

2005年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析

芦塚, 由紀
福岡県保健環境研究所

中川, 礼子
福岡県保健環境研究所

平川, 博仙
福岡県保健環境研究所

堀, 就英
福岡県保健環境研究所

他

<https://doi.org/10.15017/6145>

出版情報 : 福岡医学雑誌. 98 (5), pp.232-235, 2007-05-25. 福岡医学会
バージョン :
権利関係 :

2005年度油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析

¹⁾ 福岡県保健環境研究所

²⁾ 北九州生活科学センター

芦塚由紀¹⁾, 中川礼子¹⁾, 平川博仙¹⁾, 堀 就英¹⁾,
梶原淳睦¹⁾, 飯田隆雄²⁾, 吉村健清¹⁾

Analysis of Polychlorinated Quaterphenyls in Yusho Diagnosis in 2005

Yuki ASHIZUKA¹⁾, Reiko NAKAGAWA¹⁾, Hironori HIRAKAWA¹⁾, Tsuguhide HORI¹⁾,
Jumboku KAJIWARA¹⁾, Takao IIDA²⁾ and Takesumi YOSHIMURA¹⁾

¹⁾ *Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39,
Mukaizano, Dazaifu-shi, Fukuoka 818-0135*

²⁾ *Kitakyushu Life Science Center, 1-4, Nakabarushinmachi,
Tobata-ku, Kitakyusyu-shi, Fukuoka 804-0003*

Abstract The polychlorinated quaterphenyl (PCQ) concentrations in the blood are important discriminative parameters in Yusho patients. The blood samples of 81 persons were analyzed for PCQ in the 2005 annual inspection for Kanemi rice oil poisoning. PCQ was detected in 28 blood samples (ranging from 0.02 to 4.05ppb). The means of PCQ concentration in the blood were 1.80 ppb (0.33-4.05ppb) in pattern A, 0.71ppb (<0.02-2.26ppb) in pattern B, 0.03ppb (<0.02-0.14ppb) in pattern BC and 0.02ppb (<0.02-0.45ppb) in pattern C, respectively. PCQ was still present at high concentration in the blood of patterns A and B. Since PCQ concentration is a useful diagnostic criteria, it is important to follow up on this survey of blood PCQ levels.

はじめに

ポリ塩化クアテルフェニル(PCQ)は、PCDFと同様にPCBを熱媒体として加熱使用中に生成し、油症患者が摂取したライスオイル中に混入したと考えられている物質である¹⁾²⁾。PCQは健常者の血液中ではほとんど検出されていないが(平均で0.02 ppb以下)³⁾、油症患者の血液には健常者に見られないレベルのPCQが検出されている⁴⁾。そのためPCQ濃度は1981年に油症の診断基準に追加され、現在も油症に特徴的かつ有用な基準の一つとなっている。その基準では、血中PCQ濃度は0.1 ppb以上が「異常に高い濃度」とされ、0.02 ppb以下が「通常みられる濃度」、0.03~0.09 ppbが「境界領域濃度」とされている。

PCQの分析法は前田ら⁵⁾により、完全塩素化物である18塩化クアテルフェニル(ODCQ)として電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ(ECD/GC)で定量する方法として確立され、飯田ら⁶⁾によりキャピラリーカラムを用いた高感度な分析法が開発された。

最近では、新しい診断基準としてPCDF濃度が追加されたことにより、受診者の増加傾向が見られている。PCQの検査数も大幅に増加していることから、より効率的に精度良く分析を行う必要が生じている。我々は前報⁷⁾で、分析の小スケール化を行うことによって、分析操作を簡易化及び迅速化した方法を報告した。今回は、その方法を用いて行った2005年度油症一斉検診におけるPCQの分析結果について報告する。

材料及び実験方法

1. 血液試料

2005年度油症一斉検診で、81名(認定患者26名、未認定者55名)の受診者血液についてPCQの分析を行った。分析の精度を確認するための添加回収試験(n=3)には、PCQの検出されていない健常者1名の血液を使用した。

2. 標準液

PCQ標準液(10 ng/ml)を完全塩素化してPCQ濃度で5 ng/mlに相当するODCQ標準溶液を

調製した。この標準溶液を希釈し、0.2~2 ng/ml の検量線溶液を調製した。

3. 試薬・試液

ヘキサン、エタノールはキシダ化学社製の残留農薬・PCB 分析用を用いた。ジエチルエーテル、ジクロロメタンは関東化学社製の残留農薬・PCB 分析用を用いた。水酸化カリウムは和光純薬株式会社製の特級を、無水硫酸ナトリウムは関東化学社製の残留農薬・PCB 分析用を用いた。硫酸は和光純薬株式会社製の有害金属測定用を、発煙硫酸はキシダ化学社製を用いた。フロリジルは Floridin 社製のもを 130°C で 3 時間活性化させ、アルミナはメルク社製の Aluminiumoxid (70~230 mesh) を 130°C で 3 時間活性化後、精製水を 2% 加えてよく混合したものを用いた。

4. 使用機器

ガスクロマトグラフ ECD: Hewlett-Packard 社 HP5890A (⁶³Ni-ECD)

5. 測定条件

キャピラリーカラムカラム: Quadrex 社製 007-65HT (長さ 25 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.1 μm), カラムヘッド圧: 25 psi, 注入口温度: 300°C, 注入方法: スプリットレス, カラム温度: 80°C で 5 分間保持した後, 320°C まで 1 分間に 30°C の割合で昇温後 45 分間保持, 注入量: 4 μl, 検出器温度: 350°C

6. 分析方法

血液試料をよく混和し、約 2 g を 10 ml の丸底遠心管に正確に秤量した。1.5 N の水酸化カリウム / エタノールを 3.5 ml 加えてよく混合した後、90°C で 1 時間還流させた。放冷後、ヘキサンを 2 ml 加えて振とう抽出した。2000 rpm で 5 分間遠心分離した後、ヘキサン層を別の 10 ml スピッチに移した。再度ヘキサン 2 ml を加え、振とう抽出を行い先のヘキサン層と合わせた。ヘキサン層に精製水 3 ml を加えて水洗した後、無水硫酸ナトリウム (1.5 g) を充填したパスツールピペットに流し込み、7 ml のヘキサンで溶出させた。ヘキサン溶液を窒素ガスで約 1 ml に濃縮し、パスツールにフロリジル 0.5 g (130°C で 3 時間活性化させたも

の)、無水硫酸ナトリウム 0.2 g を積層させたカラムに負荷し、5%ジエチルエーテル / ヘキサン 7 ml で溶出させた。窒素ガスで濃縮乾固し、ヘキサン 2 ml を加えた。10%発煙硫酸 1 ml を加えて、攪拌し、2000 rpm, 5 min で遠心分離を行った後、硫酸層を捨てた。この操作を硫酸層が透明になるまで繰り返した。ヘキサン層をガラス製反応管に移し、0.5 ml ヘキサンで 3 回洗い込んだ後、窒素ガスで乾固させた。さらに 30 分以上減圧デシケーターに入れて完全に溶媒を留去させた。5 塩化アンチモンを 0.5 ml 加えて封管した後、200°C で 3 時間加熱し完全塩素化した。反応終了後、冷却し、開管した反応管にクロロホルム 2 ml を加えて、振とうした。次に 20%塩酸を 0.5 ml 加えて十分に振とうした後水冷し、さらに 20%塩酸 2 ml を加えて振とうした。1000 rpm で 5 分遠心分離した後、上層を捨て、同様に 20%塩酸 2 ml で 2 回洗浄した。続いて、蒸留水 2 ml, 5%酒石酸 2 ml, 5%炭酸水素ナトリウム 2 ml, 蒸留水 2 ml の順番で洗浄を行った。無水硫酸ナトリウム (1.5 g) を充填したパスツールピペットに、クロロホルム層を流し込み、5 ml のクロロホルムで溶出させた。窒素ガスで濃縮を行い、完全にクロロホルムを留去した後、ヘキサン 0.5 ml に溶解させた。次にパスツールピペットにアルミナ 0.25 g (130°C で 3 時間活性化後、精製水を 2% 加えてよく混合したもの) と無水硫酸ナトリウム 0.2 g を積層したカラムに試料液を負荷し、2%ジクロロメタン / ヘキサン 6 ml で溶出させた。先細スピッチにとり、窒素ガスで濃縮を行い、完全に溶媒を留去させた。ヘキサン 0.2 ml を加えて最終検液とした。試料は ECD/GC に 4 μl 注入し、分析を行った。

7. 添加回収試験

PCQ の検出されていない健常者の血液 2 g に PCQ 標準溶液 10 ng/ml を 40 μl ずつ (血液試料 1 g 当たり 0.2 ng) 添加した。6 に示す分析方法を用いて n = 3 で添加回収試験を行った。

結果及び考察

1. 血液中 PCQ 分析における添加回収試験

血液中 PCQ 分析において、分析に用いる血液量の少量化及び分析の簡易化を検討し、前報で報告した。受診者の血液中 PCQ 分析を始める前に、

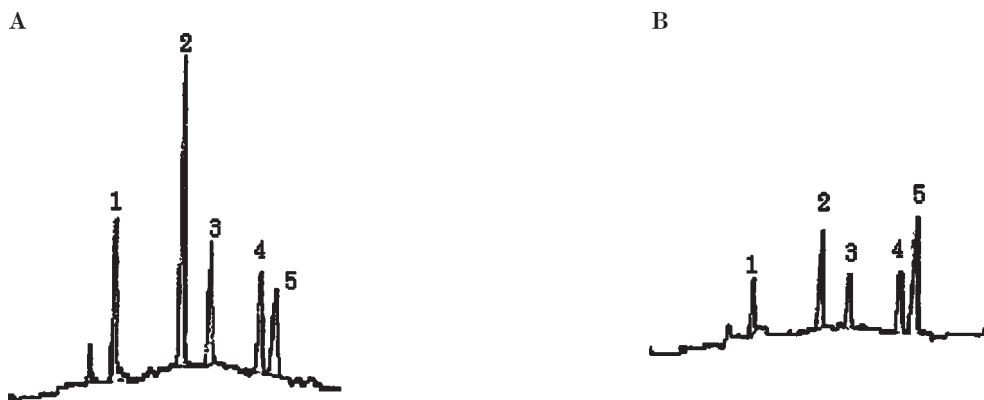


Fig. 1 The ECD / GC chromatograms of six skeletal types of perchlorinated PCQ congeners (ODCQ)
 Peak1 : 2,2'-ODCQ, Peak2 : 2,3'-ODCQ, Peak3 : 2,4'-ODCQ, Peak4 : 4,4'ODCQ, 3,3'-ODCQ, Peak5 : 3,4'-ODCQ
 A : PCQ standard (2ppb), B : Sample (Yusho patient)

分析の精度を確認するため、健常者の血液を用いて添加回収試験 (n=3) を行った。その結果、回収率は平均 98.5% (90.0~109.2%) で、RSD が 10.0% と良好な結果が得られた。油症診断では検出下限値として 0.02 ppb を達成することが必要である。今回の ECD/GC における検出下限値は 0.2 ppb (血液試料中で 0.02 ppb の検出下限値) であり、良好な感度を得られ、検量線は良好な直線性が得られた。Fig. 1 に 2 ng / ml 標準溶液及びサンプル (受診者 1 名) の ECD / GC クロマトグラムを示す。

添加回収試験における回収率及び分析機器 (ECD / GC) における検出感度が良好であることを確認した後、実試料の分析を開始した。ポジティブコントロールとして患者 1 名の血液を分析した結果は 4.05 ppb であり、前年度の 4.15 ppb と近い値であった。

2. 2005 年度油症一斉検診における PCQ 分析の結果

2005 年度油症一斉検診受診者で 81 名 (認定患者 26 名, 未認定者 55 名) の血液について PCQ 検査を実施した。その中で PCQ が検出されたのは 28 名で、濃度は 0.02 ppb~4.05 ppb であった。認定患者 (n=26) の血液中 PCQ 濃度の平均値は 0.88 ppb で、未認定者 (n=55) の平均値は 0.02 ppb 以下であった (Table 1)。

Fig. 2 は PCB のパターン別 (A, B, BC, C パターン) に 81 名の血液中 PCQ の濃度を示したも

のである。PCQ 濃度の平均値は A パターンが 1.80 ppb (0.33-4.05 ppb), B パターンが 0.71 ppb (<0.02-2.26 ppb), BC パターンが 0.03 ppb (<0.02-0.14 ppb), C パターンが 0.02 ppb (<0.02-0.45 ppb) であった。A パターン及び B パターンの平均値は BC パターン, C パターンと比べて極めて高い値であった。PCQ の測定が始められた時期である 1979 年の油症検診受診者の PCQ 分析結果³⁾ では、A パターン及び B パターンの平均値はそれぞれ 2.9 ppb (0.6-10 ppb), 2.0 ppb (0.02-7.1 ppb) であった。これと比較すると現在の油症患者中 PCQ 濃度レベルはその 3 分の 2 から 3 分の 1 程度であると考えられた。

Table 2 は 81 名の結果を血液中 PCQ 濃度及び PCB パターン別に人数を示した表である。典型的な油症患者の PCB パターンである A パターンでは 5 名全員が診断基準で定められている 0.1 ppb 以上の「異常に高い濃度」であり、その中でも 3 名は PCQ 濃度が 1 ppb 以上の極めて高い濃度であった。油症患者と健常者の中間である B パターンでは 18 名中 15 名が 0.1 ppb 以上の濃度で、1 ppb 以上の濃度は 5 名であった。A パターンと B パターンのほとんどは、現在も PCQ が 0.1 以上の高い濃度を示していることがわかった。一方、BC パターンの 5 名中 4 名, C パターンの 53 名中 46 名は PCQ が検出されなかった。血液中の PCQ 濃度レベルは PCB のパターン判定結果と大部分が相関していると思われたが、一方、PCB のパターンが B パターンであっても PCQ 濃度がく

Table 1 Levels of PCQ in the blood of Yusho-patients and Yusho-suspected persons in the 2005 annual inspection

	Concentration (ppb)	
	Yusho-patients (n=26)	Yusho-suspected persons (n=55)
Mean	0.88	<0.02
Minimum	<0.02	<0.02
Maximum	4.05	0.05

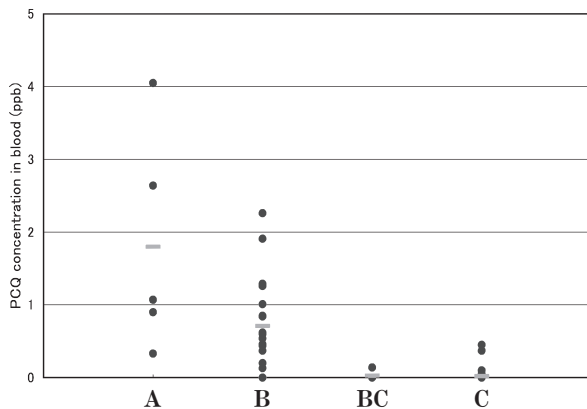


Fig. 2 The blood PCQ levels of subjects classified to each PCB pattern in the 2006 annual inspection; bars indicate the means of concentrations.

Table 2 Number of subjects classified to each PCB pattern and PCQ levels in the 2005 annual inspection

PCQ concentration (ppb)	PCB Pattern			
	A	B	BC	C
1<	3	5	0	0
0.1-1	2	10	0	3
0.02-0.1	0	0	1	4
<0.02	0	3	4	46
Total	5	18	5	53

0.02 ppb という例が 3 例、逆に健常者と見分けができない C パターンの人で PCQ が 0.1 ppb 以上の高い濃度を示す例が 3 例見られた。また、診断基準における境界領域濃度の 0.03~0.1 ppb を示すケースは BC パターンで 1 名、C パターンで 3 名であった。

総 括

2005 年度油症一斉検診受診者 81 名の血液における PCQ 濃度を分析した結果、28 名の血液から PCQ が検出された。典型的な油症患者の PCB 濃度パターンである A パターンと油症患者と健常者の中間である B パターンのほとんどは、現在も PCQ が 0.1 ppb 以上の高い濃度を示していた。

油症患者の PCQ 濃度は、1979 年のデータと比較すると 3 分の 2 から 3 分の 1 程度に減少していたが、30 年以上経過した現在もまだ体内に高濃度に残留しており、血液中 PCQ 濃度は、PCB、PCDF 濃度とともに油症診断基準として重要な所見であると考えられる。一方、PCB のパターンが B パターンであっても PCQ が検出されない例や、逆に健常者と見分けができない C パターンの人で PCQ が 0.1 ppb 以上の高濃度で検出された例も見られた。また、診断基準における 0.03~0.1 ppb の境界領域濃度を示すケースは BC パターンで 1 名、C パターンで 3 名であった。臨床的な症状や PCB、PCDF 濃度との関連性などについての知見を得るためにも、今後も PCQ 濃度について継続的な追跡調査を行っていくことが重要であると考えられる。

謝 辞

本研究は平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金に負うものである。ここに記して謝意を表します。

参 考 文 献

- 1) 飯田隆雄, 深町和美, 高橋克巳, 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, 倉恒匡徳: 油症を起こしたライスオイル中の毒性物質, 福岡医誌 70:229-237, 1979.
- 3) 飯田隆雄, 竹中重幸, 中川礼子, 深町和美, 高橋克巳, 旭 正一: 正常者の血液中ポリ塩化クアテルフェニル濃度, 福岡医誌 78, 305-308, 1987.
- 4) Kashimoto T, Miyata H and Kunita N: The presence of polychlorinated quaterphenyls in the tissues of Yusho victims. *Fd. Cosmet. Toxicol.* 19: 335-340, 1981.
- 5) 前田浩一郎, 榎本 隆: 大阪府立公衆衛生研究所報告 食品衛生編, 9, 89, 1978.
- 6) 飯田隆雄, 深町和美, 竹中重幸, 中川礼子, 高橋克巳: ポリ塩化クアテルフェニルのキャピラリーガスクロマトグラフィーによる定量, 分析化学 37:230-235, 1988.
- 7) 芦塚由紀, 中川礼子, 平川博仙, 堀 就英, 飯田隆雄: 油症検診における血液中ポリ塩化クアテルフェニルの分析, 福岡医誌 96:227-231, 2005.

(受付 2007-4-2)