

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 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

【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、少なくとも2000人ほどの住民が被害にあった。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2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油症相談支援員制度による死因調査の結果を論文公開した。油症患者の50年間の追跡調査を実施し、死亡リスクを検証した。その結果、男性の油症患者は、女性の油種患者よりも、がんの累積死亡率が有意に高いことが明らかとなった。これとは対照的に、非がんの累積死亡率については、男女間で有意な差はみられなかった。

(2) 臨床的追跡調査・疫学研究

①令和2年度の全国油症検診受診者の検診情報の収集と管理を行った。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た。令和2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。

②PCB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。

③Thermo Fisher Scientific DFS Dual Data XLシステムにProgrammed Temperature Vaporization-Large Volume Injection (PTV-LVI)システムを装備したガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置を用いて、油症患者血液中ダイオキシン類の高感度分析法を再検討した。

④油症女性患者の閉経年齢と血中ダイオキシン類濃度との関連について検討し

た。油症女性患者における自然閉経の平均年齢は49.9歳で、わが国における女性の平均閉経年齢と変わらなかった。また、閉経年齢と閉経時の推定血中ダイオキシン(PeCDF)濃度との間には有意な相関は認めなかった。

(3) 基礎的研究

- ①油症肺傷害において肺サーファクタントである SP-D が保護的役割を担っていることが考察された。
- ②2, 4, 6-三塩素置換型 PCB (246 型 PCB) の1つの 2, 4, 6, 3', 4', 5' - hexachlorobiphenyl (PCB168)につき、ラット肝ミクロゾーム(Ms)による代謝を解析した。
- ③皮膚の慢性炎症において重要な働きをするエンドセリン-1 と AHR の相互作用について紫外線照射モデルを用いて検討した。
- ④実験動物を用い、AHR が欠損すると精巣の重量が減量する傾向を明らかとし、その機序を解析した。また、ダイオキシン誘導性蛋白質である Selenbp1 は酸化ストレスを軽減する役割を明らかにした。
- ⑤油症患者と健常者の皮膚ガスを採取、成分解析し、成分比較を試みた。
- ⑥ベンゾピレンで AHR シグナルが活性化すると歯根膜細胞の MMP2、MMP12 が増加することが分かった。
- ⑦メタゲノム法により全消化管の腸内細菌の分布を網羅的に解析し、十二指腸や空腸に AHR を活性化するインドール化合物の代謝に関わる細菌が豊富であることが分かった。
- ⑧油症患者の関節症状に関する研究では、AHR に作用するキヌレイン経路で産生されるキヌレニン酸という物質が関節内の軟骨変性を防ぐ働きがある可能性が示唆された。
- ⑨油症患者の血液細胞を分析したところ、油症患者において CD3 陽性細胞の低下が認められ、CD3 陽性細胞の低下に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の慢性的影響が示唆された。

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、環境汚染物資でもある。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. 班の総括と研究会議開催
3. 油症検診の実施 (各自治体に委託) と検診結果の全国集計
4. 油症相談員・相談支援員制度
健康の問題を含め、様々な不安を抱く患者の相談を行う。また、患者に対して既往歴、症状、生活習慣の聞き取りまたは文書による調査を行う。
5. 死因・次世代調査

ダイオキシンの生体への影響、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、これからの研究の方向性を議論し、よりよい研究を目指す。

7. 検診体制の見直し

患者の症状の変遷と高齢化にあわせて検診科目、検診項目を見直す。

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. 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。

5. PCB やダイオキシン類の体内動態を明らかにする。

6. 基礎的研究を行い、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。今年度は新型コロナウイルス感染症の拡大を防ぐため、WEB会議・書面会議で行った。

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

新型コロナウイルス感染症の状況から、オンラインセミナーを行った。具体的には、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に令和4年3月16日に公開した。

5. 油症対策委員会の開催

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開始のため、調査計画・方法、呼びかけ文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50年間の追跡調査を実施した。がんと非がんの長期死亡リスクを検証した結果、男性の油症患者は、女性の油種患者よりも、がんの累積死亡率が有意に高いことが明らかとなった。これとは対照的に、非がんの累積死亡率については、男女間で有意な差はみられなかった。

意に高いことが明らかとなった。これとは対照的に、非がんの累積死亡率については、男女間で有意な差はみられなかった。

7. 油症2世、3世を対象とした次世代の健康調査

参加同意と健康調査票を回収できた人数は388名（男性168名、女性220名）であった。うち、2世は322名（認定2世は16名）、3世は66名であった。今後は、これらのデータに基づいたコホート作り、健康状態に関する統計学的解析を進める。

8. 油症患者の血液中ダイオキシン類分析におけるガスクロマトグラフィ/高分解能質量分析装置の検討

ガスクロマトグラフィ/高分解能質量分析装置による測定は、装置が簡素化され再現性が高いこと、測定時間が短縮されたことが優れていたが、ダイオキシン類各異性体のS/N比が従来方と比較して、相対的に低下しており、更なる条件検討が必要と考えられる。

II. 臨床的追跡調査・疫学研究

1. 油症検診の追跡調査

1) 油症検診データ管理システムの改修
検診票の変更については、これまで生化学検査や免疫学的検査等の検査項目について追加や削除など軽微な変更があり、その都度対応してきた。今回は、歯科検診票が大幅に変更され、また、いくつかの検診票で項目中の選択肢の変更が行われたため、データの管理方法を全体的に見直した。

2) 油症患者血液中のPCDF類実態調査
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。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。

3) 油症検診と連携する患者健康実態調査票の検討

平成 27 年度と令和 2 年度の患者健康実態調査を比較したところ、漢方薬を内服している油症患者が増加している傾向が認められた。この点に基づき、健康実態調査表では、これまではサプリメントと漢方薬を同じ項目として調査を行っていたが、漢方薬の項目を独立して設ける変更修正を行った。また、新規設問 (漢方薬の種類、頻度、効果の有無について) を追加した。

2. 油症患者における眼科的所見

1) 福岡県・長崎県検診における眼科的所見

本年度は新型コロナウイルス感染症の影響で眼科的診察を行うことが難しかった。

3. 油症患者における歯肉色素沈着と残存歯に関する検討

本年度は新型コロナウイルス感染症の影響で歯科診察を行うことが難しかった。

4. 油症における末梢血 T 細胞に関する検討

血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の間に負の

相関を認め、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が低値の受診者に比較し CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の低下を認めた。油症による T 細胞への慢性影響が明らかとなった。

5. 油症患者における皮膚ガス分析

油症患者では特徴的にデカナールという物質を検出したが、解析数が少なく、更なる検討が必要である。

6. カネミ油症患者における中枢・末梢神経障害の文献的考察と他の中毒性疾患による神経障害との差異の研究

文献を考察したところ、PCB、PCDF、dioxin による中毒症状の文献は少ないながらも報告されていることが明らかとなった。近年、末梢神経障害に関連した血清バイオマーカーが普及してきているため、末梢神経障害を有するカネミ油症患者での測定を検討する。

8. 油症曝露による継世代健康影響に関する研究

油症曝露による女性特有の健康影響に関して検討した。今回は、自然閉経の年齢を検討した。油症女性患者における自然閉経の平均年齢は 49.9 歳で、わが国における女性の平均閉経年齢とほぼ同じであった。また、閉経年齢と閉経時の推定血中 PeCDF 濃度との間には有意な相関は認めなかった。これらの成績から、油症曝露では閉経年齢に影響を及ぼさないことが示唆された。

III. 基礎的研究

1. ダイオキシン類による気道上皮傷害における肺サーファクタント蛋白に関する検討

ヒト Club 細胞株 NCI-H441 細胞に Benzo[a]pyrene (BaP) を投与すると、ムチンコア蛋白 (MUC5AC) の遺伝子発現が亢

進し、ヒトリコンビナント SP-D の投与により抑制された。油症肺傷害において肺サーファクタントが保護的役割を担っていることが考察された。

2. 感覚評価を用いたベンゾピレン投与ラットに対する β -NMN の効果検討

ベンゾピレンを投与したラットにおける神経異常に対する β -NMN の効果を評価した。 β -NMN の投与は抗酸化作用と AHR 活性化抑制作用によりベンゾピレン中毒を抑制させることで感覚異常の症状改善に有効である可能性が示唆された。

3. 皮膚の慢性炎症におけるエンドセリン-1 と AHR の相互作用

紫外線照射により、皮膚ケラチノサイトからのエンドセリン-1 産生は確認されたが、その産生に対する AHR リガンドの影響は見られなかった

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

ダイオキシン類の曝露が膠原病を発症させる可能性について検討した。免疫染色で、SLE 患者群の表皮細胞で CYP1A1 の低下が確認され、AHR 活性化が低下していた。また、NRF2 の発現も減少していた。これらのことから、AHR の機能異常は膠原病の皮疹形成に関与している可能性が考えられた。

5. PCB 異性体の蓄積パターン、代謝経路について

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。

246 型 PCB の代謝について比較検討し、水酸化されやすい順番は、PCB168 > PCB155 > PCB182 > PCB154 であることが示された。

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

AHR が欠損すると精巣重量が低下する傾向を示した。さらにこの機序として、AHR がエピジェネティックな機序を介して、FGF や FGFR の発現を調節していることを明らかにした。

7. ダイオキシン誘導性セレン結合性タンパク質 1 (Selenbp1) の腎臓における役割：脂質代謝の制御とストレス応答との関連性の検討

Selenbp1 欠損マウスを用いて、Selenbp1 の欠損が、他のセレン結合タンパク質の発現に影響するか否かを検討した。Selenbp1 欠損は、マウス腎臓の Ppar 経路を介して脂質代謝を変化させるだけでなく、他のシグナル伝達経路に対しても Selenbp1 欠損が影響を及ぼす可能性があることを明らかにした。

8. Ah リガンドと消化管における腸内細菌の研究

ダイオキシン類の毒性に中心的役割を果たす Ah 受容体のリガンドであるインドール系化合物を産生に関わる腸内細菌叢の分布について検討し、十二指腸や空腸にインドール化合物の代謝に関わる細菌が豊富であることを明らかとした。

9. ヒト歯根膜細胞における AhR シグナルの活性化に関する研究

ヒト歯根膜細胞に対して、ベンゾピレンを投与して解析を行なった。ベンゾピレンは、歯根膜細胞のコラーゲンを分解する MMP2 /MMP13 の発現を増加させる可能

性が示唆された。

またマイクロアレイを用いた解析では、ベンゾピレンを投与した歯根膜細胞では、MGP や Laminin 等の骨芽細胞関連細胞外基質遺伝子が減少し、骨芽細胞分化抑制に関与する可能性が示唆された。

10. 油症患者の関節症状に関する研究 —キヌレニン経路の関節炎への影響—

油症患者の関節症状に関する研究では、キヌレニン経路で産生されるキヌレニン酸という物質が関節内の軟骨変性を防ぐ働きがある可能性が示唆された。

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。この油症研究により、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。特に、今年度からは、油症2世・3世における健康調査を開始し、ダイオキシン類の世代に渡る慢性影響についての研究に着手した。このダイオキシン類による継世代の健康状況の解析を行う研究は、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な研究結果となりうる可能性が高い。

基礎的研究においては、ダイオキシン類の受容体である AHR の働きに着目し、培養細胞・動物実験を用いた実験を継続して行っている。最近では、九州大学病院油症ダイオキシンセンターの研究業績に基づき、AHR の働きを調節して疾患を治療するというコンセプトに基づいた新しい薬剤（治療用 AHR 調節薬：Therapeutic

AHR-Modulating Agent, TAMA) が開発された。現在、Tapinarof という化合物を含む外用薬が、炎症性皮膚疾患の治療薬として臨床試験が行われている。Tapinarof は油症の皮膚症状を改善する可能性があり、基礎研究を行なっていく方針である。

E. 健康危険情報

なし。

F. 謝辞

本研究を行うにあたり、研究分担者・協力者の先生方に厚く御礼を申し上げます。