九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

保存さい帯（へその緒）を利用した油症被害者のPCB汚染評価に関する検討

宮田, 秀明
摂南大学薬学部

青笹, 治
摂南大学薬学部

中尾, 晃幸
摂南大学薬学部

太田, 壮一
摂南大学薬学部

https://doi.org/10.15017/14913

出版情報：福岡醫學雜誌. 100 (5), pp.183-191, 2009-05-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

保存さい帯（へその緒）を利用した油症被害者のPCB汚染評価に関する検討

摂南大学薬学部

宮田秀明，青笹　治，中尾晃幸，太田壮一

Investigation of PCB Pollution Evaluation for Yusho Victims Using Their Preserved Umblical Cord

Hideaki Miyata, Osamu Aozasa, Teruyuki Nakao and Souichi Ohta

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, Osaka 573-0101

Abstract　PCB and dioxin-like PCB (DL-PCB) in 28 umbilical cords preserved from the time when 3 Yusho victims and 11 healthy subjects gave birth were examined in order to investigate the pollution evaluation with both the compounds in Yusho victims on the basis of the analytical value.　As a result, in a period of 1968 to the 70s immediately after Yusho incident, the total concentration of the 12 DL-PCB isomers in both the Yusho victims s and healthy subjects was very high.　After that, the total DL-PCB concentration decreased temporally.　However, there was not observed a significant difference in the concentration and composition of both contaminants between the two groups.

はじめに

1968年に我が国で起こったカネミ油症は，ポリ塩化ビフェニル（PCB）とその熱変成物質（ポリ塩化ジベンゾフラン，ポリ塩化クワッターフェニル）による人体汚染の代表的な事例であり，40年以上が経過した現在においても油症被害者における健康障害は解決されていない．これまでに油症被害者を対象に血液[1)2)6)8)]，皮脂[3)]，脂肪組織[4)5)7)8)]および毛髪[8)]など，多数の生体試料を用いてPCBやPCB熱変成物質の人体汚染レベルが評価されている．しかし，油症被害者の保存さい帯（へその緒）を用いた調査，研究は皆無の状態である．保存さい帯は，女性が子供を出産した際に，さい帯の一部を切り取り，小さな木箱等の容器に入れて各家庭で保存されているものである．その保存さい帯に含まれる化学物質は，出産当時の母親の体内濃度を反映するもと推測され，出産当時の化学物質による人体汚染を評価する上で重要な生体試料であり，新規知見が得られる可能性が高い．

しかし，保存さい帯は，少量かつ脂肪含量が極めて少ないことから，汚染量が多い化合物を対象とした分析の必要性が推測された．

そのため，本研究では，油症被害者である母親が出産した当時の保存さい帯について，油症原因物質中，濃度が高く，毒性の比較的強いダイオキシン様PCB（DL-PCB）に焦点を絞り，その分析値を基準として，油症被害者における出産当時のDL-PCBによる人体汚染評価指標としての有効性について検討を行った．

実験方法

1．保存さい帯試料

油症被害者（3名，試料提供者A～C）および一般健常者（11名，試料提供者D～N）が出産した時に保存した出生児の保存さい帯（へその緒）を試料とした（Table 1，Table 2）．保存さい帯は，油症被害者支援センターから提供された．油症被害者の3名のうち，2名が油症認定者であり，残りの1名は油症未認定者であった．油症被害者の保存さい帯試料は，2名の油症認定者から提供された3試料と1名の油症未認定者からの3試料，合計6試料（Table 1の試料A-1～C-3）である．保存さい帯を提供した母親が子供を出産した年代は，油症発生10年前の1958年から油症発生30

Table 1 Sample list (Yusho victim)

Sample donor	Preserved umbilical cord sample	Newborn infant sex	Delivery year
A : Designated Yusho victim	A-1	Female	1989
	A-2	Male	1998
B : Designated Yusho victim	B-1	Male	1968
C : Suspected Yusho victim	C-1	Female	1958
	C-2	Female	1959
	C-3	Female	1962

Table 2 Sample list (Healthy subject)

Sample donor	Preserved umbilical cord sample	Delivery year
D	D-1	1962
E	E-1	1971
F	F-1	1977
	F-2	1974
G	G-1	1985
	G-2	1981
H	H-1	1987
I	I-1	1989
	I-2	1995
J	J-1	1967
	J-2	1969
	J-3	1972
K	K-1	1986
L	L-1	1993
	L-2	1981
	L-3	1983
	L-4	1974
	L-5	1995
	L-6	1977
M	M-1	1968
N	N-1	1968
	N-2	1995

年後の1998年の期間であった.

一方，一般健常者については，11名の母親から提供された22試料の保存さい帯（Table 2の試料D-1～N-2）を用いた．これらの保存さい帯の年代は，1962年から1997年であり，油症発生前後（1966年～1970年）の保存さい帯も5試料が含まれている.

本研究で用いた試料に関しては，いずれも試料保存者からPCB関連物質の調査・研究に利用する旨，およびその研究発表をする旨の承諾を得ている．また，本研究の範囲は，PCB関連物質の汚染調査に限定したものであるので，特に倫理面的に問題になるものはないものと判断される.

2．分析方法

保存さい帯中のDL-PCB分析法のフローシートをFig. 1に示す.

保存さい帯試料は，アセトンで軽く表面を洗浄した後，約0.3～0.6 gをステンレスバサミで細く切り取り，無水硫酸ナトリウム（1.0 g）とともに乳鉢で粉末化した．この粉末さい帯試料にクリーンアップスパイク用内標準物質（12種の$^{13}C_{12}$-ラベル化DL-PCB，各200 pg）を添加後，トルエン100 mLを加えて5時間還流抽出を行った．還流抽出後，熱時ろ過し，冷後，トルエン抽出液は，濃縮し，硝酸銀・シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した．硝酸銀・シリカゲルカラムクロマトグラフィーは，1.0 gの10%（w/w）硝酸銀・シリカゲルを充填したカラムを用い，20 mLのn-ヘキサンでDL-PCBを溶出させた.

次に，硝酸銀・シリカゲルからの溶出液を濃縮した後，溶媒を完全に留去し，ノナン10μLに溶解させた．この溶液にシリンジスパイク用内標準物質（$^{13}C_{12}$-2, 3', 4', 5-TeCB (PCB #70)，$^{13}C_{12}$-2, 3, 3', 5, 5'-PeCB (PCB #111)，$^{13}C_{12}$-2, 2', 3, 4, 4', 5-HxCB (PCB #138)，$^{13}C_{12}$-2, 2', 3, 3', 5, 5', 6-HpCB (PCB #178)，各200pg）を加え，液量20μLとしたものを試験溶液とした．この試験溶液の1 μLを高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計（HRGC/HRMS）に注入し，電子衝撃型・選択イオンモニタリング法（EI-SIM）により，12種のDL-PCBを定量した．なお，HRGC/HRMS分析条件は次の通りである.

機種：Hewlett・Packard 6890ガスクロマトグラフ・JEOL JMS-700質量分析計

キャピラリーカラム：SEG製HT-8（長さ：50 m，内径：0.22 mm，液相膜厚：0.22μm）

カラム温度：130℃（1分）→20℃/分→220℃→5℃/分→310℃（14分）

注入口温度：200℃

セパレータ温度：280℃

イオン化エネルギー：42eV

イオン化電流：600μA

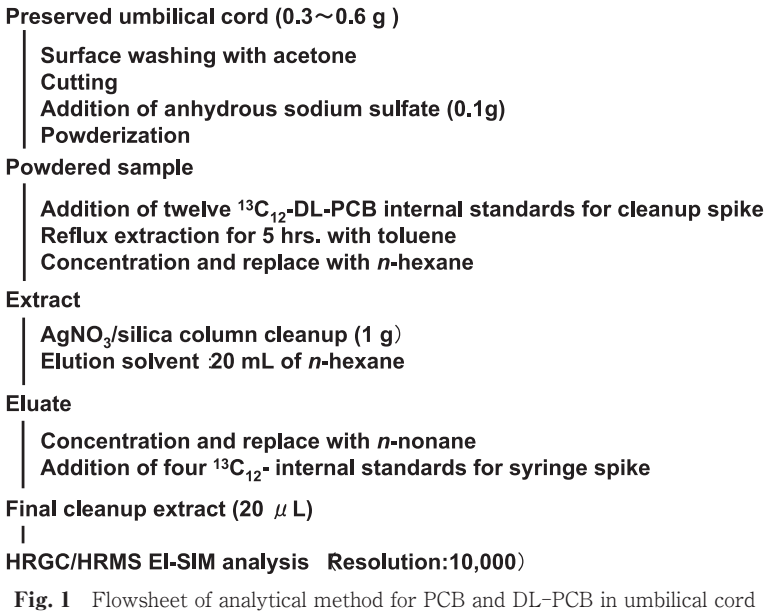

Fig. 1　Flowsheet of analytical method for PCB and DL-PCB in umbilical cord

キャリアーガス：He（1 mL/分）
イオン源温度：280℃
分解能：10,000
検出法：EI-SIM

実験結果および考察

Table 3は，油症認定者および油症未認定者の母親から提供された保存さい帯中のDL-PCB異性体濃度を示している．油症認定者の3試料の保存さい帯試料から検出された12種のDL-PCB異性体の合計濃度は，試料1 g当たり150～12,000 pgの範囲であった．母親Bから提供された保存さい帯のB-1試料で，最も高い12,000 pgのDL-PCBが検出された．しかし，もう一人の油症認定者である母親Aの保存さい帯試料A-1とA-2では，それぞれ350 pgおよび150 pgと低い濃度であった．また，油症未認定の母親から提供された3試料（試料C-1～C-3）の濃度は，570～4,800 pgである．

Table 4およびTable 5は，11人の一般健常者から提供された保存さい帯中のDL-PCB濃度を示す．その22試料から検出されたDL-PCBの濃度範囲は，100～23,000 pgであった．ただし，最も高濃度のDL-PCBが検出されたE-1試料の23,000 pgを除けば，濃度範囲は100～12,000 pgとなり，油症被害者の濃度範囲と類似した結果となった．なお，23,000 pgを示した試料については，再分析を行い，再度検討する予定である．

Fig. 2では，保存さい帯におけるDL-PCBの濃度範囲を油症被害者と一般健常者で比較した．油症被害者は油症認定者と油症未認定者に分けた．

その結果，油症認定者の濃度範囲は，150～12,000 pgで，油症未認定者の範囲（570～4,800 pg）と比べると，最高濃度は高くなる傾向にあった．しかし，一般健常者の濃度範囲は23,000 pgを示した1試料を除けば，100～12,000 pgであり，油症認定者の濃度範囲は，一般健常者にも認められるレベルであった．

以上のように，油症認定者のDL-PCBの濃度範囲は，油症未認定者よりも高濃度であるが，一般健常者の濃度と類似した範囲となる傾向は，2006年の調査結果[9]でも観察されている．即ち，今回の調査結果は，2006年の調査結果を支持するものであった．

しかし，現在までの分析試料数は少なく，結論づけるためには，さらに多くの試料の分析結果に基づいて判断する必要がある．

Fig. 3は，油症被害者（油症認定者と油症未認定者）および一般健常者の保存さい帯に含まれるDL-PCBの合計濃度について，出産年代ごとにプロットしたものである．

油症被害者の保存さい帯中に含まれるDL-PCBの総濃度は，1960年頃から上昇傾向を示し，油症発生直後の1968年～1970年には10,000 pg/g以上の濃度で最も高くなり，その後は減少傾向に転じ，1990年頃には300 pg/g以下

Table 3 Concentrations of DL-PCB isomers in preserved umbilical cords from Yusho victims

(pg/g)

DL-PCB		Designated Yusho victim			Suspected Yusho victim		
		A-1	A-2	B-1	C-1	C-2	C-3
TeCB	3,4,4',5- (#81)	1.5	—	17	—	35	4.1
	3,3',4,4'- (#77)	14	3.1	140	69	570	80
PeCB	2',3,4,4',5- (#123)	2.9	1.9	270	3.8	61	8.3
	2,3',4,4',5- (#118)	190	59	5400	290	2300	510
	2,3,4,4',5- (#114)	15	3.7	460	18	110	23
	2,3,3',4,4'- (#105)	63	29	3500	150	1300	270
	3,3',4,4',5- (#126)	—	—	58	—	11	—
HxCB	2,3',4,4',5,5'- (#167)	15	8.5	400	11	100	29
	2,3,3',4,4',5- (#156)	27	31	1000	21	250	70
	2,3,3',4,4',5'- (#157)	15	16	320	8.9	78	23
	3,3',4,4',5,5'- (#169)	—	—	24	—	—	—
HpCB	2,3,3',4,4',5,5'- (#189)	4.6	—	110	—	13	—
Total concentration		350	150	12000	570	4800	1000

— : No detection

Table 4 Concentrations of DL-PCB isomers in preserved umbilical cords from healthy subjects

(pg/g)

DL-PCB		D-1	E-1	F-1	F-2	G-1	G-2	H-1	I-1	I-2	J-1	J-2
TeCB	#81	4.8	480	3.6	—	—	—	—	—	—	47	13
	#77	120	4600	51	22	32	—	27	20	13	820	260
PeCB	#123	20	400	7.0	5.4	5.0	7.4	2.3	—	1.6	130	37
	#118	1050	9300	420	320	300	330	140	170	85	6600	2100
	#114	65	650	22	21	7.7	230	8.8	11	6.5	340	100
	#105	390	6000	170	120	110	180	56	55	30	2600	800
	#126	—	43	—	—	4.4	—	—	—	—	26	7.3
HxCB	#167	50	310	20	25	17	18	14	13	4.1	360	82
	#156	79	830	51	50	37	34	39	21	13	830	180
	#157	33	220	19	12	15	9.5	16	8.2	4.6	260	50
	#169	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.3	17
HpCB	#189	—	43	—	—	4.6	—	—	—	—	24	—
Total concentration		870	23000	760	580	530	800	310	300	160	12000	3700

— : No detection

Table 5 Concentrations of DL-PCB isomers in preserved umbilical cords from healthy subjects

(pg/g)

DL-PCB		J-3	K-1	L-1	L-2	L-3	L-4	L-5	L-6	M-1	N-1	N-2
TeCB	#81	24	—	2.5	—	1.7	1.6	—	—	42	1.9	2.0
	#77	230	14	27	18	18	6.4	15	150	110	21	18
PeCB	#123	33	—	4.3	2.2	3.3	1.1	—	5.4	47	7.6	2.1
	#118	1700	170	230	150	170	47	73	310	1600	310	64
	#114	72	8.5	17	9.4	11	2.9	6.7	16	180	21	7.0
	#105	760	61	74	66	60	20	39	190	550	120	35
	#126	13	—	—	—	2.5	—	—	—	—	—	—
HxCB	#167	120	19	36	6.4	11	3.8	4.3	14	160	15	3.7
	#156	230	47	96	23	26	14	12	30	210	45	8.7
	#157	120	13	22	7.1	8.4	2.8	7.5	19	99	14	5.4
	#169	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HpCB	#189	21	—	22	—	—	—	—	—	18	—	—
Total concentration		3400	330	540	280	310	100	160	730	3000	560	150

— : No detection

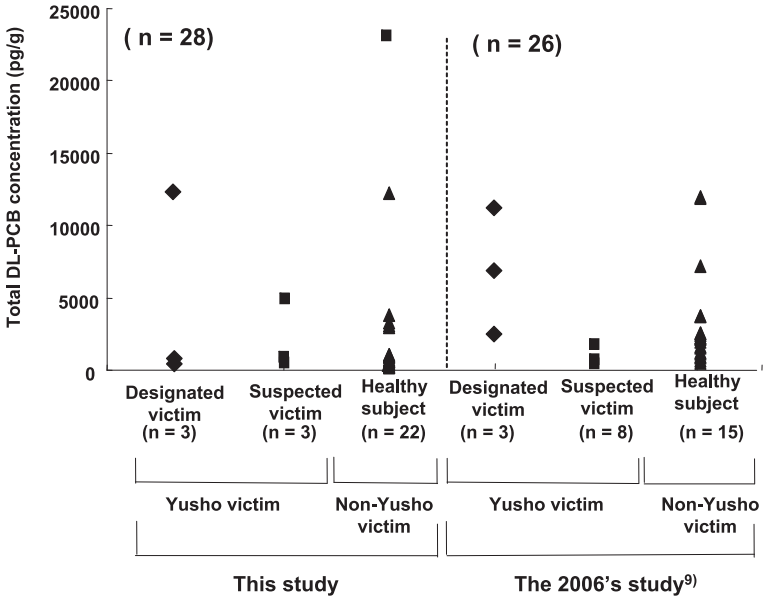

Fig. 2 Comparison of the total DL-PCB concentration in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects

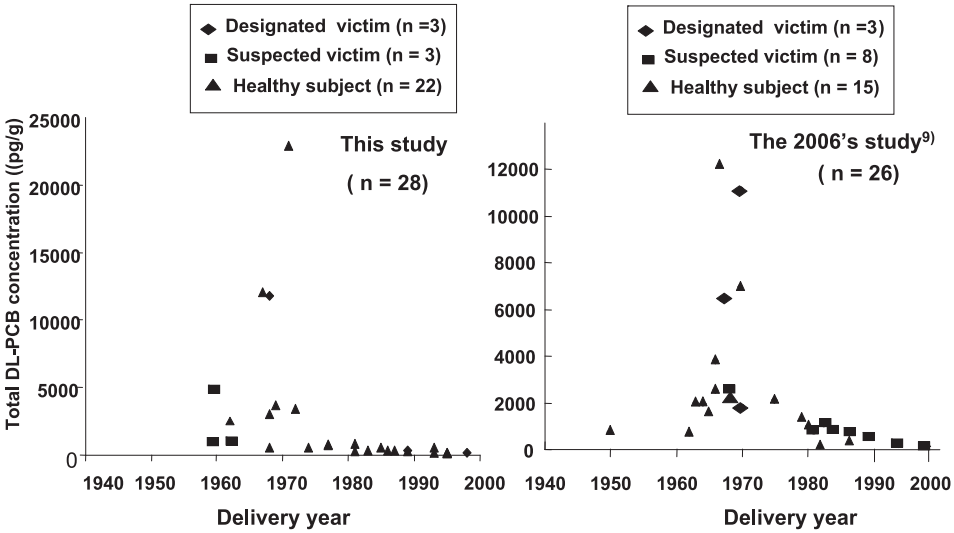

Fig. 3 Comparison of the total DL-PCB concentration in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects

Table 6 Comparison of the peak area ratio of PCB#118-/PCB#153 and PCB#156-/PCB#153 in Yusho victims and healthy subjects

【The result of this study】

Peak area ratio	Yusho victim (n=6)		Healthy subject (n=22)
	Designated victim (n=3)	Suspected victim (n=3)	
PCB#118/PCB#153	1.8 (0.44～4.2)	2.4 (0.20～2.8)	1.6 (0.17～4.2)
PCB#156/PCB#153	0.25 (0.09～0.51)	0.17 (0.10～0.23)	0.15 (0.04～0.23)
Total DL-PCB (pg/g)	4200 (150～12000)	2100 (570～4800)	2400 (100～23000)

【The result of 2006's study[9)]】

Peak area ratio	Yusho victim (n=11)		Healthy subject (n=8)
	Designated victim (n=3)	Suspected victim (n=8)	
PCB#118/PCB#153	8.0 (4.5～12)	3.9 (1.1～5.9)	2.1 (0.98～4.4)
PCB#156/PCB#153	0.29 (0.21～0.36)	0.21(0.06～0.40)	0.10 (0.06～0.20)
Total DL-PCB (pg/g)	6500 (2000～11000)	560 (130～1400)	3900 (680～12000)

Table 7 Comparison of the peak area ratio of PCB#118-/PCB#153 and PCB#156-/PCB#153 in Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

【The result of this study】

Peak area ratio	Yusho victim		E-1 (Healthy subject)
	B-1 (Designated victim)	C-2 (Suspected victim)	
PCB#118/PCB#153	4.2	2.8	4.2
PCB#156/PCB#153	0.51	0.23	0.23
Total DL-PCB (pg/g)	12,000	4800	23,000

【The result of 2006's study[9)]】

Peak area ratio	Yusho victim		⑪-1 (Healthy subject)
	①-1 (Designated victim)	②-1(Suspected victim)	
PCB#118/PCB#153	4.5	4.6	3.8
PCB#156/PCB#153	0.21	0.40	0.20
Total DL-PCB (pg/g)	11,000	1,400	12,000

にまで低下する結果となっている．

また，油症認定者と一般健常者の濃度を比較した場合，油症発生直後の1968年～1970年に高濃度を示す傾向は，油症認定者だけでなく，一般健常者でも同様に認められた．また，油症認定者と一般健常者の濃度も近似したレベルであった．従って，油症発症直後の1968年～1970年には，一般健常者にも油症認定者と同等のレベルで母親の体内が高濃度に汚染されていた可能性が高いことが示唆された．この結果についても，2006年の調査結果[9)]と同様な傾向であった．このような結果は，わが国におけるPCB使用量をよく反映している．即ち，わが国ではPCB使用は，1954年から始まり，その後，経年的に急増し，1970年の約1万トンをピークにして1972年に使用・生産が中止になっている[10)]．

油症認定者の生体試料中のPCBは一般健常者と比べ特徴的な異性体組成を示すことが明らかにされている[11)]．具体的には，油症認定者は，一般健常者に比べて，2，3，3′，4，4′，5-HxCB（PCB＃156）異性体濃度が高く，逆に，2，3′，4，4′，5-PeCB（PCB #118)異性体濃度が低いという特徴がある．従って，Table 6では，油症被害者（油症認定者と油症未認定者）および一般健常者につ

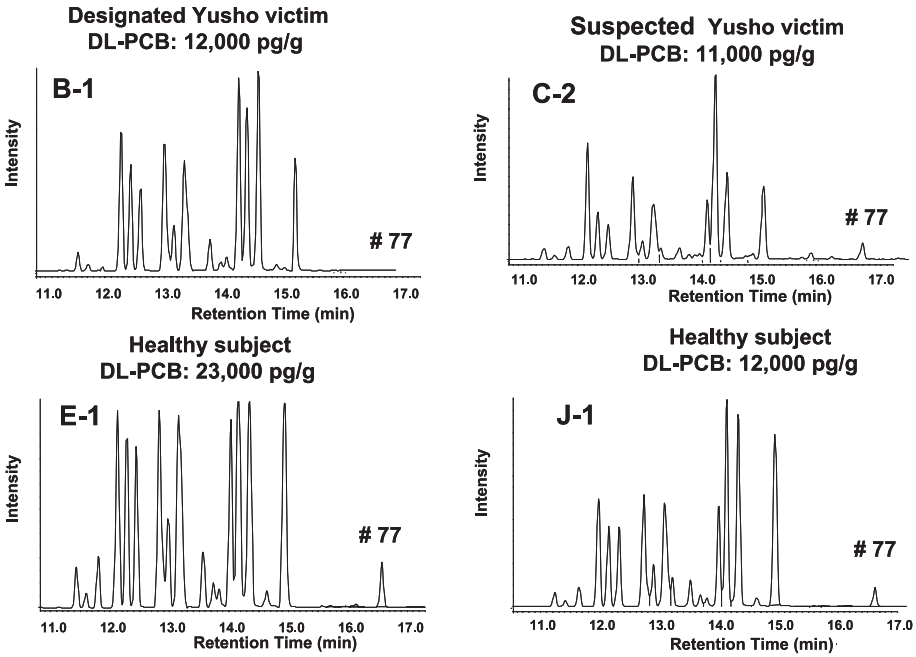

Fig. 4 HRGC/HRMS SIM chromatograms of TeCBs in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

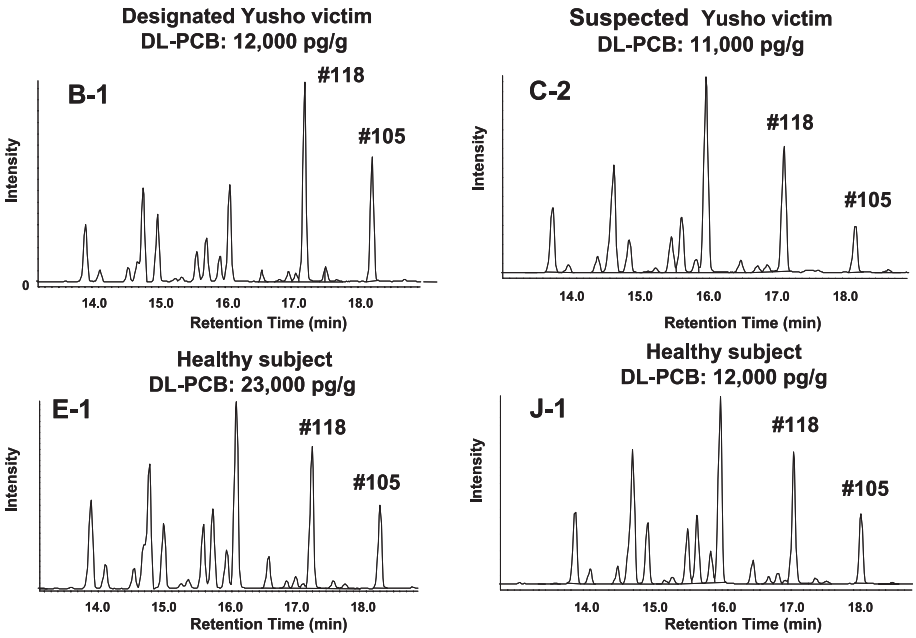

Fig. 5 HRGC/HRMS SIM chromatograms of PeCBs in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

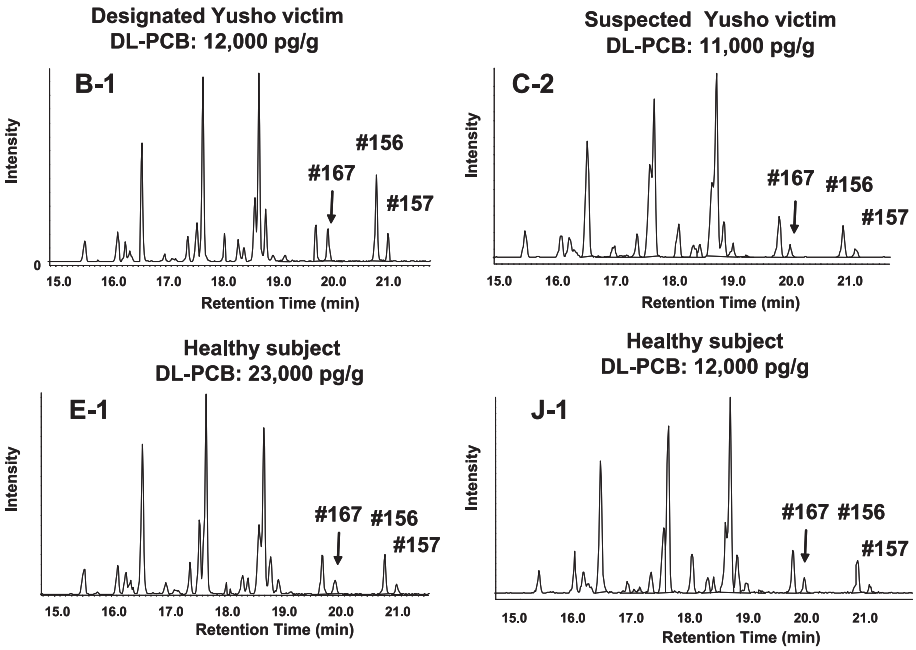

Fig. 6　HRGC/HRMS SIM chromatograms of HxCBs in preserved umbilical cords from Yusho victims and healthy subjects with a high concentration

いて，2，2'，4，4'，5，5'-HxCB（PCB#153）異性体を基準にして，PCB ＃ 156 異性体および PCB#118 異性体の面積比を算出し，比較・検討した．

その結果，油症認定者における PCB ＃ 153 異性体に対する PCB ＃ 118 異性体の面積比（PCB ＃ 118/PCB ＃ 153 比）は，1.8 であり，一般健常者の面積比の 1.6 よりも，逆に高い値となった．この傾向は，前回の調査結果[9]（油症認定者の濃度比：8.0，一般健常者の濃度比：2.1）でも同様であった．従って，保存さい帯では，油症認定者の生体試料中に認められる特徴的な異性体組成を示す可能生は低いことが示唆された．さらに，Table 7 において，油症認定者で最高濃度（12,000 pg/g）を示した B-1 試料および油症未認定者で最高濃度を示した C-2 試料についてのピーク面積比を，一般健常者で最高濃度（23,000 pg/g）の E-1 試料と比較検討したが，上記と同様の結果となった．

Fig. 4～Fig. 6 には，前回[9]および今回の調査において，最高濃度を示した油症認定者および一般健常者の保存さい帯試料について，それぞれの HRGC/HRMS SIM クロマトグラムを示した．これらクロマトグラムを比べ，DL-PCB 以外の PCB 異性体について，油症認定者に特徴的な異性体の有無を検討した．しかしながら，クロマトグラムから読み取れる主要成分の異性体について，油症認定者に特徴的な異性体を確認することができなかった．

以上の結果から，今後，分析例を増やすとともに，さらに詳細な解析を行う必要がある．一方，ポリ塩化クワッターフェニル（PCQ）は，油症原因油摂取の指標として極めて有効である．そのため，PCQ を指標化合物とした評価を検討することが重要であるものと推測される．

総　　括

油症被害者 3 名および一般健常者 11 名の女性が出産した時の保存さい帯（へその緒）28 試料を対象として，ダイオキシン様 PCB（DL-PCB）を分析し，その分析値を基準にして，出産当時の油症被害者における両化合物による汚染評価を検討した．その結果，油症発症当時の 1968～70 年代においては油症被害者および一般健常者の汚染濃度は極めて高く，それ以降は経時的に減少する経年変化が認められた．しかし，両化合物の汚染濃度や組成は，油症被害者と一般健常者との間で有意的な差異は認められなかった．この傾向は，2006 年に実施した油症被害者と一般健常者の保存さい帯試料（油症認定者：３試料，油症未認定

者：８試料，一般健常者：15試料）の分析結果と同様であった．従って，今後，分析例を増やすとともに，さらに詳細な解析を行う必要がある．また，ポリ塩化クワッターフェニル（PCQ）等を含めたPCB熱変成物についても検討することが重要である．

参考文献

1）飯田隆雄，深町和美，高橋克己，増田義人：油症原因油および油症患者血液中のPCB，PCQおよびPCT，福岡医誌　76：126-131，1985.
2）増田義人，山口早苗，黒木宏明，原口浩一：最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニル異性体，福岡医誌　76：150-152，1985.
3）黒木宏明，大間美和，原口浩一，増田義人，猿田隆夫：油症患者の皮脂，皮下膿瘍中のPCBおよびPCDF分析，福岡医誌　78：320-324，1987.
4）樫本　隆，宮田秀明，高山幸司，尾垣淳治：高分解能MS-SIM法による油症患者組織および原因油中のPCDDs，Coplanar PCBs，PCDFs，福岡医誌　78：325-336，1987.
5）大神太郎，野中薫雄，吉田彦太郎，村山史男，山下和徳，益田宣弘：油症患者の血液および皮下脂肪組織中のpolychlorinated biphenyls（PCB），polychlorinated quaterphenyls（PCQ）の濃度と性状について，福岡医誌　78：337-342，1987.
6）大間美和，黒木宏明，原口浩一，増田義人，許書刀：PCB中毒患者における血液中PCB異性体の濃度推移，福岡医誌　80：281-286，1989.
7）飯田隆雄，中川礼子，深町和美，高橋克己：油症患者の皮下脂肪組織中Polychlorinated Dibenzofurans（PCDFs），福岡医誌　80：296-301，1989.
8）Ohgami T, Nonaka S, Yamashita K, Irifune H, Watanabe M, Tsukazaki N, Tanaka K and Yoshida H : A comparative study on polychlorinated biphenyls (PCB) and polychlorinated quaterphenyls (PCQ) concentrations in subcutaneous fat tissue, blood and hair of patients with Yusho and normal control in Nagasaki Prefecture, 福岡医誌 80 : 307-311, 1989.
9）青笹　治，太田壮一，中尾晃幸，宮田秀明，石澤春美，坂下　栄，佐藤麗子，水野玲子：カネミ油症患者における保存さい帯（へその緒）中のPCB濃度，環境ホルモン学会第9回研究発表会要旨集，70-71頁（東京）（2006）.
10）PCBをなくすために：http://www.pcb.jp/seisan.html
11）増田義人，吉村健清，梶原淳陸：油症発症より38年間の患者血液中PCBs，PCDFsの濃度変遷，福岡医誌　98：182-195，2007

(Received for publication April 7, 2009)