

カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期と芳香族炭化水素受容体(AhR)のSNPの関係

松本, 伸哉
奈良県立医科大学健康政策医学講座

赤羽, 学
奈良県立医科大学健康政策医学講座

神奈川, 芳行
奈良県立医科大学健康政策医学講座

梶原, 淳睦
福岡県保健環境研究所

他

<https://doi.org/10.15017/1518358>

出版情報 : 福岡醫學雑誌. 106 (5), pp.139-143, 2015-05-25. 福岡医学会
バージョン :
権利関係 :

カネミ油症患者のダイオキシン類の半減期と 芳香族炭化水素受容体 (AhR) の SNP の関係

¹⁾ 奈良県立医科大学 健康政策医学講座

²⁾ 福岡県保健環境研究所

³⁾ 福岡市立こども病院

⁴⁾ 九州大学 環境発達医学研究センター

⁵⁾ 九州大学大学院医学研究院 皮膚科学分野

⁶⁾ 九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

松本伸哉¹⁾, 赤羽 学¹⁾, 神奈川芳行¹⁾, 梶原淳睦²⁾, 月森清巳³⁾,
和氣徳夫⁴⁾, 三苫千景⁶⁾, 内 博史⁵⁾, 古江増隆⁵⁾⁶⁾, 今村知明¹⁾

Relationships between Half-Lives of Dioxins and SNPs in AhR among Yusho Patients

Shinya MATSUMOTO¹⁾, Manabu AKAHANE¹⁾, Yoshiyuki KANAGAWA¹⁾, Jumboku KAJIWARA²⁾,
Kiyomi TSUKIMORI³⁾, Norio WAKE⁴⁾, Chikage MITOMA⁶⁾, Hiroshi UCHI⁵⁾,
Masutaka FURUE⁵⁾⁶⁾ and Tomoaki IMAMURA¹⁾

¹⁾ *Department of Public Health, Health Management and Policy,
Nara Medical University School of Medicine*

²⁾ *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*

³⁾ *Fukuoka Children's Hospital*

⁴⁾ *Research Center for Environment and Developmental Medical Sciences*

⁵⁾ *Department of Dermatology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University*

⁶⁾ *Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital*

Abstract

Half-lives of blood levels of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF) are varied in Yusho patients. The objective was to evaluate a relationship between half-lives of PeCDF levels and types of SNP rs10249788 of aryl hydrocarbon receptor (AHR) gene in 93 Yusho patients. Based on physical symptoms, age, sex, body mass index and other factors, we set up suitable calculation formulas to fit the actual PeCDF levels thorough rates of change in PeCDF. We found that patients with C/T SNP had longer half lives than patients with C/C and T/T SNPs. Patients with T/T SNP are known to express higher amount of AHR mRNAs. However, detailed analysis could not be carried out in T/T group due to a limited number of patients (n=11). Further research is warranted to determine the cause of the longer half-lives in C/T patients.

Key words : Yusho · Half-life · Dioxin-like compound · AhR · SNPs

目 的

油症は、1960年代後半に九州北部で発生したダイオキシン類による中毒事件である。当初は、polychlorinated biphenyl (PCB) が原因と考えられていた。しかし、研究の結果、主たる原因は、ダイオキシン類の一つである、2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF) であることが判明した¹⁾。

平成14年度から、油症検診の際にダイオキシン類濃度の計測をしている¹⁾。我々はこの測定結果をもとに半減期の算出を行った。油症患者では、これまでの研究で指摘されている半減期で減少しているだけではなく、高濃度であるにも関わらず、ほとんど減少していない患者がいることを指摘した²⁾。さらに、半減期と症状の関係を明らかにした³⁾。

平成23年度に患者の芳香族炭化水素受容体 (Arylhydrocarbon Receptor, AhR) の SNP (一塩基多型) に関する調査が行われている⁴⁾。ダイオキシン類は、AhR に結合し、チトクローム P450 などの解毒酵素を産生することが知られている。

本研究では、ダイオキシン類の半減期と SNP の関係を確認することを目的とした。

方 法

1. 対象患者

AhR の SNP 検査を行った患者のうち、2002年～2010年の間に2回以上ダイオキシン類濃度の測定を実施し、最初の測定から最後の測定までの間が4年以上の患者で、平均血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度が50 pg/g lipid以上の患者、93名を対象とした。表1に対象患者の分布を示す。

表1 対象患者人数

年 齢	男 性			女 性		
	C/C	C/T	T/T	C/C	C/T	T/T
40-49				1	1	
50-59	1	1		4	4	1
60-69	9	7	2	10	13	1
70-79	8	4	6	9	7	1
80-89	1	1			1	

2. 分析手法

最初に、AhR 遺伝子のプロモーター領域の SNP (C ⇒ T の変異) 調査結果を用いて、性別、

年齢階級別 (10歳刻み) に SNP の頻度分析を実施した。

次に、半減期と SNP の間の関係を分析するために、対象患者の症状/状態から、濃度の変化率を導く方程式を次のように仮定する。症状/状態の一つとして、SNP を評価する。

$$a_i = \alpha_0 + \alpha_1 x_{i1} + \dots + \alpha_n x_{in} \quad \text{式1}$$

i : 患者番号

x_{ij} : 患者 i 症状 j に対する症状の強さ

α_j : 半減期を推定する係数

このとき、患者 i の半減期は次の式で与えられる。

$$\text{半減期}_i = -\frac{\ln(2)}{a_i} \quad \text{式2}$$

各患者の濃度の変化率を用いて、各患者の血液脂質中の PeCDF 濃度の自然対数を推定する式を組み立てる。

$$\ln C_{it} = b_i + a_i t \quad \text{式3}$$

t : 測定年度

式3に式1を代入し、各患者、各測定年度の測定値を代入することで、連立方程式にして、各係数を求める。

そして、体重の変化が半減期へ影響を及ぼすのではなく、測定時の体重が濃度へ影響を及ぼすモデルを付加する。

$$C(t) = \frac{C_0}{Q_0^r} \cdot Q(t)^r \cdot e^{at} \quad \text{式4}$$

C_0 : 基準年度における濃度

Q_0 : 基準年度における体重

r : 体脂肪量が濃度に与える影響係数

これを対数化し、線形結合で表現できるとする。

$$\ln C_{it} = b_i + \ln \frac{C_{i0}}{Q_{i0}^r} + r \cdot \ln Q_{it} + a_i t \quad \text{式5}$$

半減期係数を求める係数と、各患者の濃度の半減期を未知数とする過剰な連立方程式を組み立てた。

$$\begin{bmatrix} \log_2 C_{11} \\ \vdots \\ \log_2 C_{1l} \\ \log_2 C_{21} \\ \vdots \\ \log_2 C_{ml} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & Q_{11} & 1 \cdot x_{11} & \cdots & 1 \cdot x_{1n} & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & \vdots \\ l & Q_{1l} & l \cdot x_{11} & \cdots & l \cdot x_{1n} & 1 \\ 1 & Q_{21} & 1 \cdot x_{21} & \cdots & 1 \cdot x_{2n} & 1 \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & \ddots \\ l & Q_{ml} & l \cdot x_{m1} & \cdots & l \cdot x_{mn} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \alpha_0 \\ \gamma \\ \alpha_1 \\ \vdots \\ \alpha_n \\ b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_m \end{bmatrix}$$

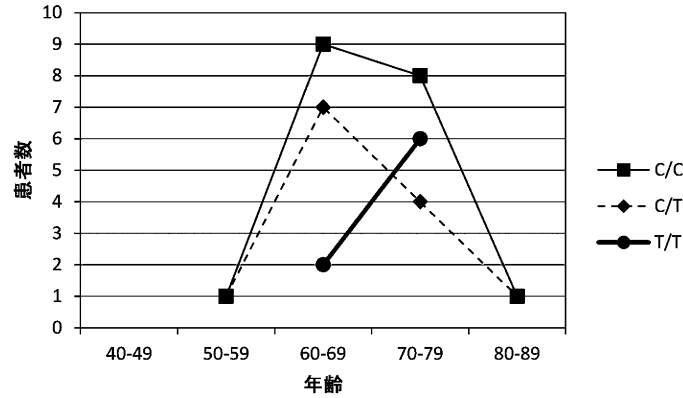


図 1 (a) 男性の遺伝子型ごとの年齢分布

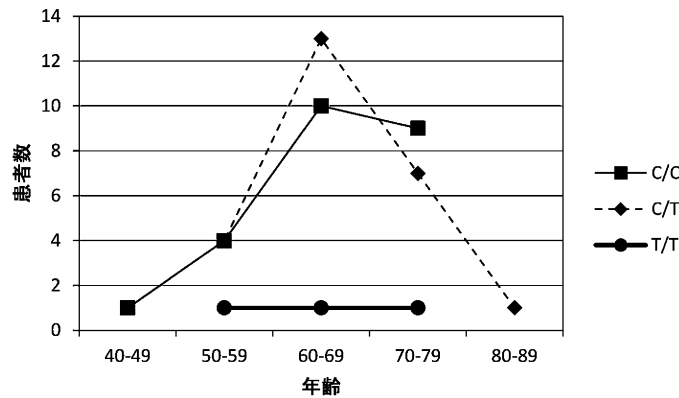


図 1 (b) 女性の遺伝子型ごとの年齢分布

統計ツール R の lm 機能を用いて解くことにより、症状から半減期逆数を求める方程式を作成した。症状の項目のすべてに対して係数を求め、その統計値を比較し、もっともフィットしたと考えられる症状を確定する。順次、症状を増やしていくことで、半減期逆数を求める方程式を作成した。

血中ダイオキシン類濃度は、測定時の種々の影響を受ける。体内の各異性体の総量（体内負荷量）の変化を推定すべきである。Deurenbergらは、性・年齢・BMI から、体脂肪率を推定する式を提案した⁵⁾。

$$BF\% = 1.20 \times BMI + 0.23 \times age - 10.8 \times sex - 5.4$$

式 6

$age(\text{years})$

$sex : \text{male}(0)/\text{female}(1)$

この推定体脂肪率と体重を掛け合わせ、体脂肪量を推定することができる。さらに、血中脂質あたりのダイオキシン類濃度をかけることにより、

体内負荷量を推定することができる。この推定体内負荷量を目的変数として、この変化の推定する式を推定した。

結 果

1. 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を推定する式

図 1 (a)に、男性の遺伝子型ごとの年齢分布を示す。図 1 (b)に女性の遺伝子型ごとの年齢分布を示す。

2. 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度を推定する式

表 2 に、2,3,4,7,8-PeCDF の血中濃度を推定する式の推定結果を示す。図 2 に、表 2 の中で濃度の変化率を推定する箇所だけをとりだした式を示す。この式に、C/T 型患者の項に「1」を代入すると、 -0.007715 となり、C/T 型の患者の半減期が約 90 年で、C/T 型以外の患者は、C/T 型患者の項に「0」を代入すると、 -0.016865 となり、半

減期が40年で、C/T型の患者で半減期が長いという結果であった。

表2 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度推定の係数

	係数	t value	p value
測定時血中脂質濃度	-0.426797	-8.029	1.83×10^{-14}
測定時体重	0.691457	3.867	0.000133
濃度変化率定数項	-0.016865	-5.914	8.48×10^{-09}
濃度変化率C/T患者	0.009150	2.185	0.029597

図2 濃度変化率を推定する式

[濃度の変化率] = $-0.016865 + 0.009150 \times [C/T患者]$

3. 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度を推定する式 (T/T型以外)

T/T型の患者の年齢分布が他と異なることから、T/T型を対象外とし、C/C型とC/T型を対象とした。2,3,4,7,8-PeCDFの血中濃度を推定する式の推定結果を示す(表3)。図3に、表3の中で濃度の変化率を推定する箇所だけをとりだした式を示す。この式に、C/T型患者の項に「1」を代入すると、 -0.007644 となり、この逆数で、C/T型の患者は半減期が約90年であった。C/C型の患者は、C/T型患者の項に「0」を代入すると、 -0.01705 となり、C/C型の患者は、半減期が40年であった。C/T型の患者で、半減期が長いという結果であった。

表3 血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度推定の係数 (T/T型以外)

	係数	t value	p value
測定時血中脂質濃度	-0.429120	-7.507	8.16×10^{-13}
測定時体重	0.708608	3.690	0.00027
濃度変化率定数項	-0.017050	-5.151	4.91×10^{-07}
濃度変化率C/T患者	0.009406	2.120	0.034895

図3 濃度変化率を推定する式

[濃度の変化率] = $-0.017050 + 0.009406 \times [C/T患者]$

4. 2,3,4,7,8-PeCDF体内負荷量推定の係数 (T/T型以外)

表4に、2,3,4,7,8-PeCDFの体内負荷量を推定する式の推定結果を示す。図4に、表4の中で濃度の変化率を推定する箇所だけをとりだした式を示す。半減期が最長となったのは、最近の粉瘤傾向が無の場合(値は1)かつSNP(C/T型)のときで、濃度の変化率は -0.013238 で、半減期は52.3年であった。半減期が最短となったのは最

近の粉瘤傾向が有の場合(値は2)かつSNP(C/C型)のときであり、濃度の変化率は -0.03988 で、半減期は17.4年であった。

表4 2,3,4,7,8-PeCDF体内負荷量推定の係数 (T/T型以外)

	係数	t value	p value
測定時血中脂質濃度	-0.476070	-8.414	2.09×10^{-15}
濃度変化率定数項	-0.004960	-0.563	0.57397
濃度変化率最近の粉瘤傾向	-0.017460	-2.754	0.00627
濃度変化率SNP (C/T=1, C/C=0)	0.009182	2.039	0.04235

図4 濃度変化率を推定する式

[濃度の変化率] = $-0.004960 - 0.017460 \times [最近の粉瘤傾向] + 0.009182 \times [C/T患者]$

考 察

女性のT/T型の患者の年齢分布は、他の変異型の年齢分布と異なっていた。本研究では、分布が異なる原因まで分析することは不可能であるが、注目すべき結果である。異なる分布が発生した要因に関して推測することは可能である。T/T型のSNPでは、CYP1A1発現が増加することが知られている⁶⁾。本研究では、50 pg/g lipid以上の患者を対象としている。CYP1A1の発現がダイオキシン類の排泄を促す場合には、早期に濃度が低下する。特に、若い患者で発現が大きくなる場合には、対象患者のSNP型ごとの年齢分布が異なることを引き起こす可能性がある。

半減期とSNP型の関係では、表2において、C/T型のSNPが式に採用されたが、T/T型のSNPは式に採用されなかった。対象患者中のT/T型は、他の型に比べて人数が少なく、特に女性では、極端に人数が少なかった。C/C型とC/T型は、男女ともに、似たような分布を示しているのに対して、T/T型の患者は、他の遺伝子型と異なる形状であった。人数が少ないことや、年齢分布が異なることから、T/T型の特徴が式に反映されなかったものと考えられる。

T/T型を除いて分析を行っても(表3)表2に示したのと同様にC/T型が採用された。つまり、C/C型よりもC/T型において半減期が長いという結果になった。我々は半減期の長さは、症状の違いと関係していると報告しており、特に皮膚科的症状が強い患者の半減期が短い³⁾。C/T型の患

者の方が、症状が弱いという可能性が考えられる。しかし、油症発生後 40 年が経過しており、因果関係が逆の可能性もある。つまり、症状が強く出ていた患者が短い半減期で早く排出され、先に症状が弱くなる可能性も考慮する必要がある。今後さらに対象人数を増加し、状況を合わせることでより適切な推定が可能であると考えられる。

結 論

ダイオキシン類の半減期と AhR の SNP の間に関係があることが示された。しかし、CYP1A1 の増加が知られている T/T 型は関係が示されず、C/T 型の患者の半減期が長かった。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費補助金によるものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) Furue M, Uenotsuchi T, Urabe K, Ishikawa T and Kuwabara M : Overview of Yusho. *Journal of Dermatological Science Supplement*, 1 : S3-S10, 2005.
- 2) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Koike S, Yoshimura T, Mitoma C, Shibata S, Uchi H, Furue M and Imamura T : Variation in half-life of penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) blood level among Yusho patients. *Chemosphere*, 77 : 658-662, 2009.
- 3) Matsumoto S, Akahane M, Kanagawa Y, Kajiwara J, Todaka T, Yasukawa F, Uchi H, Furue M and Imamura T : Individuals' half-lives for 2,3,4,7,8-penta-chlorodibenzofuran (PeCDF) in blood : correlation with clinical manifestations and laboratory results in subjects with Yusho. *Chemosphere*, 92 : 772-777, 2013.
- 4) Liu G, Asanoma K, Takao T, Tsukimori K, Uchi H, Furue M, Kato K and Wake N : Aryl hydrocarbon receptor SNP -130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. *Toxicol Lett.* 232 : 384-392, 2015.
- 5) Deurenberg P, Weststrate JA and Seidell JC : Body mass index as a measure of body fatness : age- and sex-specific prediction formulas. *Br J Nutr.* 65 : 105-114, 1991.
- 6) Harper PA, Wong JM, Lam MS and Okey AB : Polymorphisms in the human AH receptor. *Chem Biol Interact.* 141 (1-2) : 161-187. 2002.

(Received for publication March 13, 2015)