

## 分担研究報告書

### 油症検診受診者の血液中 PCDF 等（ダイオキシン類）濃度実態調査

研究分担者	香月 進	福岡県保健環境研究所	所長
研究協力者	堀 就英	福岡県保健環境研究所	生活化学課 課長
	平川 博仙	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	飛石 和大	福岡県保健環境研究所	生活化学課 専門研究員
	新谷 依子	福岡県保健環境研究所	生活化学課 研究員
	佐藤 環	福岡県保健環境研究所	生活化学課 主任技師
	古谷 貴志	福岡県保健環境研究所	生活化学課 主任技師
	平川 周作	福岡県保健環境研究所	水質課 研究員
	小木曾 俊孝	福岡県保健環境研究所	計測技術課 主任技師
	戸高 尊	公益財団法人北九州生活科学センター	室長
	広瀬 勇氣	公益財団法人北九州生活科学センター	検査員
	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。2020 年度の油症検診で血液中ダイオキシン類濃度を測定した認定患者 14 名と未認定者 66 名について結果集計を行った。認定患者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 53 pg/g-fat となり、2, 3, 7, 8-TeCDD 毒性等価係数（WHO-2006）を用いて毒性等量（TEQ）に換算した総ダイオキシン類（Total TEQ）の平均濃度は 42 pg TEQ/g-fat であった。一方、未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 平均濃度は 10 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 18 pg TEQ/g-fat であった。2020 年度に実施した血液中ダイオキシン類の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 6 機関の定量値は概ね一致しており、各機関で血液中ダイオキシン類の定量分析が適切に実施されていることが分かった。

PCB 異性体の化学特性及び *in silico* 解析によるヒトチトクローム P450（CYP）分子種と PCB 異性体のドッキング様式のシミュレーションデータを用い、油症患者における PCB 異性体の特徴的な蓄積パターンに影響を与える要因を解析した。その結果、PCB 異性体のうち分子サイズ・脂溶性が大きいもの、同程度の分子サイズ・脂溶性の異性体でも *meta*-位、*para*-位の塩素原子置換数が多い異性体ほど油症患者で代謝されにくく、かつ蓄積しやすい傾向にあることが示された。また、油症患者において代謝または蓄積されやすい PCB 異性体の判別に関与する因子として、CYP1A1 による *meta*-位、CYP2A6 による *meta*-位、CYP1A1 による *ortho*-位を標的とした代謝能の差が抽出された。

現在、2021 年度に行われた全国油症一斉検診の受診 93 名について血液中ダイオキシン類濃度測定を行っている。

## A. 研究目的

2004年に血液中2,3,4,7,8-PeCDF値が新たな油症診断基準に加えられた。また2012年12月には油症診断基準追補(同居家族の条件追補)が加わり、2020年度現在の認定患者数は2,358名である。

全国油症治療研究班では、油症認定患者の治療と追跡、ならびに未認定者の患者診定に資することを目的として、毎年全国で油症一斉検診を行っている。本分担研究では、福岡県保健環境研究所で開発したダイオキシン類分析法を用いて、油症一斉検診受診者のうち、2001年度は福岡県の受診者中の希望者、2002~2006年度の5年間は全国の受診者における希望者、2007年度からは未認定者と油症認定患者のうち初回及び過去3年以内に測定歴の無い認定患者の血液中ダイオキシン類濃度を測定してきた。測定結果は患者認定における指標値として用いられ、患者の血液中ダイオキシン類濃度の解明、血液中濃度の経年推移や体外排泄速度の解析等に活用されている。

本年度は以下の3項目について検討した。

(1) 2020年度全国油症一斉検診の受診者のうち血液中ダイオキシン類濃度の測定を行った80名について結果集計を行った。2013年度から検診が始まった同居認定者の血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を検診認定者及び未認定者と比較し、現状の把握を行った。

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

(3) PCB異性体の化学特性及び*in silico*解析によるヒトチトクロームP450(CYP)分子種とPCB異性体のドッキング様式のシミ

ュレーションデータを用いて、統計学的手法により油症患者におけるPCB異性体の特徴的な蓄積パターンに影響を与える要因を解析した。

## B. 研究方法

### 1. 血液中ダイオキシン類の測定

血液中ダイオキシン類の測定は、2001年度に開発した高感度分析法に準じて行った。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て現在に至っている。定量結果の信頼性を確保するため、血液試料22件につきブランク試験1件、内部精度管理試料としてヒト血清1件を加えた計24件を「1バッチ」として前処理を実施し、試験操作が適切に実施されているか確認した。

2020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14名及び未認定者66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℃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2020年の検診受診時のものを用いた。

### 2. 血液中ダイオキシン類濃度分析の精度管理

国内の分析機関(5か所)に2種類の血液試料を配付し、ダイオキシン類(毒性等価係数が設定されている29異性体)の測定を

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及び脂肪重量あたりのダイオキシン類異性体別濃度及び毒性等量 (TEQ) とした。TEQ の算出には TEF (WHO-2006) を用いた。

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 6 機関分のデータを集計して解析した。定量下限未満の異性体濃度は定量下限の 1/2 値に置き換え、全血重量及び脂肪重量あたりの測定結果を集計した。各分析機関の比較には CV 値および Z スコアを用いた。

### 3. PCB 異性体の化学特性及び PCB-CYP ドッキング様式シミュレーションデータの統計解析

ヒトの血液中から検出される 69 種の PCB 異性体について、オクタノール水分配係数、分子量、塩素置換数、*ortho*-、*meta*-、*para*-位の炭素原子における塩素原子未置換数、隣接する炭素原子に塩素原子が置換していない組み合わせの位置と数を各 PCB 異性体の化学特性として主成分分析を実施した。第 1、第 2 主成分の主成分得点から散布図を作成し、油症患者と一般人の PCB 異性体濃度から算出した Yusho/Control ratio [ $\text{Log}_2 \frac{\text{Yusho patients (each congeners/CB153)}}{\text{Controls (each congeners/CB153)}}$ ] の値に基づいて分類した。

これまでに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」との共同研究により、69 種の PCB 異性体と 7 種の薬物代謝酵素 CYP 分子種のドッキング様式のシミュレーションによる *in silico* 解析を実施してき

た。CYP の活性中心にあるヘム鉄と基質の代謝標的部位の距離が代謝に関わる重要な因子であることから、5Å を閾値として PCB の骨格構造における *ortho*-位、*meta*-位、*para*-位ごとに整理し、Yusho/Control ratio で示される油症患者において代謝または蓄積されやすい PCB 異性体の判別に関与する因子をロジスティック回帰分析により解析した。

(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 12 月 3 日承認)。

## C. 研究結果・考察

### 1. ダイオキシン類分析の信頼性確保

#### 1-1. 内部精度管理

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

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

#### 1-2. 外部精度管理

6 機関 (A~F) の血液中ダイオキシン類濃度の測定結果 (全血重量あたり) を表 1 に

示した。血液中の各同族体 PCDDs、PCDFs、non-ortho PCBs、mono-ortho PCBs 及び Total TEQ の平均値は Sample 1 がそれぞれ 0.0074、0.014、0.0076、0.0010 及び 0.030 pg-TEQ/g-wet、Sample 2 が 0.0092、0.040、0.0080、0.0013 及び 0.059 pg-TEQ/g-wet であり、Sample 1 及び 2 の Total TEQ の CV 値はそれぞれ 18% 及び 11% であった。結果として各分析機関の測定値は概ね一致しており、ダイオキシン類の抽出と測定は良好に実施されていたと考えられた。

一方、ダイオキシン類濃度を抽出脂肪重量あたりに換算すると、抽出脂肪量のばらつきが上乘せされ、全血重量あたりの測定値に比べて CV 値は高くなった(表 2)。しかし Z スコアによる評価では、脂肪重量あたりの濃度であっても Sample 1、2 ともに Z スコアが ±2 を超えた機関はなく、良好な結果であった(図 1)。

## 2. 2020 年度油症一斉検診受診者の血液中ダイオキシン類濃度

2020 年度の血液中ダイオキシン類測定対象者は 80 名(内訳：認定患者 14 名及び未認定者 66 名)であり、2019 年度の 228 名に比べて 148 名減少した。これは新型コロナウイルス感染症拡大の影響により、全国で健診の規模が縮小されたことが主たる原因である。また、2007 年度以降、ダイオキシン類測定対象者は初回受診者と過去 3 年以内に測定歴の無い認定患者としており、4 年周期で測定件数が多くなる傾向がある。2020 年度はそのピークの翌々年に当たっていたこと、未認定者の受診者減少には 2012 年 12 月に油症診断基準に同居家族条項が追加され、一部の未認定者が同居家族条件による認定を受けたことが要因として含ま

れる。

表 3 に 2020 年度の油症一斉検診の油症認定患者及び未認定者の血液中ダイオキシン類濃度の分析結果、ならびに 2004 年度に福岡県内で実施した一般住民の血液中ダイオキシン類濃度を示した。

認定患者全体(14 名)の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 53 pg/g-fat となり、2, 3, 7, 8-TeCDD 毒性等価係数(WHO-2006)を用いて毒性等量(TEQ)に換算した総ダイオキシン類(Total TEQ)の平均濃度は 42 pg TEQ/g-fat であった。このうち検診認定者(10 名)の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 68 pg/g-fat となり、Total TEQ の平均濃度は 50 pg TEQ/g-fat であった。一方、同居認定者(4 名)の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 15 pg/g-fat であり、Total TEQ の平均濃度は 22 pg TEQ/g-fat であった。未認定者 66 名の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 10 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 18 pg TEQ/g-fat であった。

2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度を対照群の一般住民と比較すると、認定患者の平均濃度は一般住民に対してそれぞれ 3.1 倍高く、未認定者は一般住民とほぼ同等の濃度であった。

表 4 に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の度数分布を示した。同居認定者と未認定者は検診認定者と比べて低濃度域に分布し、油症診断基準で「高い濃度」に区分される 50 pg/g-fat を超えた受診者は認められなかった。

## 3. 油症患者における PCB 異性体の特徴的な蓄積パターンに影響を与える要因の解析

PCB 異性体の化学特性について実施した主成分分析の結果を図 2 に示す。第 1 主成分及び第 2 主成分の主成分得点と

Yusho/Control ratio に基づく各 PCB 異性体の分類を対比した結果、分子サイズ・脂溶性が大きい異性体、また、同程度の分子サイズ・脂溶性の異性体でも *meta*-位、*para*-位の塩素原子置換数が多い異性体ほど油症患者で代謝されにくく蓄積しやすい傾向にあることが示された。

また、Yusho/Control ratio に基づいて油症患者において代謝または蓄積されやすい PCB 異性体として分類し、その判別に関与する因子を解析した結果、CYP1A1 による *meta*-位 (オッズ比 4.1、 $p < 0.05$ )、CYP2A6 による *meta*-位 (オッズ比 3.9、 $p < 0.05$ )、CYP1A1 による *ortho*-位 (オッズ比 0.12、 $p < 0.05$ ) を標的とした代謝能の差が抽出された。

#### D. 結論

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

2020 年度の血液中ダイオキシン類濃度測定対象は、油症認定患者 14 名と未認定者 66 名であった。検診認定者における 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 68 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 50 pg TEQ/g-fat であった。同居認定者における 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の平均濃度は 15 pg/g-fat であり、Total TEQ の平均濃度は 22 pg TEQ/g-fat であった。未認定者の 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 平均濃度は 10 pg/g-fat、Total TEQ の平均濃度は 18 pg TEQ/g-fat であった。同居認定者及び未認定者の血液

中ダイオキシン類濃度は一般人と同等のレベルであり、油症診断基準で「高い濃度」に該当する受診者は認められなかった。2001 年度から 19 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 5937 件となった。2020 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。

油症患者における PCB 異性体の特徴的な蓄積パターンに影響を与える要因を解析した結果、PCB 異性体の分子サイズ・脂溶性や *meta*-位、*para*-位の塩素原子置換数が影響していることが示唆された。また、PCB-CYP ドッキング様式のシミュレーションデータを用いた判別分析により、油症患者における PCB 蓄積パターンには CYP1A1・CYP2A6 が関与し、特に *meta*-位を標的とした代謝能が影響していると推測された。

#### E. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sato T, Kogiso T, Kamiharaguchi N, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Kajiwara J, Katsuki S, Furue M, Tsuji G. Polychlorinated Quaterphenyl Concentrations in the Blood and Their Patterns in Subjects Examined for a Possible Diagnosis of Yusho from FY 2009 to 2019. Fukuoka Acta Medica, 2021. 112(2). 90-98.
- 2) 新谷依子、堀就英、飛石和大、平川博仙、佐藤環、安武大輔、戸高尊、梶原淳睦、香月進、辻学、古江増隆. 血液中ダイオキシン

ン類および PCB 濃度測定のカロスチェック (2016~2019 年度). 福岡医学雑誌、2021. 112(2). 99-109.

## 2. 学会発表

- 1) Hori T, Hirakawa H, Tobiishi T, Shintani Y, Sato T, Todaka T, Hirose Y, Hirose Y, Kajiwara J, Katsuki S, Tsuji G. Concentrations of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in the Blood of Yusho Patients Half a Century After the Incident. 41st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Tianjin, China, 2021 November.
- 2) 新谷依子、堀就英、平川博仙、飛石和大、古谷貴志、香月進、辻学. 血液中ダイオキ

シン類分析のカロスチェック (2020 年度). 第 29 回環境化学討論会 (豊中市・Web ハイブリッド)、2021 年 6 月 1-3 日.

- 3) 平川周作、宮脇崇、堀就英、香月進、平野将司、岩田久人、辻学. 油症患者における PCB 異性体の特徴的蓄積パターンに影響を与える要因の解析. 第 29 回環境化学討論会 (豊中市・Web ハイブリッド)、2021 年 6 月 1-3 日.

## H. 知的所有権取得

1. 特許取得           なし
2. 実用新案登録   なし
3. その他             なし

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

		分析機関						平均値	CV%
		A	B	C	D	E	F		
Sample 1	PCDDs TEQ	0.0052	0.0087	0.012	0.0049	0.0090	0.0044	0.0074	43
	PCDFs TEQ	0.011	0.015	0.016	0.014	0.014	0.014	0.014	11
	non-ortho PCBs TEQ	0.0057	0.0089	0.0093	0.0070	0.0074	0.0073	0.0076	17
	mono-ortho PCBs TEQ	0.0011	0.00091	0.00093	0.0010	0.0011	0.0013	0.0010	14
	Total dioxins TEQ	0.023	0.034	0.038	0.027	0.031	0.027	0.030	18
Sample 2	PCDDs TEQ	0.0056	0.010	0.015	0.0086	0.0078	0.0074	0.0092	37
	PCDFs TEQ	0.041	0.046	0.043	0.037	0.037	0.037	0.040	9.0
	non-ortho PCBs TEQ	0.0087	0.0078	0.0091	0.0069	0.0079	0.0075	0.0080	10
	mono-ortho PCBs TEQ	0.0015	0.0012	0.0012	0.0013	0.0014	0.0013	0.0013	8.6
	Total dioxins TEQ	0.057	0.065	0.069	0.054	0.055	0.054	0.059	11

表 2 共通血液試料中のダイオキシン類測定結果（脂肪重量あたり、pg/g-fat）

		分析機関						平均値	CV%
		A	B	C	D	E	F		
Sample 1	脂肪濃度 (%)	0.43	0.35	0.31	0.31	0.41	0.32	0.35	15
	PCDDs TEQ	1.2	2.5	4.1	1.6	2.2	1.5	2.2	48
	PCDFs TEQ	2.6	4.4	5.1	4.5	3.4	4.4	4.1	22
	non-ortho PCBs TEQ	1.3	2.6	3.0	2.3	1.8	2.3	2.2	27
	mono-ortho PCBs TEQ	0.27	0.26	0.30	0.31	0.26	0.40	0.30	18
	Total dioxins TEQ	5.4	9.7	13	8.7	7.5	8.5	8.7	27
Sample 2	脂肪濃度 (%)	0.50	0.41	0.33	0.34	0.49	0.27	0.39	22
	PCDDs TEQ	1.1	2.4	4.6	2.6	1.6	2.6	2.5	48
	PCDFs TEQ	8.5	11	13	11	7.8	14	11	22
	non-ortho PCBs TEQ	1.7	1.9	2.7	2.1	1.6	2.8	2.1	23
	mono-ortho PCBs TEQ	0.31	0.30	0.37	0.38	0.28	0.49	0.35	21
	Total dioxins TEQ	12	16	21	16	11	20	16	24

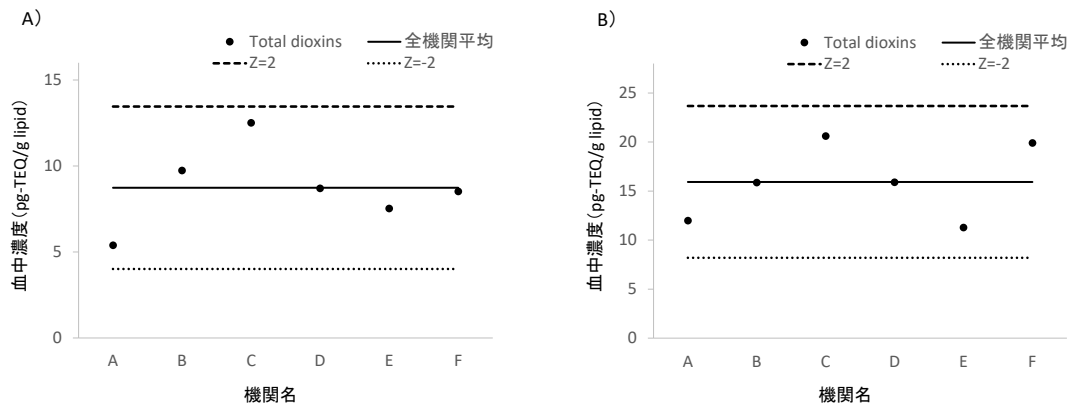


図 1 機関別血液中ダイオキシン類濃度の $\bar{X}$ 管理図 (A: Sample 1、B: Sample 2)

表3 2020年度血液中ダイオキシン類濃度調査結果 (単位: pg/g-fat)

Congeners	2020年度検診結果								一般住民 (2004年, N=127)			
	認定患者(N=14)				未認定者(N=66)				Mean	SD	Min	Max
	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
2,3,7,8-TCDD	1.5	0.91	ND	3.3	1.1	0.82	ND	4.4	1.9	0.84	ND	4.3
1,2,3,7,8-PeCDD	7.1	3.8	3.0	14	3.9	3.0	ND	16	9.0	3.4	3.2	20
1,2,3,4,7,8-HxCDD	3.6	2.9	ND	10	2.2	1.6	ND	8.3	3.6	1.9	ND	13
1,2,3,6,7,8-HxCDD	37	28	12	97	12	7.6	2.7	51	28	11	7.3	70
1,2,3,7,8,9-HxCDD	5.3	4.3	ND	19	3.8	3.2	ND	18	4.5	2.8	ND	16
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	47	34	14	150	40	27	11	180	78	55	18	470
OCDD	620	520	150	2200	410	310	100	2200	1200	640	180	7600
Total PCDDs	720	580	180	2500	480	350	120	2500	1300	1000	210	8200
2,3,7,8-TCDF	1.9	1.5	ND	5.0	1.0	0.93	ND	4.8	1.0	0.72	ND	4.5
1,2,3,7,8-PeCDF	0.74	0.52	ND	2.3	0.7	0.58	ND	3.3	0.67	0.55	ND	4.6
2,3,4,7,8-PeCDF	53	62	5.2	190	10	8.6	1.2	39	17	7.7	6.0	63
1,2,3,4,7,8-HxCDF	8.9	13	ND	47	2.6	3.5	ND	28	5.0	2.7	ND	20
1,2,3,6,7,8-HxCDF	5.9	5.5	ND	22	2.7	3.6	ND	28	5.7	2.6	ND	16
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.3	0.71	ND	3.2	1.0	0.33	ND	3.7	1.2	0.8	ND	5.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND				ND				ND			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.4	0.7	ND	2.8	2.2	6.4	ND	53.3	2.2	2.1	ND	14
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND				ND				ND			
OCDF	ND				ND				2.1	1.4	ND	18
Total PCDFs	77	81	14	270	25	20	10	159	37	14	15	86
3,4,4',5'-TCB(81)	ND				5.3	2.0	ND	20	5.6	2.3	ND	24
3,3',4,4'-TCB(77)	5.4	1.5	ND	11	5.6	2.6	ND	21	8.4	4.8	ND	31
3,3',4,4',5'-PenCB(126)	65	38	14	160	52	67	ND	460	110	80	17	520
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	130	100	41	390	56	56	ND	290	64	27	16	190
Total Non-ortho PCBs	210	110	70	460	120	120	20	790	190	110	59	740
Total	1000	620	310	2700	619	454	150	3000	1600	1000	290	8500
PCDDs-TEQ	14	8.0	5.2	30	7.4	5.2	1.6	31	16	5.9	5.1	35
PCDFs-TEQ	18	20	2.1	64	4.0	3.2	0.84	18	6.6	2.5	2.3	14
Non-ortho PCBs-TEQ	11	5.2	2.8	19	6.9	8.1	0.65	54	13	8.6	2.6	58
Total TEQ	42	30	12	100	18	15	3.2	91	37	16	12	100

表4 血液中2,3,4,7,8-PeCDF濃度(単位: pg/g-fat)の度数分布

濃度範囲		検診認定者	同居認定者	未認定者
以上	未満			
150 ~	200	2	-	-
100 ~	150	1	-	-
90 ~	100	-	-	-
80 ~	90	-	-	-
70 ~	80	-	-	-
60 ~	70	1	-	-
50 ~	60	-	-	-
40 ~	50	1	-	-
30 ~	40	-	1	3
20 ~	30	-	-	4
10 ~	20	4	2	19
0 ~	10	1	1	40
人数計		10	4	66



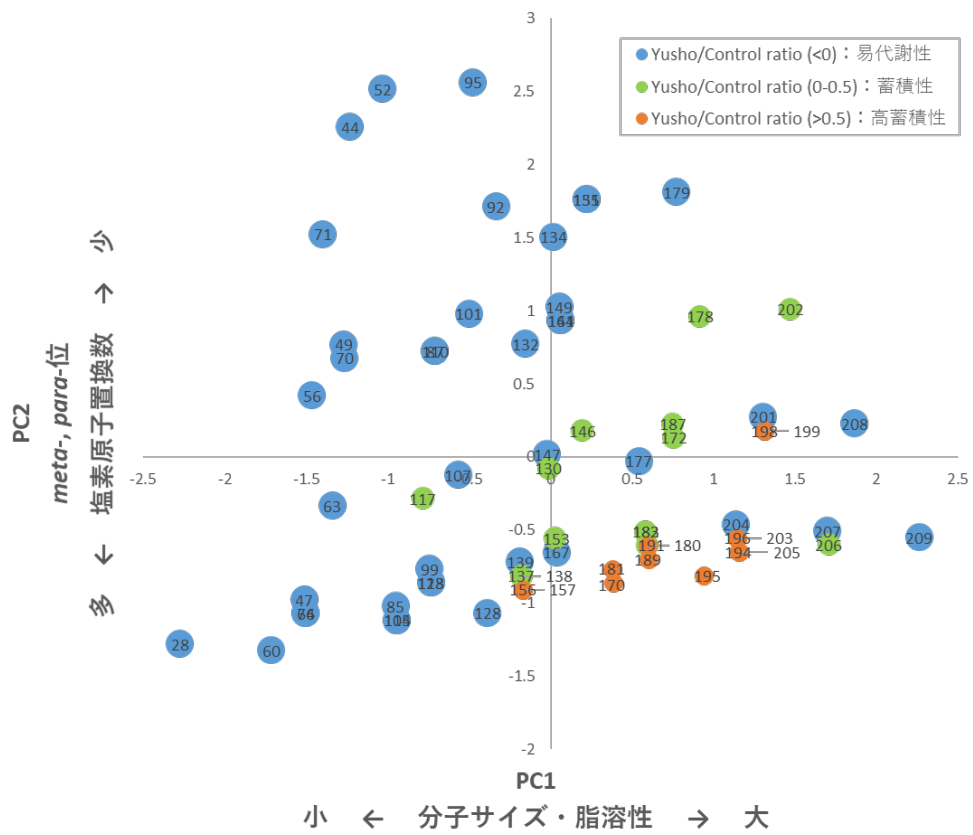


図2 PCB異性体の化学特性を用いた主成分分析とYusho/Control ratioに基づく分類