血中 PCB パターンが BC タイプを示す症例についての考察

(昭和 63 年 4 月 4 日受理)

中川 礼子^{*1} 飯田 隆雄^{*1} 竹中 重幸^{*1}
深町 和美^{*} 高橋 克巳^{*} 旭 正一^{*2}

Characterization of Subjects with Type BC Pattern of Blood PCB on Gas Chromatography

Reiko NAKAGAWA^{*1}, Takao IIDA^{*1}, Shigeyuki TAKENAKA^{*1}, Kazumi FUKAMACHI^{*1},
Katsumi TAKAHASHI^{*1} and Masakazu ASAHI^{*2}

(^{*1}Fukuoka Environmental Research Center: Mukaisano, Dazaifu-shi, Fukuoka, Japan;

^{*2}Department of Dermatology, University of Occupational and Environmental
Health: 1-1, Iseigaoka, Yahata nishi-ku, Kitakyushu-shi, Japan).

To characterize subjects whose blood PCB patterns were of Type BC on gas chromatography, we determined polychlorinated biphenyls (PCBs) and polychlorinated quaterphenyls (PCQs) in the blood and adipose tissue. On the basis of PCQ concentration in the blood, the subjects were divided into 3 groups: high level (>1.000 ppb), intermediate level ($0.044\sim1.000$ ppb) and low level (<0.044 ppb).

Furthermore polychlorinated dibenzofurans (2,3,7,8- T_4 CDF, 2,3,4,7,8- P_5 CDF and 1,2,3,4,7,8- H_6 CDF) were determined with the adipose tissue of the intermediate PCQ level subjects. From these results it was strongly suggested that the group of intermediate PCQ level subjects could be subdivided into two categories: those who had apparently taken Yusho-causing oil and those who are supposed not to have taken it.

(Received April 4, 1988)

Key words: PCB パターン PCB pattern; ポリ塩化クアテルフェニル polychlorinated quaterphenyl (PCQ); ポリ塩化ジベンゾフラン polychlorinated dibenzofuran (PCDF); 油症 Yusho

緒 言

人の血中 PCB のガスクロマトグラムピークパターンは基本的に A, B 及び C のタイプに分別されることが増田らによって報告された¹⁾すなわち、彼らは自覚症状及び他覚所見から明らかに油症であると認定された人(油症患者)が健康者と異なる血中 PCB ガスクロマトグラムを示すことを明らかにした。そして、その中でも特徴的な PCB ガスクロマトグラムを示すものを A タイプと

した。また通常の健康者と同じ PCB クロマトグラムを示すものを C タイプとし、自覚症状及び他覚所見からも明らかに油症と認定され、かつ A タイプと C タイプの中間型 PCB クロマトグラムを示すものを B タイプとした。

近年、上記のタイプに加えて他覚所見では油症と診断することが困難で、かつ血中 PCB ガスクロマトグラムパターンでは B タイプと C タイプの中間型を示すタイプが現れ、このタイプを BC としている。従って現在では PCB パターンに A, B, BC 及び C の 4 タイプが存在していることになる。これらのパターンは長期間の観察によると、相互間の移行変化は極めて少なく、ある程度

^{*1} 福岡県衛生公害センター：福岡県太宰府市大字向佐野字迎田

^{*2} 産業医科大学皮膚科学教室：北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1

Table 1. GC/MS Conditions

Mass spectrometer :	Vg 70-s
Gas chromatograph:	Hewlett-Packard 5890 A
Column :	SP 2331 cross-linked fused silica capillary column 30 m×0.25 mm i.d., 0.20μm
Column temp. :	120°C (2 min)~220°C, 15°C/min 220°C (15 min)~240°C, 20°C/min
Injector temp. :	270°C

Table 2. The PCBs and PCQs Concentration in the Blood and Adipose Tissue of Yusho Patients, Non-Yusho Dermal Patients (Other Patients) and Normal Persons

Subjects	No.	Blood		Adipose tissue	
		PCBs (ppb) Mean ± S. D. (Min~Max)	PCQs (ppb) Mean ± S. D. (Min~Max)	PCBs (ppb) Mean ± S. D. (Min~Max)	PCQs (ppb) Mean ± S. D. (Min~Max)
Yusho patients Type A	7	9.65 ± 6.34 (2.03~20.60)	6.97 ± 3.38 (3.86~13.89)	2,150 ± 1,660 (1,000~5,710)	1,060.00 ± 469.00 (555~1,997)
Type BC	3	3.06 ± 1.72 (1.67~ 5.48)	0.075 ± 0.067 (0.010~0.168)	1,183 ± 268 (820~1,460)	23.08 ± 24.11 (1.38~ 56.70)
Type C	8	5.53 ± 2.28 (2.22~ 8.80)	0.023 ± 0.010 (0.010~0.041)	1,191 ± 376 (580~1,750)	5.38 ± 2.14 (1.38~ 8.22)
Other patients	20	3.15 ± 2.63 (1.00~12.00)	0.051 ± 0.137 (0.001~0.638)	786 ± 457 (178~2,217)	10.69 ± 25.88 (0.03~120.29)
Normal persons	11	3.84 ± 1.32 (1.29~ 5.95)	0.021 ± 0.012 (0.010~0.051)	893 ± 262 (440~1,250)	4.15 ± 3.82 (1.65~ 15.20)

の恒常性があると報告されている²⁾。従ってこのことがこのパターンが油症診断基準^{*1)}に採用されてきた所以でもある。一方、著者らは既に、これらのパターンと皮下脂肪中ポリ塩化クアテルフェニール (PCQ) の量に高い相関を指摘し、両者に極めて直接の関係があることを明らかにした³⁾。今回油症患者 18 名、油症患者ではない皮膚疾患患者 (非油症患者) 20 名及び健常者 11 名の計 49 名の血液と皮下脂肪中の PCB 及び PCQ について分析した結果、非油症患者の中に血中 PCB パターンが BC タイプで、血液と皮下脂肪に油症患者に近い高濃度の PCQ を有する症例を発見した。PCB パターンの BC タイプについては、これについての臨床的報告例がなく、A 及び B タイプに比べるとその中毒学的意義が明確でない、しかしながら、BC タイプのような境界領域の症例群は、閾値などを含む油症の発症機作を明らかにする上では、重要な意味を持つ症例群であると考えられる。そこで、この BC タイプの症例群について、PCQ 濃度を尺度とし、他の症例群と比較検討した。又、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) についても測定したので報告する。

対象と方法

1. 対象

分析対象は油症患者 18 名 (A タイプ 7 名, BC タイプ 3 名, C タイプ 8 名)、健常者 11 名、及び九州大学医学部皮膚科学教室において採取された油症でない皮膚科外来患者 20 名の合計 49 名の血液と皮下脂肪である。いずれも昭和 61 年に採取されたものである。血液は上腕部肘静脈からヘパリン入真空採血管により採取し、分析に供するまで冷蔵庫中に 4° で保存した。皮下脂肪は被検者の腹部皮膚を切開して採取し、分析に供するまで冷蔵庫中に -20° で保存した。

2. 試薬

PCB, PCQ 及び PCDF 分析に用いた試薬は、キシダ化学(株)製残農 PCB 分析用トルエン、半井化学薬品(株)製カラムクロマトグラフィー用活性炭、和光純薬工業(株)製 *n*-デカン、その他は別報^{3), 4)}と同じものを用いた。

3. 分析方法、分析装置及び測定条件

PCB, PCQ 分析は別報^{3), 4)}と同様に行った。

PCDF 分析は Ryan ら⁵⁾、Kuroki ら⁶⁾の方法を参考にしながら以下のとおり行った。

試料 (皮下脂肪) 1 g 及び内部標準品 (¹³C-2,3,7,8-TCDF) 0.1 ng を分液漏斗に採り、アセトン-ヘキサン (2:1, v/v) 180 ml で抽出した。さらに 2 回アセトン-ヘキサン 30 ml で抽出し、抽出液は合した。蒸留水 30

*1 昭和 52 年 6 月 14 日改訂の油症診断基準に重要な所見として、ざ瘡様皮疹、色素沈着と並び、血液 PCB の性状及び濃度の異常が列記されている。

Table 3. The PCBs and PCQs Concentration in the Blood and Adipose Tissue Divided into Three Groups with High, Intermediate and Low Levels of PCQs

PCQ Level (ppb)	No. of subjects	Blood (ppb)		Adipose tissue (ppb)	
		PCBs	PCQs	PCBs	PCQs
High >1.0	7	9.65 ± 6.34 (2.03~20.60)	6.970 ± 3.380 (3.86 ~13.89)	2,150 ± 1,660 (1,000~5,710)	1,060 ± 469 (555~1,997)
Intermediate 0.044~1.000	5	3.49 ± 1.82 (2.00~ 5.95)	0.205 ± 0.247 (0.047~ 0.638)	1,012 ± 394 (472~1,460)	44.9 ± 45.9 (11.2~120.3)
Low 0.000~0.044	37	3.81 ± 2.50 (1.00~12.00)	0.017 ± 0.012 (0.001~ 0.041)	907 ± 428 (178~2,217)	3.98 ± 3.97 (0.52~8.22)

(): min~max

Fig. 1. The correlation between PCQ concentration and PCB gas chromatogram pattern (a: 1/2 value, the first to second PCB peak heights ratio; b: 5/2 value, the fifth to second peak heights ratio) of 49 blood samples

Yusho patients (▼: Type A; △: Type BC; ×: Type C)

Normal persons: ○

Patients with other dermal disease: ●

mlを加えてヘキサン層を分離し、水層は捨てた。抽出液は、蒸留水 30 ml で 2 回洗浄後、濃硫酸 10 ml を加え振とうし、硫酸が着色しなくなるまで繰り返して、脱脂を行った。蒸留水 30 ml で 3 回洗浄し無水硫酸ナトリウム 10 g で脱水後、ロータリーエバポレーターで濃縮した。この試料を活性炭・グラスファイバー混合カラム (7 mm i.d.×2 cm, 活性炭として 5 mg) にのせ、まずジクロロメタン-ヘキサン (1:9, v/v) 20 ml で非コプラナー PCBs 及び *p,p'*-DDE (第 1 画分) を溶出させた後、トルエン 100 ml でコプラナー PCBs 及び PCDFs (第 2 画分) を溶出させた。第 2 画分のトルエン 100 ml を乾固させないように注意しながら 0.5 ml 以下に濃縮し、フ

ロリジルカラム (6 mm i.d.×15 cm) にのせた。ジクロロメタン-ヘキサン (1:99, v/v) 25 ml でコプラナー PCBs を溶出させた後、ジクロロメタン 50 ml で PCDFs を溶出させた。PCDFs 画分は溶媒を室温下ロータリーエバポレーターで留去後、精製 *n*-デカンに再溶解し、GC/MS 分析に供した。GC/MS 測定は Table 1 の条件で行った。

結果と考察

1. PCQ 濃度による分類と PCB パターンとの関係

今回の分析結果を Table 2 に示す。一方、著者らは別報⁷⁾に示したとおり、正常人の血中 PCQ 濃度が、最高値 0.044 ppb、最低値 0.000 ppb の範囲にあることを確認している。また今回調査した A タイプの血液で最低 PCQ 濃度が 3.86 ppb であった。そこで 0.044 ppb を第 1 境界値、3.86 ppb に近くかつ低い値の 1.000 ppb を第 2 境界値とし、Table 2 に示した全被検者を Table 3 に示すように血中濃度 PCQ 濃度が 0.044 ppb 以下 (Low: L と略す)、0.044~1.000 ppb (Intermediate: I と略す)、1.000 ppb 以上 (High: H と略す) の 3 グループに分けた。その結果、H グループの 7 名は当然の結果ながらすべて典型的的油症患者 (A タイプ) であった。I グループの 5 名は、油症患者 2 名、非油症患者 2 名及び健康者 1 名であり、これらの血中 PCB のガスクロマトグラムパターンは 5 例とも BC タイプであった。L グループの 37 名は、油症患者 9 名 (BC タイプ 1 名、C タイプ 8 名)、健康者 10 名 (C タイプ) 及び非油症患者 18 名 (C タイプ) であった。血中、皮下脂肪中 PCB 濃度は、平均値でそれぞれ H グループが、9.65 ppb、2,150 ppb、I グループが 3.49 ppb、1,012 ppb、L グループが 3.81 ppb、907 ppb であった。

従って H グループと I、L 両グループ間には PCB 濃度で 2~3 倍の差があった。一方、血中、皮下脂肪中 PCQ 濃度は、平均値でそれぞれ H グループが 6.97 ppb、1,060 ppb、I グループが、0.205 ppb、44.9 ppb、L グループが 0.017 ppb、3.98 ppb と段階的に減少し、H グループと L グループ間では、血液で 410 倍、皮下脂肪で 266 倍の大きな差が認められた。一方、Fig. 1 は血中

Table 4. The Concentration of PCBs, PCQs, and PCDFs in the Blood and Adipose Tissue of Five Cases (BC Type) Belonging to the Intermediate Group of PCQ

Subject No. (Symptoms as Yusho)	Blood (ppb)		Adipose tissue (ppb)				
	PCB	PCQ	PCB	PCQ	T ₄ CDF	P ₅ CDF	H ₆ CDF
1 Patient with D. (None)	2.00	0.638	472	120.3	0.000	0.237	0.013
2 Yusho patient	2.03	0.163	1,270	56.7	0.000	0.142	0.000
3 Patient with D. (None)	2.00	0.119	609	21.0	na	na	na
4 Normal person (None)	5.95	0.051	1,250	15.2	0.000	0.000	0.000
5 Yusho patient	5.48	0.041	1,460	11.2	0.004	0.055	0.004
Average of 11 normal persons (S. D.)	3.84 (1.32)	0.021 (0.012)	893 (262)	4.15 (3.82)	0.002 (0.005)	0.011 (0.013)	0.000 (0.000)

D.: means "other dermal disease".
na: means "not analyzed".

Fig. 2. Mass fragmentograms of P₅CDFs and H₆CDFs found in the adipose tissue of subject No. 1 (a, c) and standard samples (b, d)

PCQ 濃度と、PCB パターンを決定するガスクロマトグラムの 1/2 値 (*p,p'*-DDE から数えて 2 番目のピーク高に対する 1 番目のピーク高の比) 及び 5/2 値 (*p,p'*-DDE から数えて 2 番目のピーク高に対する 5 番目のピーク高の比) との関係を示したものである。相関係数は各々 0.8 と 0.9 であり、特に 5/2 値とは危険率 1% 以下 ($p < 0.01$) での有意な相関を示した。以上の結果から PCQ 濃度による分類は PCB パターンの場合と同様の意味をもち、かつまた PCQ 濃度による分類の方が各グループ間の差も明瞭になることが分かった。これは油症原因油に PCB と同様に特徴的に多く含有される⁸⁾PCQ が、おそらく PCB 以上に人体からの排泄が緩慢な脂溶性化合物であることに起因していると考えられる。

2. PCQ 及び PCDF 濃度からみた BC タイプの症例についての考察

BC タイプは現在顕著な油症特有の臨床症状が認められにくく的確な油症診断が困難なタイプである。前述の結果からこのタイプはおおむね PCQ 濃度による分類の 1 グループに属することが分かった。ここではこのグループに属する 5 症例 (BC タイプ) について、詳しく考察する。5 症例の血液及び皮下脂肪中 PCB、PCQ 濃度並びに皮下脂肪中 PCDF 濃度を Table 4 に示した。症例 1 は油症患者ではなかったにもかかわらず、他の 4 例より高い血中、皮下脂肪中 PCQ 濃度、0.638 ppb、120.3 ppb を示し、また、Fig. 2 のマスフラグメントグラムで明らかなように皮下脂肪中に 2,3,4,7,8-P₅CDF 及び

1,2,3,4,7,8-H₆CDF を検出し、その濃度は各々 0.237 ppb 及び 0.013 ppb であった。これら皮下脂肪中 PCQs, PCDFs 濃度は健康人の平均値の各々およそ 30 倍と 20 倍であった。問診調査の結果、既往歴にも目立つものがなく、ただ生活歴として本人の記憶によれば、16～19 年程前頃にカネミ食用油を一升瓶で数回購入して使用したことがあり、同居家族とともに摂取したと言う。当時、油症事件の発生を知っていたが、油症と思われるような自覚及び他覚症状は家族及び本人にも生じなかったもので、保健所にも届かず、また油症検診も受診せずそのまま現在に至っていると述べている。従って、症例 1 の高い PCQ 値は、他に特定される客観的な PCQ の摂取機会が全く認められないことから、油症原因油の摂取にのみ起因することは間違いないものと考えられる。次に症例 2 と 5 は油症認定患者であり、PCDFs も 0.142 ppb (2,3,4,7,8-P₅CDF), 0.063 ppb (2,3,4,7,8-P₅CDF は 0.055 ppb) と検出された。これに対し、症例 3 と 4 は油症とは無関係の非油症患者及び健康者であり、症例 4 の健康者の皮下脂肪からは PCDFs は検出されなかった。1976 年 Nagayama は PCDFs が原因油中に低濃度ながら存在することを明らかにした⁹⁾。また、PCDFs の毒性に関しては、Yoshihara らが、PCDFs の一同族体である 2,3,4,7,8-P₅CDF が動物実験において強い急性毒性を有することを¹⁰⁾、また Kuroki らがその高い肝残留性を報告している¹¹⁾。従って現在では 2,3,4,7,8-P₅CDF が油症の原因物質の中で重要であるとされている。そこで、2,3,4,7,8-P₅CDF を伴う PCQ の体内残留は原因油摂取を証明するものであると考えられ、従って、Table 4 に示された I グループ (BC タイプ) は原因油を明らかに摂取した人とそうでない人が混在するグループであることが強く示唆される。さらに、油症を発症しなかった症例 1 (Table 4) の PCQ, PCDF 体内残留に関する知見は、今後の油症診断や油症原因物質の毒性研究に大きく影響を及ぼすのではないかと考えられる。そして今後も、潜在的な油症原因油汚染の実態を明らかにするために油症検診などの調査を継続することが必要と思われる。

結 語

(1) 油症患者 18 名を含む 49 名をその血中 PCQ 濃度により、H グループ (>1.000 ppb), I グループ (0.044

～1.000 ppb) 及び L グループ (<0.044 ppb) に分類した。その結果、おおむね、A タイプは H グループに、C タイプは L グループに、BC タイプは I グループに各々分類された。

(2) 血中 PCQ 濃度は、血中 PCB のガスクロマトグラムから得られる 1/2 値 (*p,p'*-DDE から数えて、2 番目のピーク高に対する 1 番目のピーク高の比) よりも 5/2 値 (*p,p'*-DDE から数えて、2 番目のピーク高に対する 5 番目のピーク高の比) とにおいて危険率 1% 以下で高い相関を示した。

(3) BC タイプの症例の中に、油症患者でないのにかかわらず、皮下脂肪中に健康人に比べ、30 倍の PCQ 及び 20 倍の PCDF を有するものがあつた。これは問診調査により油症原因油の摂取によることが分かった。

(4) I グループ (BC タイプ) は油症原因油を明らかに摂取した人とそうでない人の混在するグループであることが強く示唆された。

文 献

- 1) 増田義人, 香川梨絵, 島村京子, 高田真由美, 倉恒匡徳: 福岡医誌. **65**, 25～27 (1974).
- 2) 片岡恭一郎, 大久保彰人, 篠原志郎, 高橋克巳, 増田義人: 同上 **74**, 296～301 (1983).
- 3) 竹中重幸, 飯田隆雄, 中川礼子, 深町和美, 森 彬, 高橋克巳, 旭 正一: 同上 **78**, 314～319 (1987).
- 4) 中川礼子, 飯田隆雄, 竹中重幸, 深町和美, 森 彬, 高橋克巳, 旭 正一: 同上 **78**, 309～313 (1987).
- 5) Ryan, J. J., Lizotte R., Lau, B. P.-Y.: *Chemosphere* **14**, 697～706 (1985).
- 6) Kuroki, H., Masuda, Y.: *ibid.* **10**, 771～777 (1978).
- 7) 飯田隆雄, 竹中重幸, 中川礼子, 深町和美, 森 彬, 高橋克巳, 旭 正一: 福岡医誌. **78**, 305～308 (1987).
- 8) Miyata, H., Kashimoto, T., Kunita, N.: *J. Food Hyg. Soc. Japan* **19**, 364～371 (1978).
- 9) Nagayama, J., Kuratsune, M., Masuda, Y.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **15**, 9～13 (1976).
- 10) Yoshihara, S., Nagata, K., Yoshimura, H., Kuroki, H., Masuda, Y.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **59**, 580～588 (1981).
- 11) Kuroki, H., Masuda, Y., Yoshihara, S., Yoshimura, H.: *Food Cosmet. Toxicol.* **18**, 387～392 (1980).