENBP1 発現に影響を与える可能性を考え、pcDNA3.1-hESR1 発現ベクターを構築した。

HepG2 に pcDNA3.1-hESR1 発現ベクターをトランスフェクションし、3-MC および β -NF により、hSELENBP1 が有意に誘導さ

れた（Figs. 8-9）。R5 年度は、mRNA レベルまでの検証にとどまったが、R6 年度はタンパク質レベルでの誘導を確認した。

ヒト Selenium-binding protein 1 の脂質代謝における役割: HepG2 を用いた検討

HepG2 への hSELENBP1 のトランスフェクションにより、脂質代謝系の酵素の発現を制御する PPAR α の mRNA 発現量が有意に増加した。また、PPAR α に制御されるペルオキシゾーム β 酸化の初発酵素 acyl-CoA oxidase1 (Acox1) の発現も有意に増加し、ペルオキシゾームでの分岐脂肪酸の不飽和化を触媒する acyl-CoA oxidase3 (Acox3) の発現にも増加傾向が見出された。さらに、 β 酸化の律速酵素である carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A) mRNA レベルも有意に増加した（Fig. 10）。また、PPAR α の下流遺伝子である CYP4A のタンパク質レベルも有意に改善した（Fig. 11）。さらに、培地中の非必須脂肪酸（NEFA）とトリグリセリド（TG）の濃度は、用いる発現ベクターの DNA 濃度依存的に、トランスフェクションによって有意に減少した。すなわち、hSELENBP1 はヒト肝臓由来細胞においても PPAR α を介し、脂質酸化を促進的に調節することが示唆された。

また、hSELENBP1 の発現が低い HepG2 を用い、ヒト hSELENBP1 の Se との結合に関与すると推定される位置の 57 番目のアミノ酸 Cys を Ala に置換した変異体および、マウス SeBP1 の対応位置の Ser を導入することを通して、PPAR α を基点とした脂質代謝系への影響を調べた。変異体にも、PPAR α 誘導作用、あるいはその傾向が観察された（Fig. 12）。

D. 考察

本研究では、ヒトにおける SELENBP1 の発

現調節を明らかにすることを目的として、ヒト乳がん由来細胞 T47D をを芳香族炭化水素受容体 (AHR) リガンドで処理し、SELENBP1 が誘導されるか否か検討した。T47D を AHR リガンドである MC あるいは β -NF で処理した場合、AHR を介した誘導の代表的マーカーである CYP1A1 mRNA の発現を著しく上昇させた (Figs. 1, 3)。これらの誘導には用量依存性があった。このことから、T47D 細胞において AHR 依存的な CYP1A1 遺伝子の発現誘導を捉えることが出来ることが確認された。一方、SELENBP1 発現への影響も観察され 0.1-10 μ M の範囲で MC および β -NF により用量依存的に有意な mRNA 誘導が認められるだけでなく、10 μ M MC および 10 μ M β -NF に於いて、タンパク質レベルでの誘導が確認された (Figs. 2, 4)。一方、10 μ M MC に同濃度の AHR アンタゴニスト α -NF を併用した場合には、明確な hSELENBP1 発現誘導の抑制は認められなかつた (Fig. 5)。T47D 細胞における AHR リガンドによる hSELENBP1 の誘導のメカニズムと AHR の関与については、今後、この点については、 α -NF 濃度を上げての検討を行うなどして検証する必要がある。R4 年度に、HepG2 細胞を用いて検討を行った際、AHR リガンドにより SELENBP1 は誘導されなかつた (R4 年度報告書)。また、過去に、他の研究者が HepG2 細胞を用いたマイクロアレイを行っており、HepG2 への TCDD の影響を研究した際、顕著な変化を示す遺伝子の中に SELENBP1 はなかつた (20, 21)。また、SELENBP1 発現量減少と glutathione peroxidase 1 (GPX1) 発現量増加について述べた報告では、SMMC7721 細胞に SELENBP1 の発現が高く、HepG2 細胞には SELENBP1 の発現が低い結果が示されている (22)。マイクロアレイは網羅的解析であるため、個々の解析については別途行う必要がある。また、後者においては、AHR リガンドの影響を検討したわけではなく、検証が必要であった。R4 年度の研究では、HepG2 細胞に対して、MC および

β -NF という 2 つの AHR リガンドを用いて用量依存性を調べた結果 10 μ M までの範囲では SELENBP1 の誘導が認められていない。一方、AHR アンタゴニストの α -NF では、誘導が認められていた (R4 年度報告)。R5 年度は、HepaRG に、2.5 および 10 μ M α -NF を添加した場合、MC に比べ弱いながら CYP1A1 の誘導が認められ、この点は HepG2 と共に (R5 年度報告)。しかし、 α -NF は、HepaRG において SELENBP1 を誘導しなかつた。したがつて、 α -NF による SELENBP1 誘導作用は、同じヒト肝がん由来細胞であつても、HepaRG には認められず、HepG2 に認められるものである。この原因は現在のところ不明であり、今後の課題である。R5 年度に続き、R6 年度も HepG2 では、MC により CYP1A1 は誘導されるものの hSELENBP が誘導されない原因を検証した。エストロゲン受容体陰性の HepG2 は男性由来の細胞であるため、hESR1 をトランسفエクションし、その条件下に MC が hSELENBP1 の発現誘導することが mRNA レベルだけでなくタンパク質レベルで検証できた。hESR1 を一過性発現させた HepG2 細胞では、MC により代表的マーカーである CYP1A1 mRNA の発現が、著しく誘導された (Fig. 8)。さらに、hSELENBP1 が 10 μ M MC で mRNA レベルおよびタンパク質レベルで有意に誘導された (Figs. 8, 9)。同様に 10 μ M β -NF において hSELENBP1 がタンパク質レベルで誘導された。CYP1A1 の誘導は MC 濃度依存的であり、これは hESR1 を発現させていない HepG2 でも同様に認められることがから (R4 報告書)、AHR の関与が強く支持される。一方、hSELENBP1 の誘導は HepG2 では誘導が認められなかつたこと (R4 報告書)、hESR1-HepG2 では高濃度の 10 μ MC で認められたことから、hSELENBP1 の誘導には AHR と hER1 の両方が必要であることが示唆された。上述の T47D 細胞における AHR の関与については今後の課題である。

Selenbp1-KO マウスの腎臓を用いた先

行研究により、脂質代謝系を制御する Ppara の発現が低下し、その制御下にある遺伝子の発現も低下した (15)。本研究では、hSELENBP1 cDNA をヒト肝臓がん由来細胞 HepG2 にトランスフェクションすることにより、これを検証した。その結果、Selenbp1-KO がマウス腎臓の脂質代謝系に及ぼす影響と符合し、hSELENBP1 依存的な影響、すなわち、真逆の影響が認められた。これらのことから、hSELENBP1 が PPAR α およびその制御下の遺伝子の発現を正に調節することが示唆された。また、マウス腎臓だけでなく、ヒト肝臓においても hSELENBP1 が脂質代謝を調節する可能性が示唆された。さらに、hSELENBP1 の 57 番目の Cys の役割について、Ala および Ser への一アミノ酸変異体について調べたところ、Ala 変異体は、PPAR α を有意に誘導し、Ser 変異体にも誘導する傾向があった。PPAR α 制御下の遺伝子への影響については、一部変異の影響がある可能性も残されている。この点は、さらなる検証が必要であろう。

E. 結論

以上の結果から、

- 1) 本研究では、AHR リガンド MC および β -NF が、ヒト乳がん由来細胞 T47D 細胞において SELENBP1 を濃度依存的に誘導することをタンパク質レベルで初めて明らかにした。
- 2) MC および β -NF により、hESR1 を発現させた HepG2 で SELENBP1 がタンパク質レベルで誘導された。
- 3) hSELENBP1 は、HepG2 で、PPAR α およびその制御下の遺伝子の発現を正に調節し、これは、SeBP1-KO マウス腎臓での結果を裏付けた。ダイオキシン誘導性の SeBP1 は脂質代謝の制御に重要なタンパク質であることが改めて検証された。本研究は油症患者の脂質代謝異常のメカニズム解明の一助となると期待される。

F. 研究発表

1. Zhao S, Song Y, Nakashima Y, Zou X, Koga T, Ishida T, Li R, Hirota Y, Tanaka Y, Ishii Y. *Int J Mol Sci*, in press.
2. フォーラム 2024:衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台、2024 年 9 月 4 日-5 日)
3. 日本薬学会第 145 年会 (福岡、2025 年 3 月 26 日-29 日)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

H. 参考文献

- 1) Bansal MP, Oborn CJ, Danielson KG, Medina D. *Carcinogenesis*, **10**: 541-546 (1989).
- 2) Jamba L, Nehru B, Bansal MP. *Mol Cell Biochem*, **177**: 169-175 (1997).
- 3) Pohl NM, Tong C, Fang W, Bi X, Li T, Yang W. *PLoS One*, **4**: e7774 (2009).
- 4) Porat A, Sagiv Y, Elazar Z. *J Biol Chem*, **275**: 14457-14465 (2000).
- 5) Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N, Oguri K. *Chemosphere*, **32**: 509-515 (1996).
- 6) Ishii Y, Hatsumura M, Ishida T, Ariyoshi N, Oguri K. *Toxicol Lett*, **87**: 1-9 (1996).
- 7) Ishida T, Ishii Y, Tasaki K, Ariyoshi N, Oguri K. *Fukuoka Acta Medica*, **88**: 135-143 (1997).
- 8) Poland A, Knutson JC. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, **26**: 371-399 (1982).
- 9) Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM, Gonzalez FJ. *Toxicol Appl Pharmacol*, **140**: 173-179 (1996).
- 10) Mimura J, Fujii-Kuriyama Y. *Biochim Biophys Acta*, **1619**: 263-268 (2003).
- 11) Bartolone JB, Sparks K, Cohen SD,

- Khairallah EA, *Biochem Pharmacol*, **36**: 1193-1196 (1987).
- 12) Pumford NR, Martin BM, Hinson JA, *Biochem Biophys Res Commun*, **182**: 1348–1355 (1992).
- 13) Tsujimoto S, Ishida T, Takeda T, Ishii Y, Onomura Y, Tsukimori K, Takechi S, Yamaguchi T, Uchi H, Suzuki SO, Yamamoto M, Himeno M, Furue M, Yamada H. *Biochim Biophys Acta*, **1830**: 3616-3624 (2013).
- 14) Lanfear J, Fleming J, Walker M, Harrison P. *Carcinogenesis*, **14**: 335-340 (1993).
- 15) Song Y, Kurose A, Li R, Takeda T, Onomura Y, Koga T, Mutoh J, Ishida T, Tanaka Y, Ishii Y. *Int J Mol Sci*, **22**(10): 5334 (2021)
- 16) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. *J Biol Chem*, **193**(1): 265-275 (1951).
- 17) Laemmli UK. *Nature*, 1970 **227**(5259): 680-685 (1970).
- 18) Towbin H, Staehelin T, Gordon J. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **76**(9): 4350-4354 (1970).
- 19) Towbin H, Staehelin T, Gordon J. *Biotechnology*, **24**: 145-149 (1992).
- 20) Puga A, Maier A, Medvedovic M. *Biochem Pharmcol*, **60**: 1129–1142 (2000).
- 21) Frueh FW, Hayashibara KC, Brown PO, Whitlock Jr JP. *Toxicol Lett*, **122**: 189–203 (2001).
- 22) Huang C, Ding G, Gu C, Zhou J, Kuang M, Ji Y, He Y, Kondo T, Fan J. *Clin Cancer Res*, **18**: 3042-3053 (2012).

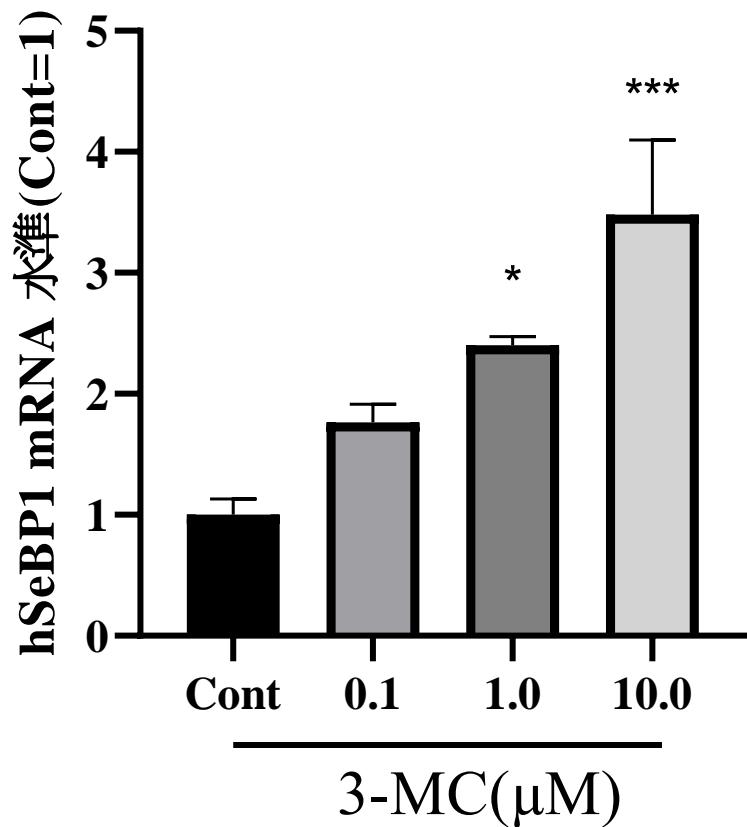
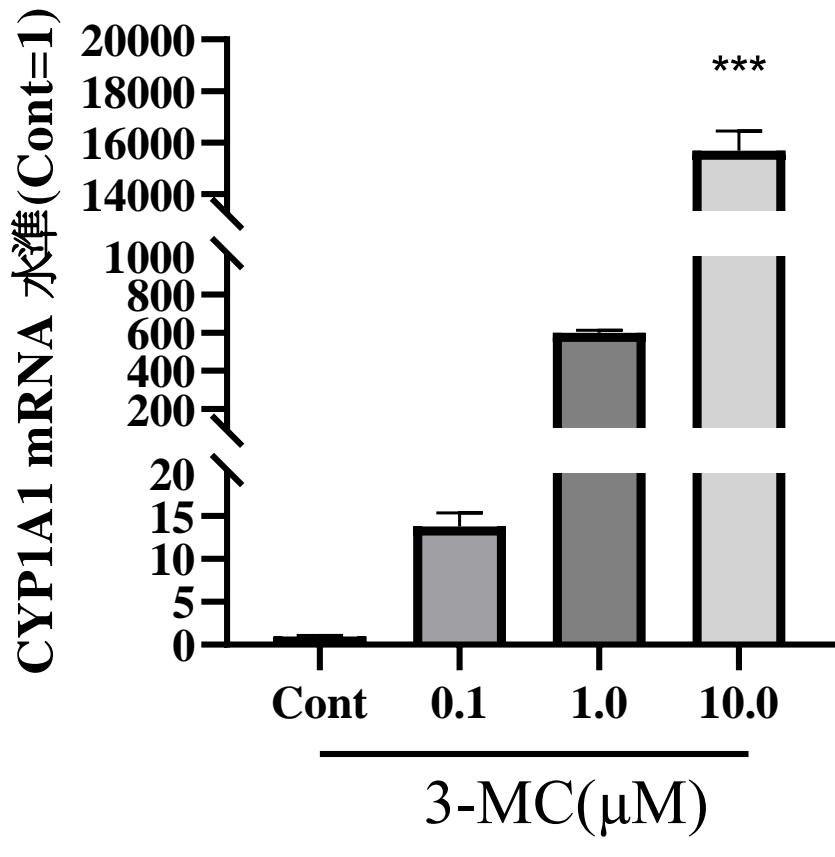


Fig. 1 Effects of 3-MC on the mRNA expression of CYP1A1 and SeBP1 in T47D cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. CYP1A1, cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1; hSeBP1, human selenium-binding protein 1; 3-MC, 3-methylcholanthrene.

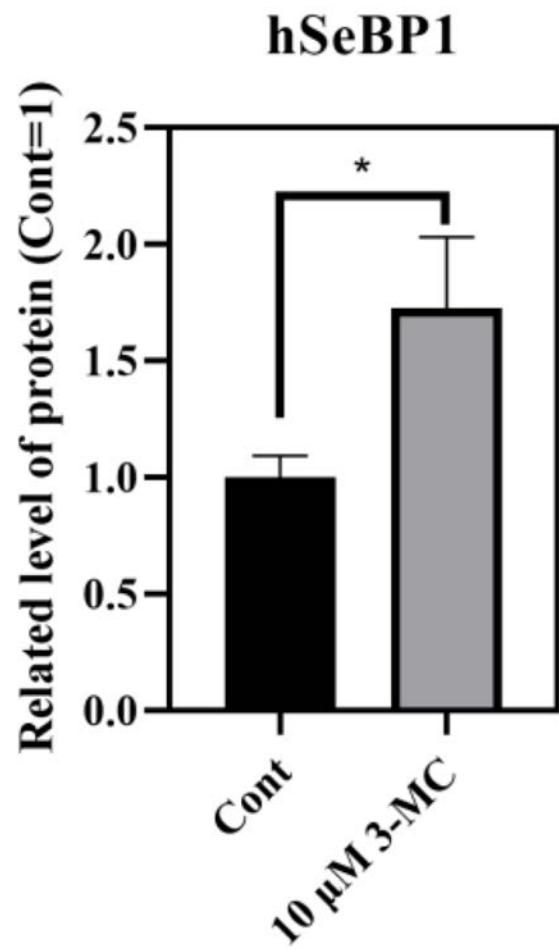
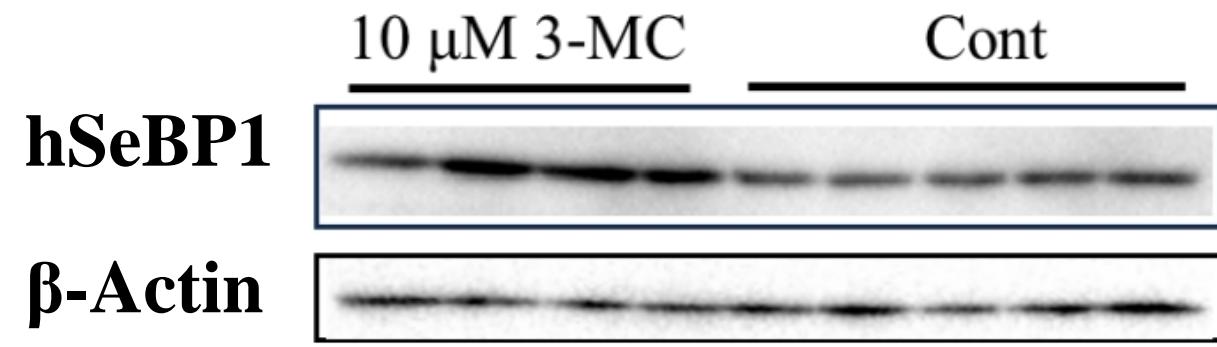


Fig. 2 Effects of β-NF on the protein expression of hSeBP1 in T47D cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β-Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. hSeBP1, human selenium-binding protein 1; β-NF, β-naphthoflavone.

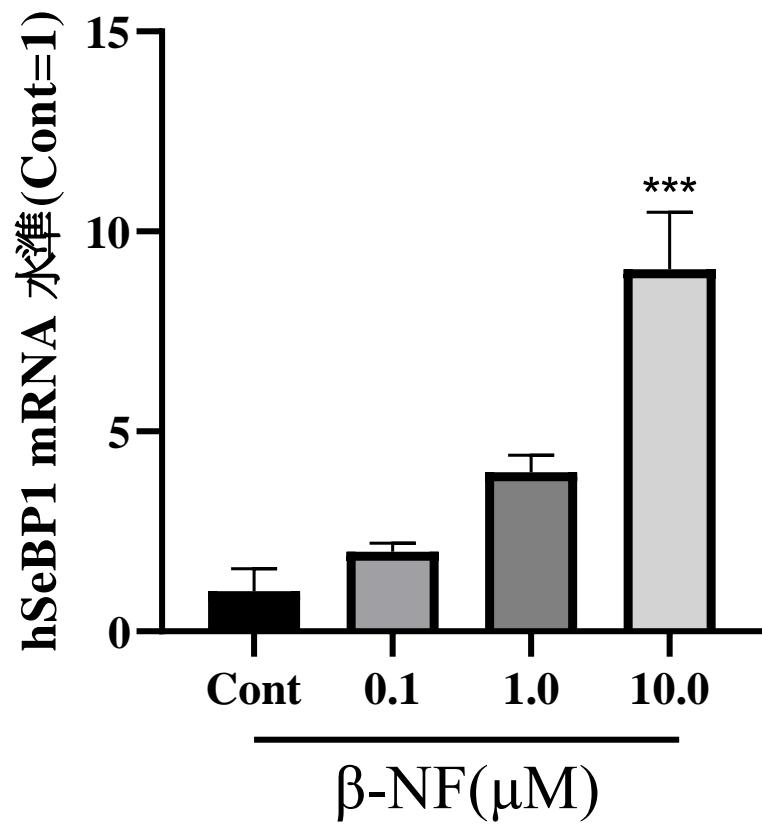
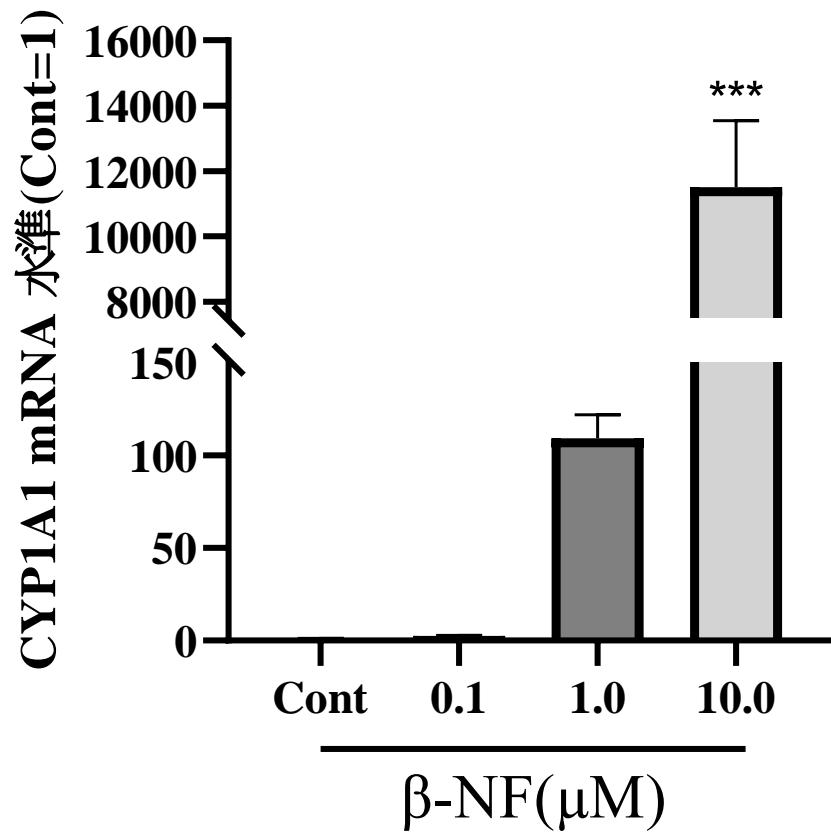


Fig. 3 Effects of β-NF on the mRNA expression of CYP1A1 and SeBP1 in T47D cells. Results were expressed as mean ± S.E.M. of 4-6 samples. β-Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. CYP1A1, cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1; hSeBP1, human selenium-binding protein 1; β-NF, β-naphthoflavone.

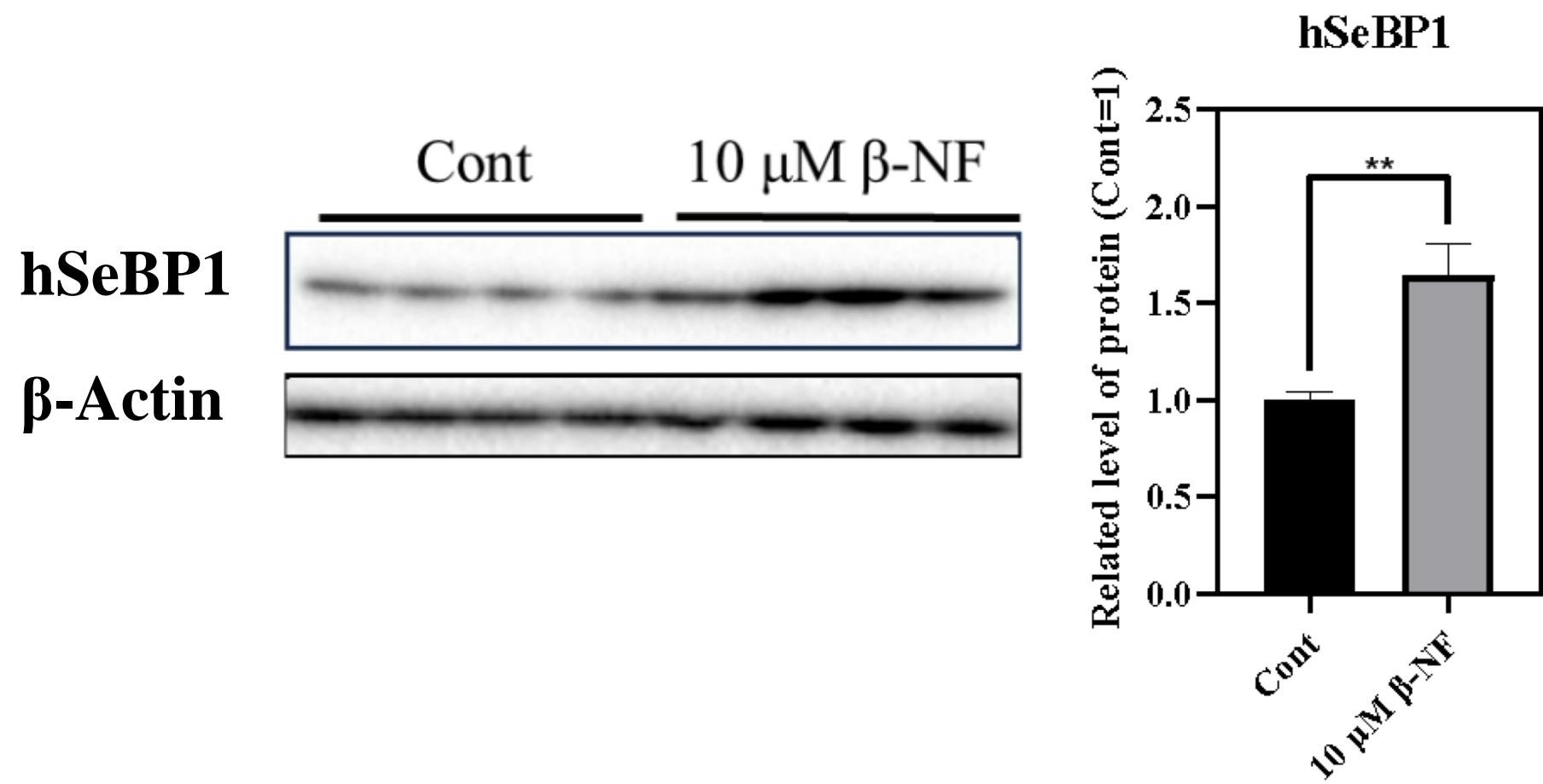


Fig. 4 Effects of β -NF on protein expression of hSeBP1 in T47D cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. hSeBP1, human selenium-binding protein 1; β -NF, β -naphthoflavone.

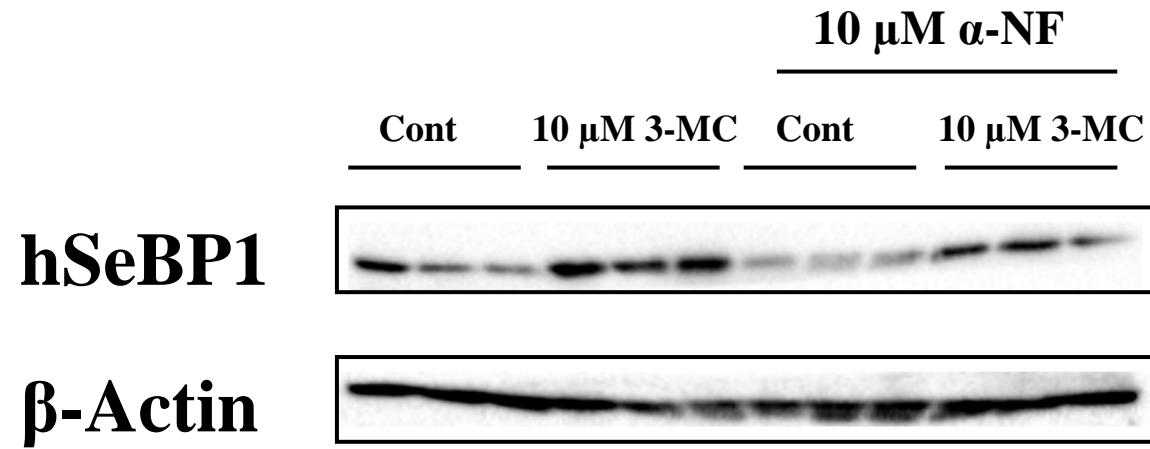


Fig. 5 Using an AHR antagonist to verify the effect of AHR agonist SEBP1 on induction in T47D cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. *** p < 0.001 vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. hSeBP1, human selenium-binding protein 1; 3-MC, 3-methylcholanthrene. α -NF, α -Naphthoflavone

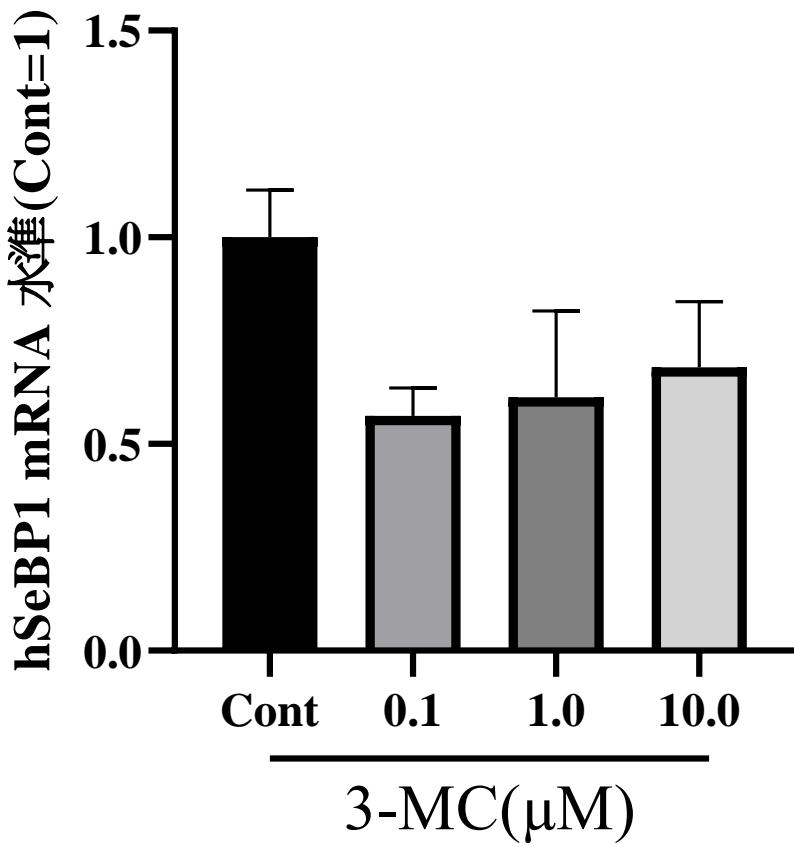
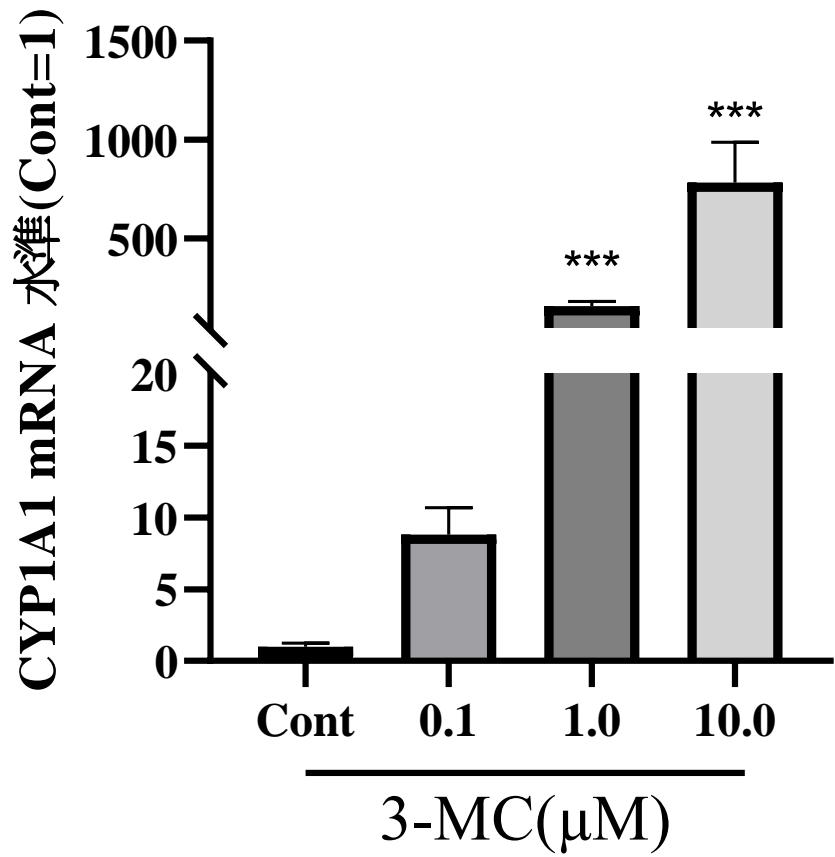


Fig. 6 Effects of 3-MC on the mRNA expression of CYP1A1 and SeBP1 in HepG2 cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. CYP1A1, cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1; hSeBP1, human selenium-binding protein 1; 3-MC, 3-methylcholanthrene.

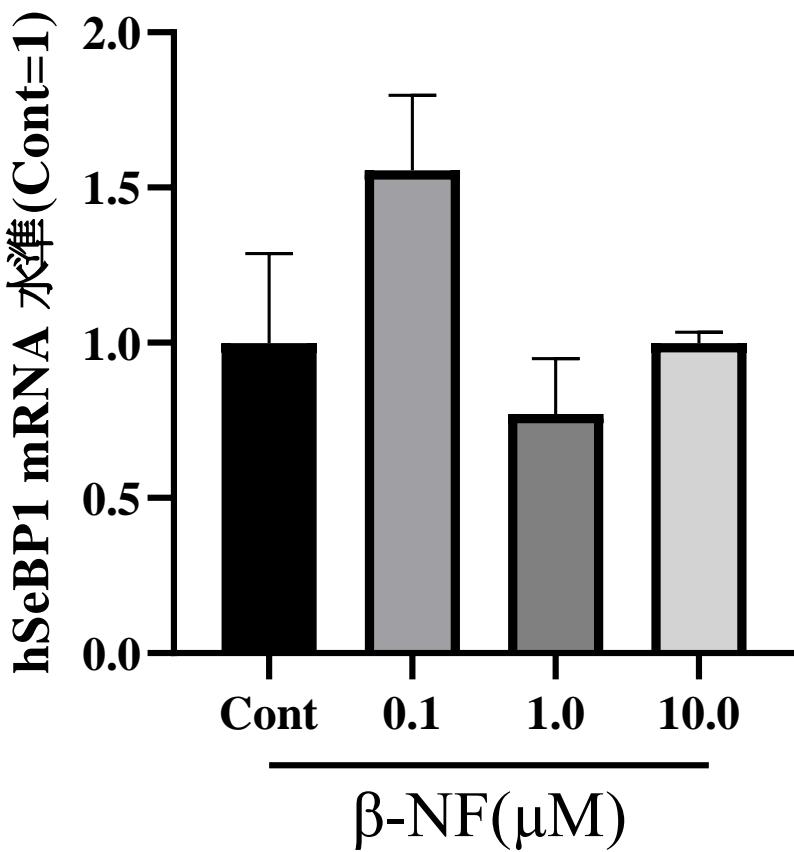
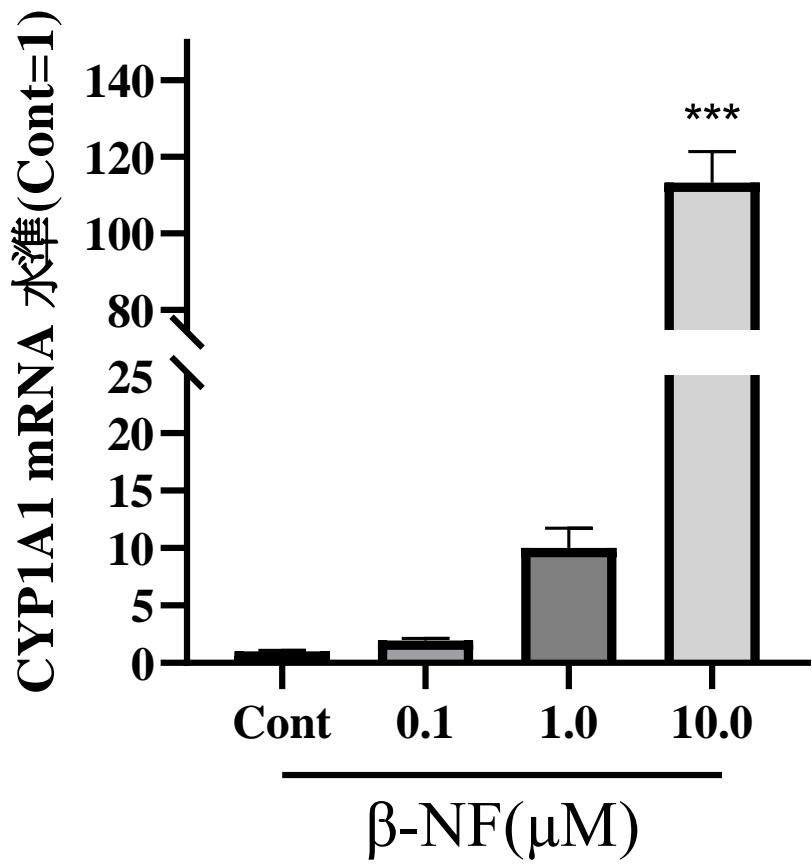


Fig. 7 Effects of β -NF on the mRNA expression of CYP1A1 and SeBP1 in HepG2 cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added. CYP1A1, cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1; hSeBP1, human selenium-binding protein 1; β -NF, β -naphthoflavone.

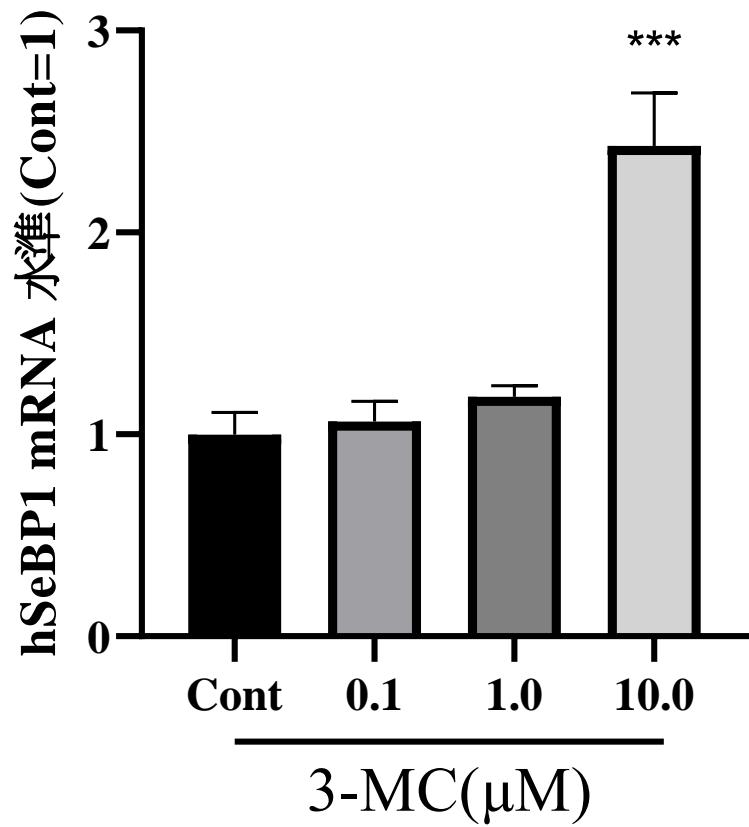
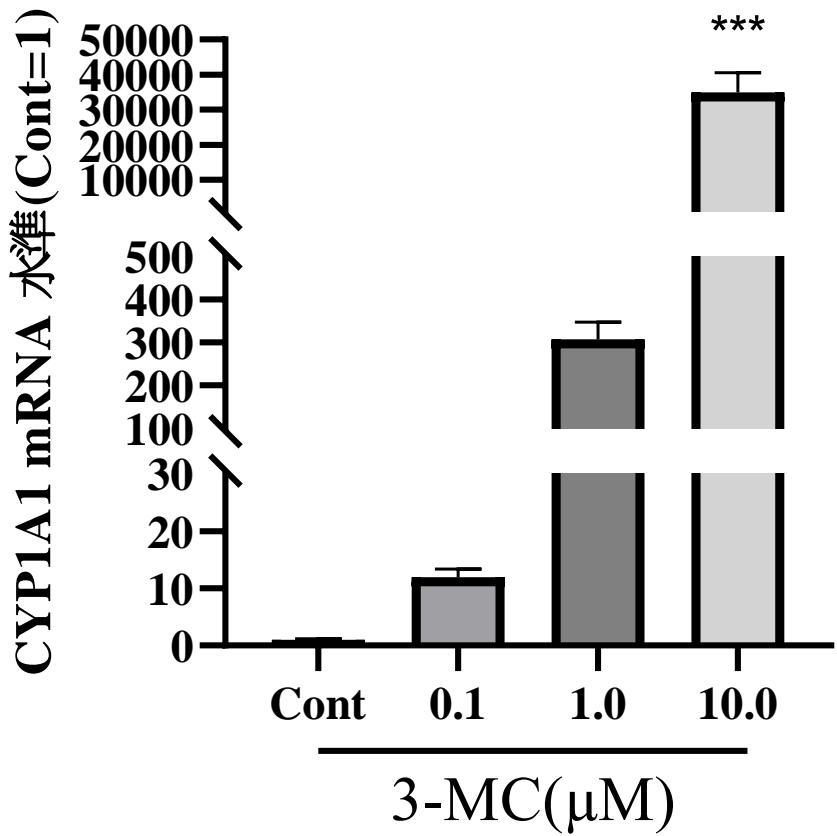


Fig. 8 Effects of 3-MC on the mRNA expression of CYP1A1 and SeBP1 in hESR1-HepG2 cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. *** $p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added and transfection with vector. hESR1, human estrogen receptor 1; CYP1A1, cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1; SeBP1, human selenium-binding protein 1; 3-MC, 3-methylcholanthrene.

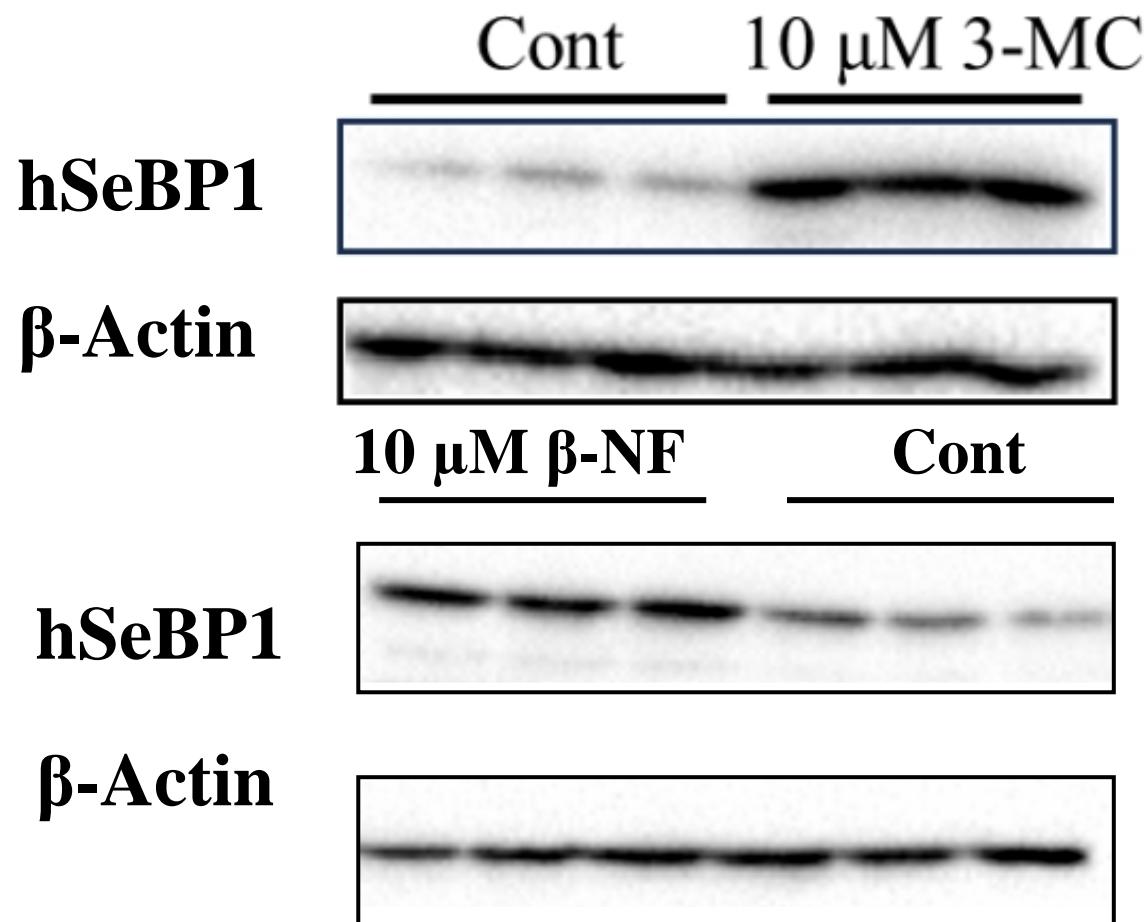


Fig. 9 Effects of 3-MC on the protein level of SeBP1 in hESR1-HepG2 cells. Results were expressed as mean \pm S.E.M. of 4-6 samples. β -Actin was used as an internal control. $^{***}p < 0.001$ vs. Control group. For the control, the same DMSO was added and transfection with vector. hESR1, human estrogen receptor 1; CYP1A1, cytochrome P450 family 1 subfamily A member 1; SeBP1, human selenium-binding protein 1; 3-MC, 3-methylcholanthrene.

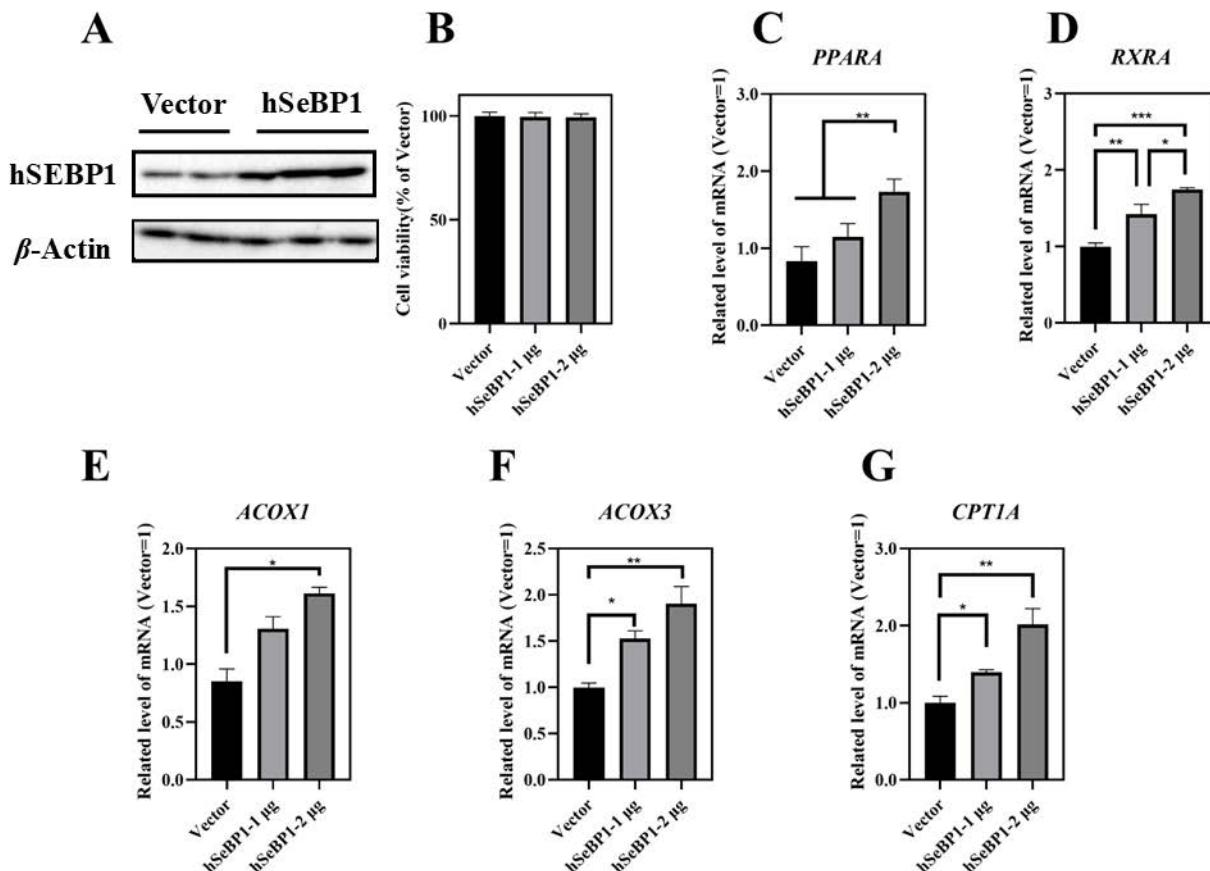


Fig. 10. Effect of hSeBP1 transfection on key genes associated with oxidation of fatty acids in HepG2 cells. Each bar represents the mean \pm SEM for 5 samples. HepG2 cells were seeded in 6-well plates and transfected with pcDNA3.1-hSeBP1 (1 or 2 μ g/well); the empty pcDNA3.1(-)-hygro vector was used for the control group. (A) Western blot analysis of hSEBP1 expression in HepG2 cells. (B) Effects of hSeBP1 overexpression on the viability of HepG2 cells. PPARA, peroxisome proliferator-activated receptor alpha; RXRA, retinoid X receptor alpha; ACOX1, acyl-CoA oxidase 1; ACOX3, acyl-CoA oxidase 3; CPT1A, carnitine palmitoyltransferase 1A. *, P < 0.05; **, P < 0.01; ***, P < 0.001.

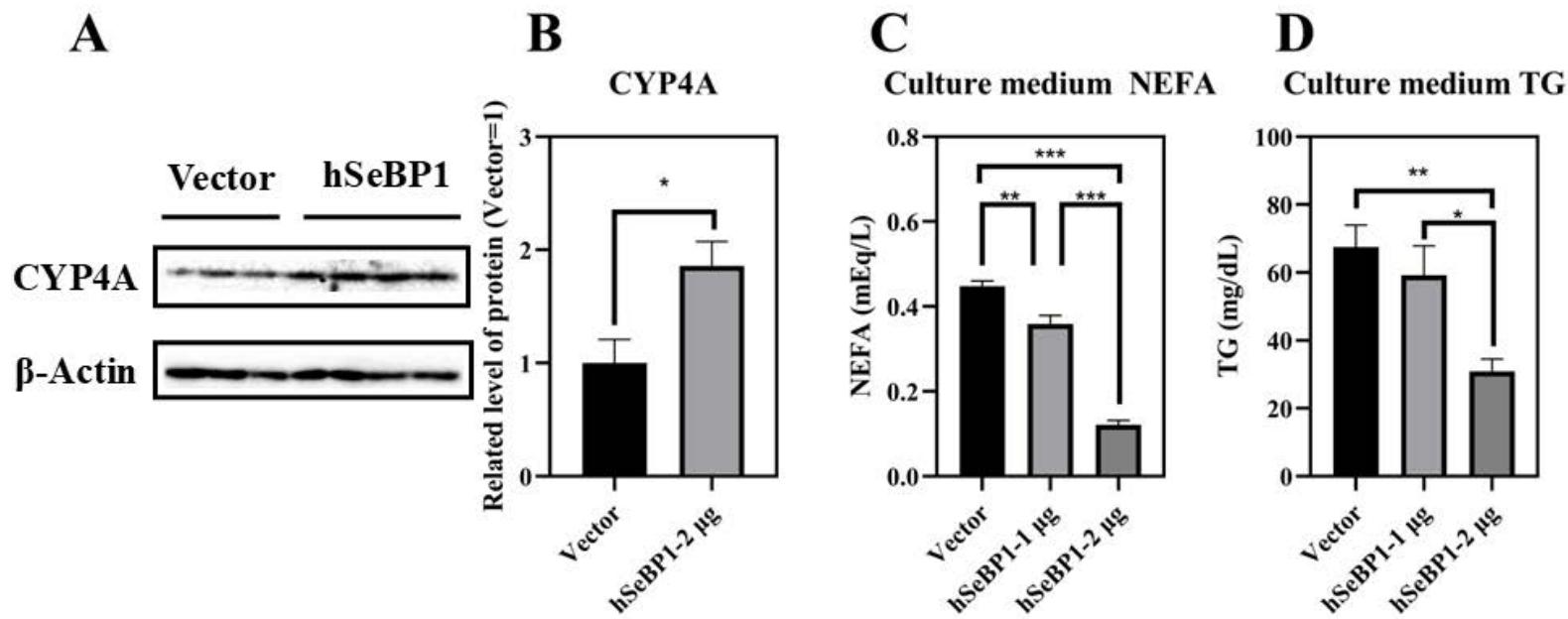


Fig. 11. Effect of hSeBP1 overexpression on CYP4A, NEFA and TG levels. Each bar represents the mean \pm SEM for 3-5 samples. HepG2 cells were seeded in 6-well plates and transfected with pcDNA3.1-hSeBP1 (1 or 2 μ g/well); the empty pcDNA-3.1(-)-hygro vector was used for the control group. NEFA and TG levels in culture medium were determined using commercially available kits. (A-B) Western blot analysis of CYP4A expression in HepG2 cells. The level of culture medium NEFA (C) and TG (D) levels were determined using commercially available kits. *, P < 0.05.

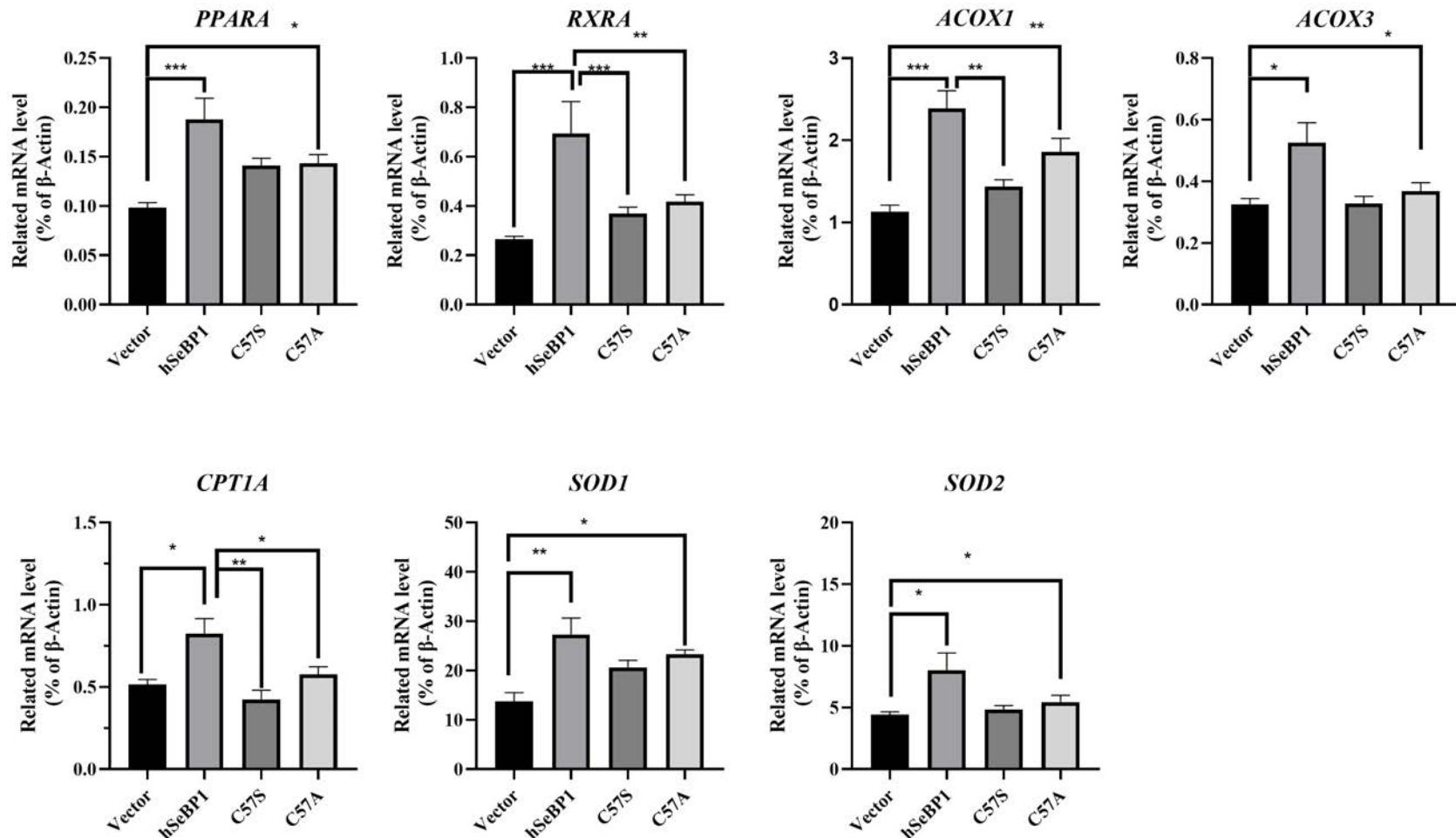


Fig. 12. Effect of hSeBP1 and mutant transfection on key genes associated with oxidation of fatty acids in HepG2 cells. Each bar represents the mean \pm SEM for 5 samples. HepG2 cells were seeded in 6-well plates and transfected with pcDNA3.1-hSeBP1 (1 or 2 μ g/well); the empty pcDNA3.1(-)-hygro vector was used for the control group. PPARA, peroxisome proliferator-activated receptor alpha; RXRA, retinoid X receptor alpha; ACOX1, acyl-CoA oxidase 1; ACOX3, acyl-CoA oxidase 3; CPT1A, carnitine palmitoyltransferase 1A. SOD1, superoxide dismutase 1; SOD2, superoxide dismutase 2. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$.

分担研究報告書 芳香族炭化水素受容体を介した骨代謝制御機構に関する研究

研究分担者 藤原 稔史 九州大学整形外科 助教

研究要旨 AhR は骨代謝を制御する破骨細胞と骨芽細胞の分化に従い発現が増加し、ベンゾピレンはこれらの分化を阻害する。

A. 研究目的

油症被害者の高齢化に伴い、骨粗鬆症との関連が注目されている。骨は骨形成を行う骨芽細胞と骨吸収を行う破骨細胞のバランスによって骨代謝を制御しており、正常な骨代謝制御が骨量と骨質の維持に重要である。エストロゲンやステロイドなどのホルモンや環境因子など、様々な因子が影響している。

ダイオキシンが結合する芳香族炭化水素受容体 (AhR) は骨芽細胞と破骨細胞の両者に発現しており、細胞の増殖や分化に関与していることが報告されている。In vitro では骨芽細胞と破骨細胞は AhR 刺激で分化が抑制もしくは促進する報告があり、統一見解は得られていない^{1,2)}。AhR のアゴニストのタピナロフが皮膚の炎症に対して抗炎症効果を示し、臨床応用されており³⁾、AhR を介した骨代謝制御機構は新たな骨粗鬆症治療にも繋がる。そこで、本研究では破骨細胞と骨芽細胞における AhR の役割と AhR に作用する薬剤を調べることで新たな治療戦略とする。

B. 研究方法

8~12 週齢の C57BL/6J マウスの長管骨を採取し、骨髓細胞を回収する。

①破骨細胞培養

骨髓細胞を M-CSF100ng/mL と 3 日間共培養し、単球系細胞 (BMM) へ誘導し、M-CSF100ng/mL と RANKL100ng/mL を共培養し、破骨細胞分化を誘導し、前破骨細胞 (pOC) から通常 4~5 日で成熟破骨細胞 (mOC) に分化する。

②骨芽細胞培養

骨髓細胞をアスコルビン酸と共に培養し、2~3 週ほどかけて骨芽細胞へ培養する。

③破骨細胞と骨芽細胞に対する AhR アゴニスト刺激における影響

破骨細胞分化は TRAP 染色で評価、mRNA 発現をリアルタイム PCR で確認し、蛋白をウェスタンプロットで確認した。AhR アゴニストの影響を評価した。

C. 研究結果

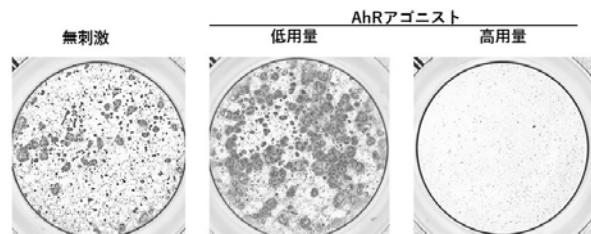


図1：TRAP染色による破骨細胞分化評価

破骨細胞分化において AhR アゴニストを低用量加えると破骨細胞分化は増加傾向を示し、高用量を加えると抑制された (図 1)。破骨細胞分化に関わる遺伝子 (NFATc1 とカテプシン K) を評価すると、破骨細胞分化に従い、これらの遺伝子発現は上昇するが、AhR アゴニストを加えると発現は低下しており、分化が抑制されていることを示された (図 2)。図 3 に示すように、蛋白の評価をウェスタンプロットで行ったが、AhR 発現はアゴニストを加えても変化はないものの、その下流の CYP1A1 発現は低下していた。NFATc1 とカテプシン K の発現もアゴニスト刺激で低下しており、AhR への反応後に CYP1A1 発現が低下し、破骨細胞分化を抑制していることが考えられた。

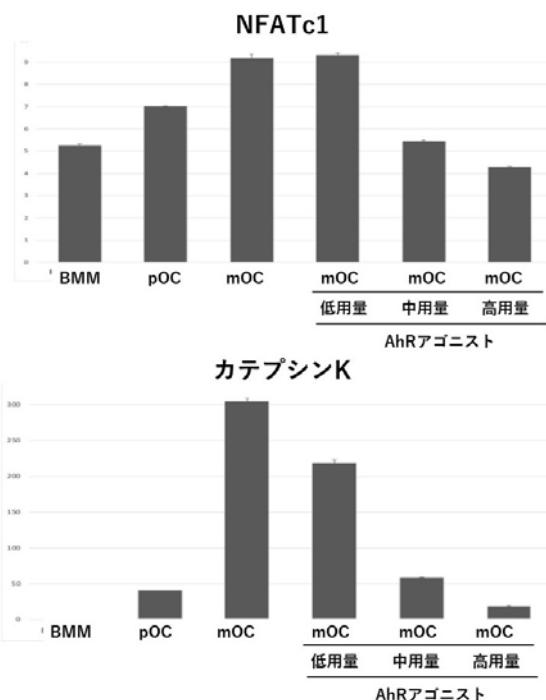


図2: リアルタイムPCRによる破骨細胞の遺伝子変化、単球 (BMM)、前破骨細胞 (pOC)、成熟破骨細胞 (mOC)、AhRアゴニスト刺激

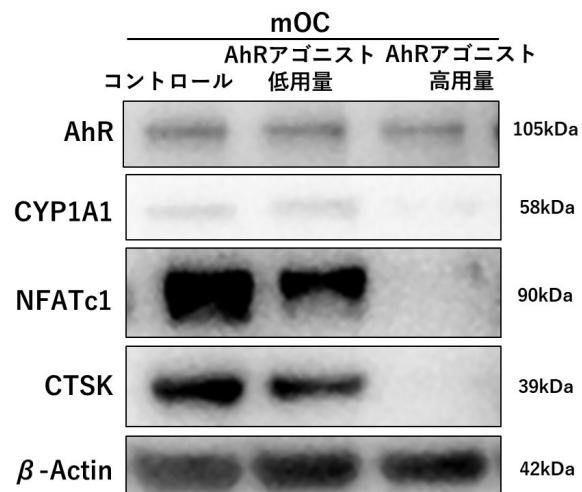


図3: ウェスタンブロット

AhR アゴニストによる破骨細胞分化抑制効果を示したが、続いて骨芽細胞への効果を調べた(図4)。AhR アゴニストを同様

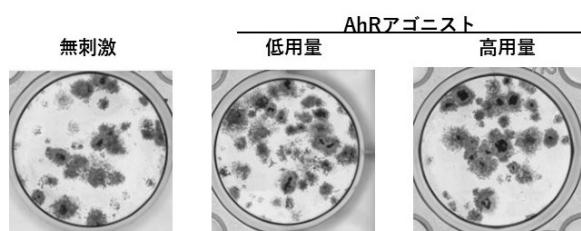


図4: TRAP染色による破骨細胞分化評価

に加えたが、骨芽細胞では抑制されなかつた。

D. 考察

AhR の破骨細胞への制御機構はまだ不明な点が多い。今回使用した AhR アゴニストは高用量で破骨細胞分化を抑制し、その濃度では骨芽細胞分化を抑制しなかった。つまり破骨細胞のみを抑制し、骨芽細胞に影響を及ぼさない薬剤であり、今後更に *in vivo* を含めた詳細なメカニズムを調べる必要がある。新たな治療戦略の確立を目指す。

E. 結論

AhR アゴニストは破骨細胞分化を制御しており、今後解析を続け、骨粗鬆症治療への応用につながる可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 引用文献

- 1) 福士純一、岩本幸英: 福岡医誌 2011, ダイオキシン類と骨代謝
- 2) Park R, et. al: Cells 2020, The Role of Aryl-Hydrocarbon Receptor (AhR) in Osteoclast Differentiation and Function
- 3) Smith SH, et. al: J invest Dermatol 2017, Tapinarof is a natural AhR agonist that resolves skin inflammation in mice and humans.

分担研究報告書

油症患者における口腔粘膜色素沈着と口腔乾燥の経年変化について

研究分担者 川崎 五郎 長崎大学口腔顎顔面外科学分野 准教授
研究協力者 吉富 泉 諫早総合病院歯科口腔外科 医長

研究要旨 令和6年度の長崎県油症検診において歯科検診を受診した患者を対象に口腔乾燥症に関する検討を行った。対象者130名中47名に口腔乾燥感を訴える患者がみられた。理学的所見による口腔乾燥が認められた者は27名で、口腔乾燥感を訴えかつ所見として口腔乾燥が認められた者は12名であった。舌苔については82名に認められたが、口腔乾燥所見と一致していた者は10名であった。口腔粘膜色素沈着は高い発生率であったが、口腔乾燥症との関連性は認められなかった。

A. 研究目的

油症患者における口腔領域の症状として、口腔粘膜色素沈着、口腔乾燥症、顎関節症、歯周疾患などが報告されている。これまで、口腔疾患別に油症歯科検診結果に基づき検討を行ってきた。特に口腔粘膜色素沈着は、油症発症当時からみられ^{1, 2)}、現在でも油症地区においては多くみられる傾向があり、これまで認定者および非認定者における色素沈着の発現数や、発現部位の検討を含め報告を行ってきた。

口腔乾燥症に関しては、原因として一般的に、唾液腺自体の機能障害によるもの、神経性あるいは薬物性のもの、全身疾患あるいは代謝性のものの3つに大別されている³⁾。油症との関係においては、油症地区において口腔乾燥を訴える患者が多いとの報告があり、また、ダイオキシン類が唾液腺に影響を及ぼすという研究報告もあるため、口腔乾燥症について経年的変化をみておくことは重要である。

今年度は、長崎県油症健康診断で、各地域において、主訴および理学的所見から口腔乾燥症について検討を行った。さらに検診で行う口腔粘膜色素沈着の発現について

その結果を検討し、口腔乾燥症と色素沈着との関連性について検討を行った。

B. 研究方法

令和6年度の長崎県油症検診で歯科検診を行うことのできた受診者を対象者として検討を行った。五島玉之浦地区および五島奈留地区では3名の歯科医師が歯科検診を行い、長崎地区では2名の歯科医師が歯科検診を行った。

口腔乾燥症に関しては、問診で口腔乾燥を訴えた患者を主訴有りとし、舌背の視診および口腔分水計で明らかな口腔乾燥がみられるものを口腔乾燥症とした。また、口腔乾燥症と関連が示唆される、舌背部における舌苔の存在については、検診で有りと記載された患者を舌苔ありとして検討を行った。

口腔粘膜色素沈着については、歯科検診項目に従い上下顎歯肉、左右頬粘膜、口蓋粘膜および上下唇粘膜に分類し検診を行い、カルテに記載された結果を用いて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の解析結果においては、個人が特定できるようなデータは存在しない。

C. 研究結果

全受診者のうち歯科を受診した患者は、長崎地区 61 名、玉之浦地区 28 名、奈留地区 41 名の計 130 名であった。

患者の性別は、男性 66 名女性 64 名で、年齢分布は 28 歳から 90 歳で、平均年齢は 69.1 歳であった。

口腔乾燥症については、口腔乾燥の訴えがあった者が 47 名、なかった者が 83 名であった。舌苔については、認められた者 82 名、認められなかったもの 46 名、記載のなかったもの 2 名であった。理学的所見として口腔乾燥の認められた者 27 名、認められなかった者 77 名、記載のなかった者 26 名であった。所見として口腔乾燥が認められ、かつ口腔乾燥感を訴えていた者は 12 名であった。口腔乾燥を訴えていたものの、理学的には口腔乾燥が認められなかったものは 30 名であった。口腔乾燥が認められ、かつ舌苔も認められた者は 10 名であった。

口腔粘膜色素沈着については、上顎歯肉 24 例（発現率 18.5%）、下顎歯肉 31 例（23.8%）、右頬粘膜 7 例（5.4%）、左頬粘膜 10 例（7.7%）、口蓋 17 例（13.1%）、上唇 54 例（41.5%）および下唇 58 例（44.6%）に発現が認められた。

D. 考察

唾液には、口腔の保湿、歯や粘膜の保護などの物理的効果と、食物の消化や緩衝といった化学的効果、さらに、抗菌や抗ウイルスのような生物学的効果がある³⁾。口腔乾燥症は唾液の分泌が抑えられることによる唾液不足の病態であるが、唾液不足により様々な病態が引き起こされる³⁾。

口腔乾燥症の原因別では、①シェーグレン症候群に代表されるような、唾液腺自体の器質的変化を伴った機能障害によるも

の、②抑うつなどの精神状態や抗不安薬、抗うつ薬、降圧薬などによる神経性、薬物性のもの、③脱水、貧血、糖尿病、腎障害などによる全身性疾患あるいは代謝性のもの、の 3 つに大別されている³⁾。

今回の結果では、口腔乾燥症が認められた者が 27 名（20.8%）であった。これには対象となった患者の平均年齢が高いこと、高齢化に伴い何らかの基礎疾患有する者が多いことが関係していると推測され、先述の②神経性、薬物性によるもの、③全身疾患あるいは代謝性のもの、が原因として考えられる。また、口腔乾燥感を訴えるものが 47 名と多かったが、これは歯科検診の時期が夏場であり、のどの渇きを口腔乾燥感として訴えている患者も少なからず存在することが影響していると考えられた。

経年変化としては、対象者に違いがあるため一概には言えないが、平成 26 年度の検診結果と比べ、乾燥感を訴える患者は増加傾向にあるものの、所見としてのいわゆる口腔乾燥症は概ね同様の結果であった。

舌苔に関しては 83 名と対象者の半数以上に認められた。舌苔には、カンジダや口腔細菌の関与などが考えられ、その原因として基礎疾患やそれに伴う口腔乾燥が関係していると考えられているが、今回の検討結果では口腔乾燥と舌苔の関連性は認められなかった。今回の検診では、舌下小丘や耳下腺開口部からの唾液の流出はみておらず、唾液腺機能についての検討は行っていない。今後は、唾液の分泌機能に関する検討も必要かと思われる。

in vivo 研究で PCB 等ダイオキシン類が唾液腺に影響を及ぼす可能性も示唆されており⁴⁾、血中のダイオキシン濃度との関連性に関する検討も必要で、今後も定期的に口腔乾燥症の発現の有無については検討しておく必要があると考えられた。

口腔粘膜色素沈着については、昨年度とほぼ同様の検診結果で、口唇に最も多く、

次いで歯肉に多くみられた。昨年度と同様の高い発生率であったが、口腔乾燥症との関連性は明らかではなかった。口腔粘膜色素沈着は、油症発生当時から報告されており、現在も高い発生が認められ、今後も発生率のみならず、他の口腔症状との関連性についても検討していく必要があると考えている。

E. 結論

令和 6 年度の長崎県油症検診における口腔乾燥症の発現について検討した。所見として口腔乾燥が認められる患者は 27 名であった。口腔乾燥感を訴える患者や、舌苔の付着を認める患者は比的数多く認められたが、実際の口腔乾燥症の発現との関連性は明らかでなかった。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし

H. 参考文献

- 1) Aono, M., & Okada, H. Oral findings in Yusho. Fukuoka Acta Medica, 60: 468- 470, 1969.
- 2) Fukuyama, H., Hidaka, Y., & Sano, S. Relation between blood PCB level and oral pigmentation in Yusho patients. Fukuoka Acta Medica, 68: 128- 132, 1977.
- 3) 中村誠司：口腔乾燥症（ドライマウス）。山根源之、草間幹夫、久保田英朗、中村誠司 編：口腔内科学第 3 版, pp468-474, 永末書店, 京都, 2023
- 4) Kawasaki G, Mataki S, Mizuno A. Ultrastructural and biochemical studies of the effect of

polychlorinated biphenyl on mouse parotid gland cells. Arch Oral Biol 40(1): 39-46, 1995.

分担研究報告書

AhR シグナルの活性化による Tenascin-C の発現抑制がヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化に及ぼす影響について

研究分担者 前田 英史 九州大学歯科保存学研究分野 教授
研究協力者 杉井 英樹 九州大学歯科保存学研究分野 助教

研究要旨 AhR シグナルの活性化による Tenascin-C の発現抑制はヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化を抑制する。

A. 研究目的

歯周組織は歯を支持する上で重要な組織であるが、油症患者では、歯周組織の破壊によって生じる歯周ポケットが深化する可能性があることが報告されている。したがって、油症患者の歯を長期にわたり維持するためには、歯槽骨、セメント質および歯根膜を含む歯周組織の破壊機構を明らかにし、破壊された歯周組織を再生することが重要であると考えられる。組織再生において幹細胞は重要な役割を担っており、歯根膜細胞に含まれる歯根膜幹細胞は、骨芽細胞またはセメント芽細胞への分化能を有し、歯周組織再生に寄与すると言われている。芳香族炭化水素受容体 (AhR) はダイオキシンの受容体で、その活性化により活性酸素を産生することで、油症の症状惹起に関与するとされている。私たちはこれまでに、AhR に結合することが知られるベンゾピレン (BaP) によって AhR シグナルを活性化したヒト歯根膜細胞 (BaP-HPDLC) と、活性化していないヒト歯根膜細胞 (Cont-HPDLC) を用いて、マイクロアレイ解析を行った。その結果、BaP-HPDLC において Tenascin-C (TNC) の発現が抑制された。さらに、TNC を発現抑制したヒト歯根膜細胞 (HPDLC) において、そのコラーゲン形成能が優位に低下することが明らかとなった。しかしながら、TNC が HPDLC の分化能に及ぼす影響は明らか

にされていない。そこで本研究では、AhR シグナルの活性化による TNC の発現抑制が、HPDLC の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

HPDLC において、TNC の遺伝子発現を siRNA 試薬によって抑制し、その石灰化能に及ぼす影響を、Alizarin red S 染色法を用いて解析した。さらに、骨関連因子である *Bone sialoprotein (BSP)*, *Osteocalcin (OCN)*, *Osteopontin (OPN)* および *Osterix (OSX)* の遺伝子発現、およびセメント質関連因子である *Cementum attachment protein (CAP)* および *Cementum protein 1 (CEMP1)* の遺伝子発現に及ぼす影響を、定量的 RT-PCR 法を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

HPDLC の使用は、九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会へ申請を行ったのち、承認を得ている。またインフォームドコンセントを行い、患者からの同意を得たうえで実験に使用している。細胞には匿名加工化を行い、本人特定を不可としている。

C. 研究結果

siRNA 試薬を用いて、HPDLC における TNC

の遺伝子発現を抑制したところ、骨芽細胞様分化に特徴的な石灰化（図1）、および*BSP*, *OCN*, *OPN*および*OSX*の遺伝子発現（図2）が、TNCが発現抑制されていないHPDLCと比較して有意に低下した。次に、セメント質関連因子である*CAP*および*CEMP1*の遺伝子発現は、TNCの遺伝子発現を抑制したHPDLCにおいて、TNCの遺伝子発現が抑制されていないHPDLCと比較して、有意にその発現が低下した（図3）。

D. 考察

TNCは細胞外マトリックスの糖タンパクの一つであり、骨芽細胞の分化中にその発現が上昇することが報告されている（Morgan et al., *J Cell Biochem*, 2012）。本研究では、TNCを発現抑制したHPDLCにおいて、その骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化が抑制されたことより、AhRシグナルの活性化によるTNCの発現抑制により、歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化が抑制されることで、歯周組織の破壊に何らかの影響を及ぼす可能性が示唆された。

E. 結論

AhRシグナルの活性化によるTNCの発現抑制はヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化およびセメント芽細胞様分化を抑制する。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当無し。

2. 学会発表

該当無し。

G. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

該当無し。

2. 実用新案登録

該当無し。

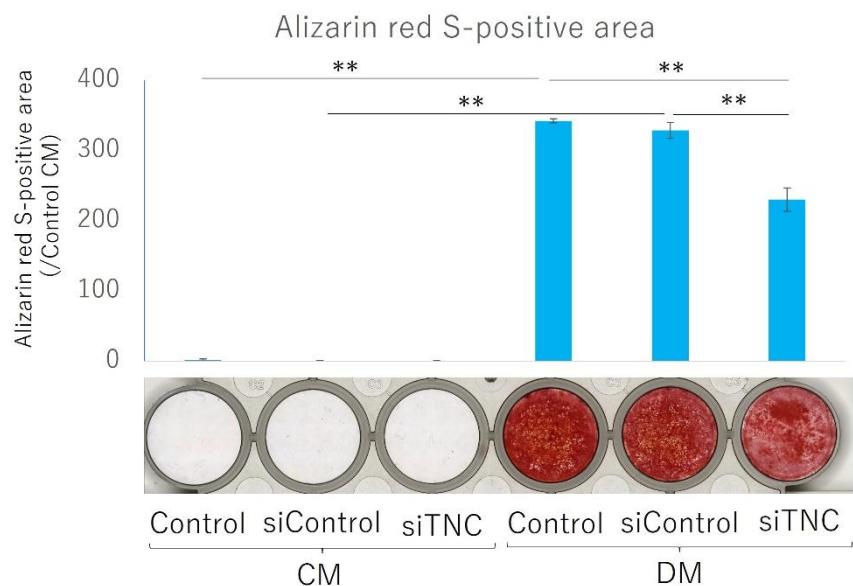


図 1. TNC の発現抑制が HPDLC の石灰化に及ぼす影響
siRNA 試薬にて TNC を発現抑制した HPDLC (siTNC) は、 α MEM/10%FBS (CM) または 1.5 mM の CaCl_2 を含有した CM (DM) にて、2 週間培養された。siControl を導入した HPDLC (siControl) および非導入の HPDLC (Control) を対照群として用いた。培養後、Alizarin red S 染色を行い、Alizarin red S 陽性領域の定量化を行った。n=3, ** $p < 0.01$ 。

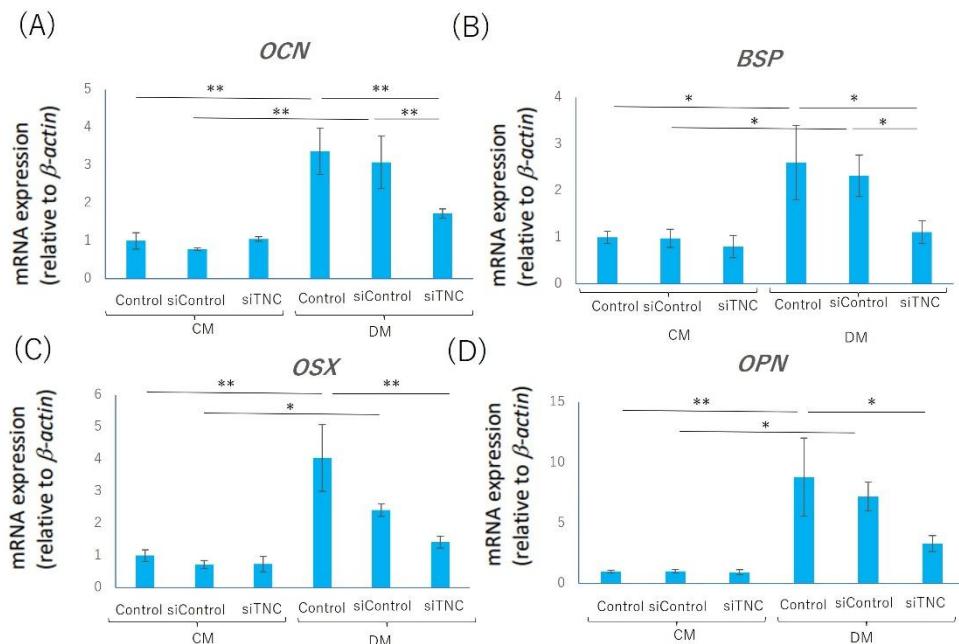


図 2. TNC の発現抑制が HPDLC の骨関連因子の遺伝子発現に及ぼす影響
siRNA 試薬にて TNC を発現抑制した HPDLC (siTNC) は、 α MEM/10%FBS (CM) または 1.5 mM の CaCl_2 を含有した CM (DM) にて、2 週間培養された。siControl を導入した HPDLC (siControl) および非導入の HPDLC (Control) を対照群として用いた。培養後、定

量的 RT-PCR 法を用いて、骨関連因子である *Bone sialoprotein (BSP)*, *Osteocalcin (OCN)*, *Osteopontin (OPN)* および *Osterix (OSX)* の遺伝子発現を解析した。n=3, * p < 0.05, ** p < 0.01。

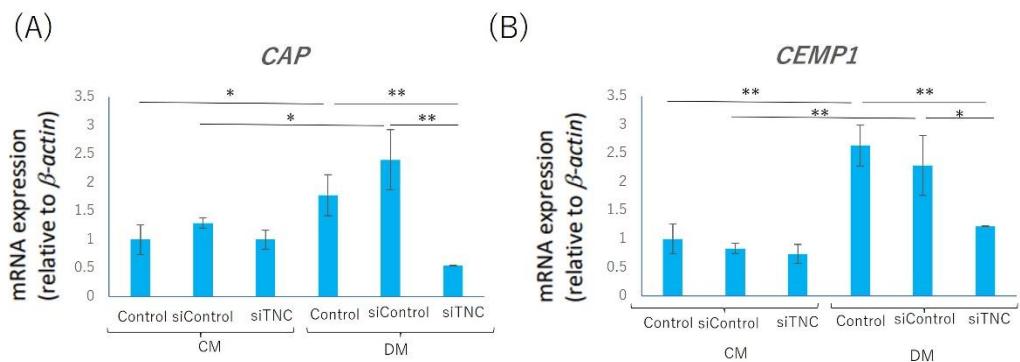


図 3. TNC の発現抑制が HPDLC のセメント質関連因子の遺伝子発現に及ぼす影響
 siRNA 試薬にて TNC を発現抑制した HPDLC (siTNC) は、 α MEM/10%FBS (CM) または 1.5 mM の CaCl_2 を含有した CM (DM) にて、2 週間培養された。siControl を導入した HPDLC (siControl) および非導入の HPDLC (Control) を対照群として用いた。培養後、定量的 RT-PCR 法を用いて、セメント質関連因子である *Cementum attachment protein (CAP)* および *Cementum protein 1 (CEMP1)* の遺伝子発現を解析した。n=3, * p < 0.05, ** p < 0.01。

分担研究報告書

ダイオキシン類への曝露が口腔内組織の老化に及ぼす影響について

研究分担者 友清 淳 北海道大学歯科保存学教室 教授

研究要旨 Benzo(a)pyrene により、ヒト歯根膜細胞の炎症関連遺伝子および老化関連遺伝子が変動する（老化では特に CDKN1A）ことが明らかになった。

A. 研究目的

先行研究において、ダイオキシン類が様々な組織の炎症を誘導することが明らかとなっている。また近年、老化細胞が様々な炎症性タンパクを分泌する SASP と呼ばれる現象が明らかとなっている。しかしながら、ダイオキシン類への曝露が、口腔内組織の炎症や老化に及ぼす影響は不明な点が多い。そこで本研究では、ヒト歯根膜細胞を用いて、ダイオキシン類への曝露が、それらの炎症関連および老化関連遺伝子発現に及ぼす影響について解析することとした。

B. 研究方法

ダイオキシン類である Benzo(a)pyrene (BaP) 存在下または非存在下にて 7 日間培養したヒト歯根膜細胞から mRNA を抽出したのち、逆転写酵素等を用いて cDNA を合成した。それらを用いて Microarray 法を行い、BaP の存在下および非存在下におけるヒト歯根膜細胞の遺伝子発現を網羅的に解析した。次に、それらの結果を DAVID Bioinformatics や Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) などのデータベースを用いて検証した。

（倫理面への配慮）

ヒト歯根膜細胞の使用は、九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会へ申請を行ったのち、承認を得ている。またインフォームドコンセントを行い、患者からの同意を得たうえで実験に

使用している。細胞には匿名化を行い、本人特定を不可としている。

C. 研究結果

DAVID および KEGG の結果から、炎症の伝達制御に関連する 10 遺伝子および細胞老化に関連する 16 遺伝子が明らかとなつた。また REACTOME の結果から、抗炎症作用に関連する 6 遺伝子および細胞老化に関連する 17 遺伝子が明らかとなつた。さらに WIKIPATHWAY により抗ウィルスおよび抗炎症に関連する 6 遺伝子および老化における炎症性物質代謝に関連する 10 遺伝子が明らかとなつた。炎症に関しては 3 つの解析法の結果で重複するものは認められなかつたが、老化では 3 つの解析法のいずれにおいても CDKN1A が含まれており、2 つの解析法において CDKN2A ならびに MAP2K6 が含まれていた。さらに GENE MANIA にて、CDKN1A と CDKN2A には physical interactions が存在することが明らかとなつた。

D. 考察

ダイオキシン類はヒト歯根膜細胞における炎症や老化に関連する遺伝子発現に変動を引き起こす。特に老化における CDKN1A は 3 つの解析法のいずれにおいても選出されたことから、ダイオキシン類が老化を誘導する際に重要な役割を果たす遺伝子であることが示唆された。

E. 結論

Benzo(a)pyrene はヒト歯根膜細胞の炎症関連および老化関連遺伝子の発現量を変化させる。CDKN1A は Benzo(a)pyrene によって誘導される AhR シグナルの標的遺伝子である可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当無し

2. 学会発表

該当無し

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

該当無し

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、

【厚生労働科学研究費により刊行】

福永貴之、小牧龍二、申敏哲. 舌への触・圧、痛覚刺激が脳血管性認知症モデルラットの記憶力と細胞死に及ぼす影響. *Journal of Kumamoto Health Science University*. 21: 2024. In press.

辻学. 炎症性皮膚疾患における IL-37 の役割と芳香族炭化水素受容体による制御機構. *福岡医学雑誌*, 114(1), 3-9 (2023).

堀就英、飛石和大、安武大輔、新谷依子、古谷貴志、高尾佳子、戸高尊、広瀬勇氣、香月進、辻学、同居家族条件によって認定された油症患者の血液中ダイオキシン類と傾向. *福岡医学雑誌*, 114(1), 10-16 (2023).

辻博、松村潔. 油症における末梢血 CD4 陽性 CD25 陽性 T リンパ球に関する検討. *福岡医学雑誌*, 114(1), 17-21 (2023).

申敏哲、行平崇、小牧龍二、福永貴之、田中哲子、吉村恵坐骨神経および脊髄神経のタンパク質発現に基づくベンゾ[a]ピレン投与ラットに対するシナモンの効果：油症における末梢血 CD4 陽性 CD25 陽性 T リンパ球に関する検討. *福岡医学雑誌*, 114(1), 22-30 (2023).

太田千穂、加藤善久、原口浩一、藤井由希子、木村治、古賀信幸. チャイニーズハムスター肝クロゾームによる Tetrachlorobiphenyl の代謝. *福岡医学雑誌*, 114(1), 31-39 (2023).

太田千穂、原口浩一、加藤善久、藤井由希子、木村治、古賀信幸. 2,2',3,4',5',6-六塩素化ビフェニル (CB149) のラット、ハムスター、モルモットおよびヒトにおける *in vitro* 代謝の比較研究. *福岡医学雑誌*, 114(1), 40-50 (2023).

服部友紀子、武田知起、山田英之、石井祐次. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin 母体暴露による胎児期成長ホルモン発現低下：胎児期の成長ホルモン補給による成長後の骨代謝改善. *福岡医学雑誌*, 114(1), 51-64 (2023)

稻次良哉、池田佳乃子、佐野宏江、堤諒太、太田千穂、古賀信幸、田中嘉孝、石井祐次. ダイオキシン低用量曝露母体の肝薬物代謝第二相酵素活性の変動とポリメトキシフラボノイドの *in vitro* 阻害効果. *福岡医学雑誌*, 1114(1): 65-77 (2023)

Yoko Kuba-Fuyuno, Makiko Kido-Nakahara, Gaku Tsuji, Sawako Sakai, Takeshi Nakahara. Proposal of a cutaneous lupus erythematosus-like keratinocyte model in vitro under local conditions using interferon-alpha and Poly I:C and its use in examining the therapeutic effects of tyrosine kinase 2 inhibitor. *J Dermatol.* 2024 Jul;51(7):1031-1033.

Yamamura K, Ohno F, Yotsumoto S, Sato Y, Kimura N, Nishio K, Inoue K, Ichiki T, Kuba-Fuyuno Y, Fujishima K, Ito T, Kido-Nakahara M, Tsuji G, Nakahara T. Extracellular ATP Contributes to Barrier Function and Inflammation in Atopic Dermatitis: Potential for Topical Treatment of Atopic Dermatitis by Targeting Extracellular ATP. *Int J Mol Sci.* 2024 Nov 15;25(22):12294. doi: 10.3390/ijms252212294.

Tsuji G, Yumine A, Kawamura K, Takemura M, Kido-Nakahara M, Yamamura K, Nakahara T. Difamilast, a Topical Phosphodiesterase 4 Inhibitor, Produces Soluble ST2 via the AHR-NRF2 Axis in Human Keratinocytes. *Int J Mol Sci.* 2024 Jul 19;25(14):7910. doi: 10.3390/ijms25147910.

Tsuji G, Yumine A, Kawamura K, Takemura M, Nakahara T. Induction of Semaphorin 3A by Resveratrol and Pinostilbene via Activation of the AHR-NRF2 Axis in Human Keratinocytes. *Antioxidants (Basel).* 2024 Jun 17;13(6):732. doi: 10.3390/antiox13060732.

Tsuji G, Yumine A, Kawamura K, Takemura M, Kido-Nakahara M, Yamamura K, Nakahara T. Difamilast, a Topical Phosphodiesterase 4 Inhibitor, Produces Soluble ST2 via the AHR-NRF2 Axis in Human Keratinocytes. *Int J Mol Sci.* 2024 Jul 19;25(14):7910. doi: 10.3390/ijms25147910. PMID: 39063153; PMCID: PMC11277015.

Tsuji G, Yumine A, Kawamura K, Takemura M, Nakahara T. Induction of Semaphorin 3A by Resveratrol and Pinostilbene via Activation of the AHR-NRF2 Axis in Human Keratinocytes. *Antioxidants (Basel).* 2024 Jun 17;13(6):732. doi: 10.3390/antiox13060732. PMID: 38929171; PMCID: PMC11201291.

Tsuji G, Yamamura K, Kawamura K, Kido-Nakahara M, Ito T, Nakahara T. Regulatory Mechanism of the IL-33-IL-37 Axis via Aryl Hydrocarbon Receptor in Atopic Dermatitis and Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 27;24(19):14633. doi: 10.3390/ijms241914633.

Tsuji G, Yumine A, Yamamura K, Takemura M, Kido-Nakahara M, Ito T, Nakahara T. The Therapeutic Aryl Hydrocarbon Receptor-Modulating Agent Tapinarof Regulates SEMA3A Expression in Human Keratinocytes through NRF2. *J Invest Dermatol.* 2024 Mar;144(3):710-713.e8. doi: 10.1016/j.jid.2023.10.002. Epub 2023 Oct 12. PMID: 37838333.

Tsuji G, Yamamura K, Kawamura K, Kido-Nakahara M, Ito T, Nakahara T. Regulatory Mechanism of the IL-33-IL-37 Axis via Aryl Hydrocarbon Receptor in Atopic Dermatitis and Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2023 Sep 27;24(19):14633. doi: 10.3390/ijms241914633. PMID: 37834081; PMCID: PMC10572928.

Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Yumine A, Takemura M, Kido-Nakahara M, Ito T, Yamamura K, Nakahara T. PDE4 inhibition by difamilast regulates filaggrin and loricrin expression via keratinocyte proline-rich protein in human keratinocytes. *J Dermatol Sci.* 2023 May;110(2):61-68. doi: 10.1016/j.jdermsci.2023.04.007. Epub 2023 Apr 28. PMID: 37156706.

Tsuji G, Yamamura K, Kawamura K, Kido-Nakahara M, Ito T, Nakahara T. Novel Therapeutic Targets for the Treatment of Atopic Dermatitis. *Biomedicines.* 2023 Apr 27;11(5):1303. doi: 10.3390/biomedicines11051303. PMID: 37238974; PMCID: PMC10215969.

Tsuji G, Yumine A, Yamamura K, Takemura M, Kido-Nakahara M, Ito T, Nakahara T. The Therapeutic Aryl Hydrocarbon Receptor-Modulating Agent Tapinarof Regulates SEMA3A Expression in Human Keratinocytes through NRF2. *J Invest Dermatol.* 2023 Oct 12:S0022-202X(23)02952-4. doi: 10.1016/j.jid.2023.10.002.

Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Yumine A, Takemura M, Kido-Nakahara M, Ito T, Yamamura K, Nakahara T. PDE4 inhibition by difamilast regulates filaggrin and loricrin expression via keratinocyte proline-rich protein in human keratinocytes. *J Dermatol Sci.* 2023 May;110(2):61-68.

Ming Yuan, Hiroe Sano, Takaaki Nishino, Hongbin Chen, Ren-Shi Li, Yuki Matsuo, Kyoko Nishida, Takayuki Koga, Tomoki Taked, Yoshitaka Tanaka, Yuji Ishii, α -Lipoic acid eliminates dioxin-induced offspring sexual immaturity by improving abnormalities in folic acid metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, 210: 115490 (2023).

Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Matsuda-Taniguchi T, Takai-Yumine A, Takemura M, Yan X, Furue M, Nakahara T. Natural Compounds Tapinarof and *Galactomyces* Ferment Filtrate Downregulate IL-33 Expression via the AHR/IL-37 Axis in Human Keratinocytes. *Front Immunol.* 2022 May 19;13:745997. doi: 10.3389/fimmu.2022.745997.

Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Matsuda-Taniguchi T, Takai-Yumine A, Takemura M, Yan X, Furue M, Nakahara T. Natural Compounds Tapinarof and *Galactomyces* Ferment Filtrate Downregulate IL-33 Expression via the AHR/IL-37 Axis in Human Keratinocytes. *Front Immunol.* 2022 May 19;13:745997. doi: 10.3389/fimmu.2022.745997. PMID: 35663970; PMCID: PMC9161696.

令和6年度研究班構成員氏名

研究代表者

中原 剛士 (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

石井 祐次 (九州大学大学院薬学研究院細胞生物薬学分野 准教授)

井上 大輔 (長崎大学病院眼科 助教)

太田 千穂 (中村学園大学栄養科学部 准教授)

緒方 英紀 (九州大学病院神経内科 助教)

岡本 勇 (九州大学大学院医学研究院呼吸器内科学分野 教授)

小野塚大介 (大阪大学大学院医学系研究科罹患後症状治療学 特任准教授)

貝沼茂三郎 (富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座 教授)

白石 博昭 (福岡県保健環境研究所 所長)

加藤 聖子 (九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学分野 教授)

川崎 五郎 (長崎大学口腔腫瘍治療学分野 准教授)

申 敏哲 (熊本保健科学大学リハビリテーション学科 教授)

園田 康平 (九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授)

辻 学 (九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 准教授)

辻 博 (北九州若杉病院 西日本総合医学研究所 所長)

藤原 稔史 (九州大学病院整形外科 助教)

戸高 尊 (公益財団法人北九州生活科学センター 課長)

友清 淳 (北海道大学歯科保存学教室 教授)

鳥巣 剛弘 (九州大学病院消化管内科 講師)

冬野 洋子 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野 助教)

前田 英史 (九州大学大学院歯学研究院歯科保存学研究分野 教授)

室田 浩之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授)

山村 和彦 (九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教)

(五十音順)

研究協力者

- 芦田 美輪 (九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教)
市村 清隆 (公益財団法人北九州生活科学センター 理事長)
上原口奈美 (公益財団法人北九州生活科学センター 検査員)
上松 聖典 (長崎大学病院眼科 准教授)
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)
工藤 愛透翔 (福岡県保健環境研究所生活化学課 技師)
熊谷 博史 (福岡県保健環境研究所企画情報管理課 課長)
古賀 信幸 (中村学園大学 名誉教授)
酒谷 圭一 (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 研究員)
重富 敬太 (福岡県保健環境研究所生活化学課 主任技師)
新谷 依子 (福岡県保健環境研究所生活化学課 研究員)
高尾 佳子 (福岡県保健環境研究所企画情報管理課 専門研究員)
高野 智嗣 (九州大学病院呼吸器科 助教)
坪内 和哉 (九州大学病院呼吸器科 助教)
飛石 和大 (福岡県保健環境研究所生活化学科 専門研究員)
中村 麻子 (福岡県保健環境研究所生活化学科 研究員)
中村 優子 (九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 看護師)
濱田 律雄 (九州大学環境発達医学研究センター 特任助教)
平川 周作 (福岡県保健環境研究所水質課 研究員)
広瀬 勇氣 (公益財団法人北九州生活科学センター 検査員)
堀 就英 (福岡県保健環境研究所生活化学課 課長)
宮崎 昭行 (医療法人山内診療所 診療所長)
宮脇 崇 (北九州市立大学エネルギー循環化学科 准教授)
吉富 泉 (諫早総合病院歯科口腔外科 医長)
吉村 恵 (医療法人社団温故会直方中村病院 病院長)
- (五十音順)

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学研究院・教授

(氏名・フリガナ) 中原 剛士・ナカハラ タケシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

令和7年4月1日

機関名 国立大学法人大阪大学
所属研究機関長 職名 大学院医学系研究科長
氏名 熊ノ郷 淳

次の職員の令和7年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 大学院医学系研究科・特任准教授 (常勤)

(氏名・フリガナ) 小野塚大介・オノヅカダイスケ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	■ □	■	九州大学、大阪大学	□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□ ■	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□ ■	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	□ ■	□		□

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ■ 未受講 □
-------------	------------

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ■ 無 □ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ■ 無 □ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ■ 無 □ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 □ 無 ■ (有の場合はその内容:)

(留意事項) •該当する□にチェックを入れること。
•分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 公益財団法人北九州生活科学
センター
所属研究機関長 職名 理事長
氏名 市村 清隆



次の職員の(元号)6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 公益財団法人 北九州生活科学センター・課長

(氏名・フリガナ) 戸高 尊 (トダカ タカシ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 国立大学法人富山大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 齊藤 滋

次の職員の（元号） 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理について以下とおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 富山大学学術研究部医学系和漢診療学講座・教授

(氏名・フリガナ) 貝沼 茂三郎・カイヌマ モザブロウ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

令和7年4月1日

機関名 福岡県保健環境研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 白石 博昭

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 福岡県保健環境研究所・所長

(氏名・フリガナ) 白石 博昭・シライシ ヒロアキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	■ □	■	福岡県保健環境研究所	□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□ ■	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□ ■	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	□ ■	□		□

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ■ 未受講 □
-------------	------------

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ■ 無 □ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ■ 無 □ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ■ 無 □ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 □ 無 ■ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学研究院・教授

(氏名・フリガナ) 加藤 聖子・カトウ キヨコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 北九州若杉病院

所属研究機関長 職名 院長

氏名 松村 潔

次の職員の(元号) 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理について以下とおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 西日本総合医学研究所・所長

(氏名・フリガナ) 辻 博・ツジ ヒロシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学研究院 呼吸器内科学分野・教授

(氏名・フリガナ) 岡本 勇・オカモト イサム

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 消化管内科・講師

(氏名・フリガナ) 鳥巣 剛弘 (トリス タケヒロ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 医学研究院・教授

(氏名・フリガナ) 園田 康平・ソノダ コウヘイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年2月6日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人長崎大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 永安 武

次の職員の令和6年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 病院・助教

(氏名・フリガナ) 井上 大輔・イノウエ ダイスケ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) •該当する□にチェックを入れること。

•分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 九州大学病院 脳神経内科 助教

(氏名・フリガナ) 緒方 英紀 オガタ ヒデノリ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 熊本保健科学大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 竹屋 元裕

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) リハビリテーション学科理学療法専攻 · 教授

(氏名・フリガナ) 申 敏哲

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	熊本保健科学大学動物実験委員会(許可番号、動18-10)	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) •該当する□にチェックを入れること。
•分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の(令和)6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理について以下とおりです。

1. 研究事業名 令和6年度厚生労働行政推進調査事業費補助金（食品の安全確保推進研究）
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部署・職名) 薬学研究院・准教授
(氏名・フリガナ) 石井 祐次・イシイ ユウジ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- ・該当する□にチェックを入れること。
- ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 病院・助教

(氏名・フリガナ) 山村 和彦・ヤマムラ カズヒコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

令和7年3月31日

機関名 国立大学法人長崎大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 永安 武

次の職員の令和6年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学分野・教授

(氏名・フリガナ) 室田 浩之・ムロタ ヒロユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)			未審査 (※ 2)
		審査済み	審査した機関		
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	長崎大学		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 鳥取県の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) •該当する□にチェックを入れること。

•分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 病院・准教授

(氏名・フリガナ) 辻 学・ツジ ガク

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 九州大学医学研究院皮膚科学分野

(氏名・フリガナ) 冬野 洋子 (フユノ ヨウコ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 中村学園大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 久保 千春

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 栄養科学部栄養科学科・准教授

(氏名・フリガナ) 太田 千穂・オオタ チホ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	中村学園大学	<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェック
クレー部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- ・該当する□にチェックを入れること。
- ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 大学病院・助教

(氏名・フリガナ) 藤原 稔史 (フジワラ トシフミ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	--

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

令和7年3月31日

機関名 国立大学法人長崎大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 永安 武

次の職員の令和6年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 大学院医歯薬学総合研究科口腔腫瘍治療学分野・准教授

(氏名・フリガナ) 川崎 五郎・カワサキ ゴロウ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※ 2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人九州大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 石橋 達朗

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 歯学研究院・教授

(氏名・フリガナ) 前田 英史・マエダ ヒデフミ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月1日

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学学院長)

機関名 国立大学法人北海道大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 審金 清博

次の職員の(元号) 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理について以下とおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部署・職名) 北海道大学歯学研究院歯科保存学教室・教授

(氏名・フリガナ) 友清 淳 (トモキヨ アツシ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入(※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査(※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針(※3)	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	九州大学医系地区部局 観察研究倫理審査委員会	<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他(特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項)

- 該当する□にチェックを入れること。
- 分担研究者の所属する機関の長も作成すること。