

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。

⑥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。油症に関連し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。

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、神經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、これからの方針を議論し、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/yusho_kenkyu/index02.html に、

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。

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. 油症暴露による縦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。

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。

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。

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 シグナルと運動し、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。