

## 油症一斉検診における血液試料中の 2,2',3,4,4',5',6- Heptachlorobiphenyl (PCB183) のキラル分析

酒谷, 圭一  
福岡県保健環境研究所

安武, 大輔  
福岡県保健環境研究所

高橋, 浩司  
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/10.15017/2328861>

---

出版情報：福岡醫學雑誌. 110 (2), pp.91-96, 2019-06-25. 福岡医学会  
バージョン：  
権利関係：

## 油症一斉検診における血液試料中の2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) のキラル分析

<sup>1)</sup>福岡県保健環境研究所

<sup>2)</sup>大阪大学 環境安全研究管理センター

<sup>3)</sup>九州大学病院 油症ダイオキシン研究診療センター

酒谷 圭一<sup>1)</sup>, 安武 大輔<sup>1)</sup>, 高橋 浩司<sup>1)</sup>, 堀 就英<sup>1)</sup>, 梶原 淳睦<sup>1)</sup>,  
香月 進<sup>1)</sup>, 中野 武<sup>2)</sup>, 三苦 千景<sup>3)</sup>, 古江 増隆<sup>3)</sup>

## Enantiomeric Analysis of 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl in the Blood of Examinees Collected during Medical Check-up for Yusho

Keiichi SAKATANI<sup>1)</sup>, Daisuke YASUTAKE<sup>1)</sup>, Koji TAKAHASHI<sup>1)</sup>, Tsuguhide HORI<sup>1)</sup>,  
Jumboku KAJIWARA<sup>1)</sup>, Susumu KATSUKI<sup>1)</sup>, Takeshi NAKANO<sup>2)</sup>,  
Chikage MITOMA<sup>3)</sup> and Masutaka FURUE<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences*

<sup>2)</sup>*Research Center for Environmental Preservation, Osaka University*

<sup>3)</sup>*Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin, Kyushu University Hospital*

### Abstract

Among 209 Polychlorinated biphenyl (PCB) congeners, 19 congeners are known to have enantiomers. In this study, we analyzed 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) in the human blood enantioselectively, and quantified the enantiomer-specific accumulation. The samples were collected during medical check-up for Yusho from 2015 through 2017. The average enantiomeric fraction (EF) of PCB183 in samples were 0.718. This fact indicates that PCB183(+) has greater bioaccumulation potential than PCB183(-) in human body. In addition, we analyzed statistical relationships between EFs and diagnostic criteria of Yusho. As the result, it was suggested that the EFs for PCB183 is not related to sex, age, concentration of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF) and the gas chromatographic pattern of blood PCBs.

**Key words** : Enantiomeric analysis, 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl, Yusho, Human blood

### はじめに

1968年、カネクロールが混入したライスオイルを摂食することで油症が発症した<sup>1)</sup>。カネクロールはライスオイル製造中の脱臭工程で熱媒体として使用されていたポリ塩化ビフェニール (PCB) の製品であり、油症発生直後に測定された典型的な油症患者の血液中 PCB 濃度は一般人に対して

2~3 倍の値であった<sup>2)</sup>。

PCB は化学構造の異なる 209 種類の異性体の混合物であり、このうち 19 種類には鏡像異性体 (キラル体) が存在する<sup>3)4)</sup>。一般的に、キラル体は製剤中では右旋性 (+) と左旋性 (-) が 1:1 のラセミの状態が存在し、拡散、分配、蒸発などの物理化学的プロセスではその存在割合は変化しないことが知られている<sup>5)6)</sup>。一方、生体内変化や

Corresponding author : Keiichi SAKATANI  
Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences, 39 Mukaizano, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan  
E-mail : sakatani@fihes.pref.fukuoka.jp

**Table 1** High-resolution gas chromatography-high-resolution mass spectrometry conditions

GC (7890A, Agilent Technologies Inc.)	
Column	BGB172, 30 m × 0.25 mm i.d. Film thickness: 0.18 μm
Oven temp.	Initial temperature at 120 °C hold for 2 min → heat up to 250°C at 2°C/min → hold at 250°C for 23 min
Injection port temp.	230°C
Injection mode and volume	Splitless (Purge time is 1 min), 1 μL
Carrier gas	Helium gas with a purity of greater than 99.999% 1.0 mL/min constant flow
MS (JMS-800D UltraFOCUS™, JEOL)	
Resolution	Equal to or greater than > 10,000 (10% valley)
Ionization voltage	38 eV
Ionization current	500 μA
Temperature of ion source	260°C
Accelerating voltage	10kV

タンパク質結合などの生物学的プロセスによりキラル選択的蓄積が起こることが示唆されており<sup>7)8)</sup>, 油症患者の体内においても PCB がキラル選択的に蓄積されている可能性がある. そこで本研究では, キラル体を有する PCB のうち, ヒト血液中で比較的高濃度で存在する 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) について調査を行った.

## 実験方法

### 1. 試料

2015 年度から 2017 年度に福岡県油症一斉検診を受診しインフォームド・コンセントを得た受診者のうち, 後述する統計解析を考慮し 64 名 (認定者 47 名, 未認定者 17 名) の血液を試料として抽出した.

### 2. 試薬

アセトン, ヘキサン, ジクロロメタン, トルエン, n-ノナンは関東化学製のダイオキシン類分析用を, 無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験・PCB 分析用を用いた. 10% 硝酸銀シリカゲルは富士フィルム和光純薬工業製のダイオキシン類分析用を, 硫酸は精密分析用を用いた. 活性炭はナカライテスク製を用いた. 標準試薬 (ダイオキシン類

のネイティブ体および<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-ラベル化体) は Wellington 製を用いた.

### 3. 装置および測定条件

PCB183 キラル体の測定にはオートインジェクタ (Agilent, 7693A) を取り付けた高分解能ガスクロマトグラフ質量分析装置 (Agilent, 7890A / 日本電子, JMS-800D UltraFOCUS™) を用いた. PCB183 (+) と PCB183 (-) の分離は BGB Analytik 製の BGB 172 (30 m × 0.25 mm i.d., 0.18 μm film thickness) によって行った. 測定条件を Table 1 に示す.

### 4. 試料の調製

試料の調製は既報<sup>9)10)</sup> に従った. すなわち, 試料 5 g を秤量した後, 凍結乾燥処理を経て高速溶媒抽出法による抽出を行った. 続いて, 硫酸処理の後, 10% 硝酸銀シリカゲルおよび活性炭によるカラム精製を行った.

### 5. EF 値の算出とキラル選択的蓄積性の検証

PCB183 がキラル選択的に蓄積されているか検証するため, PCB183 キラル体を測定して得られたマスキロマトグラムから PCB183 (+) および PCB183 (-) のエリア値を求め, (1)式を用いて EF

値を算出した。

$$EF = \frac{\text{Peak area of PCB183 (+)}}{\text{Peak area of PCB183(+)} + \text{Peak area of PCB183 (-)}} \quad (1)$$

(1)式より、 $EF = 0.5$  であれば PCB183 はラセミの状態が存在しキラル選択的蓄積はなし、 $EF > 0.5$  であれば PCB183 (+) が選択的に蓄積されている、 $EF < 0.5$  であれば PCB183 (-) が選択的に蓄積されているものと判断した。

なお、各試料は2回測定し、(1)式を用いて算出した  $EF$  値の平均値をその試料の  $EF$  値とした。

## 6. 統計解析

現在、油症の診断は発病条件と症状、各種所見(年齢・性別についても勘案した血液 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF) の濃度の異常や、血液 PCB の性状および濃度の異常などを参考に、受診者の年齢および時間的経過を考慮の上、総合的に判断することとなっている。そこで、(1)性別、(2)年齢、(3)2,3,4,7,8-PeCDF 濃度、(4)PCB の性状をパラメータとして以下の解析を行った。

### (1) 性別

男性、女性の2群間で  $EF$  値の比較を行った。Shapiro-Wilk 検定により各群が正規分布に従うことを確認した後、Welch の  $t$  検定を行った。

### (2) 年齢

$EF$  値と年齢に相関があるか確認した。Shapiro-Wilk 検定により  $EF$  値および年齢が正規分布に従うことを確認した後、Pearson の積率相関検定を行った。

### (3) 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度

2,3,4,7,8-PeCDF について、高濃度とされる 50 pg/g lipid 以上の群と、一般健常者で通常みられる濃度である 30 pg/g lipid 未満の群で、 $EF$  値の比較を行った。Shapiro-Wilk 検定により各群が正規分布に従うことを確認した後、Welch の  $t$  検定を行った。

### (4) PCB の性状

血液 PCB の性状については一般健常者と大きく異なる場合を A、区別できない場合を C、その中間タイプを B または BC というパターンに分類としている<sup>11)</sup>。本研究では BC パターンの試料数が3と少なかったため、BC を除く A、B およ

び C パターンの3群間で  $EF$  値の比較を行った。Shapiro-Wilk 検定により各群が正規分布に従うことを確認した後、一元配置分散分析を行った。

## 実験結果と考察

### 1. $EF$ 値とキラル選択的蓄積性

PCB183 キラル体を測定して得られたマスクロマトグラムを Fig. 1 に示す。標準試薬について、 $EF$  値は平均 0.497 ( $n = 8$ ) であり、PCB183 はラセミの状態で存在した。一方、血液試料について、 $EF$  値は平均 0.718 (最大 0.800, 最小 0.585) であり、PCB183 (+) が選択的に蓄積される傾向にあった。日本人が食事から摂取する PCB の給源の大半は魚介類であるが<sup>12)</sup>、魚介類の体内では PCB183 はラセミに近い状態で存在するとの報告があることから<sup>13)</sup>、ヒト体内中での生物学的プロセスにより PCB183 (+) のキラル選択的蓄積が起こっていることが示唆された。また、この傾向はヒト母乳で確認された結果<sup>13)</sup> と同様であった。

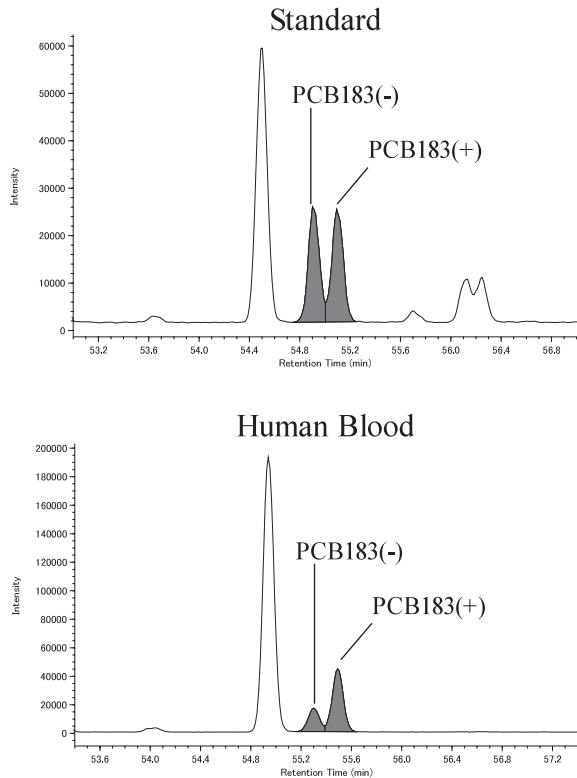
### 2. $EF$ 値と各種パラメータの関連性

#### (1) 性別

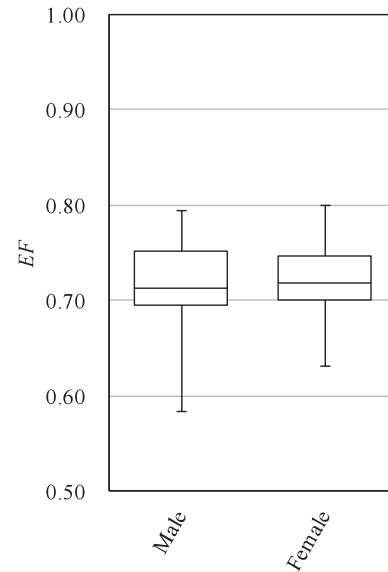
男性、女性の2群間で  $EF$  値の比較を行った (Fig. 2)。試料数は男性の群が 28、女性の群が 36 であり、 $EF$  値はそれぞれの群で平均 0.716 (最大 0.795, 最小 0.585) と 0.720 (最大 0.800, 最小 0.631) であった。Shapiro-Wilk 検定を行った結果、男性の群については  $W = 0.957$ ,  $p = 0.299$ 、女性の群については  $W = 0.980$ ,  $p = 0.743$  であり、ともに正規分布に従うことを確認した。この結果をふまえ、Welch の  $t$  検定を行った結果、 $t = 0.320$ ,  $p = 0.751$  であり、2群間の  $EF$  値には有意差が認められないことが分かった。

#### (2) 年齢

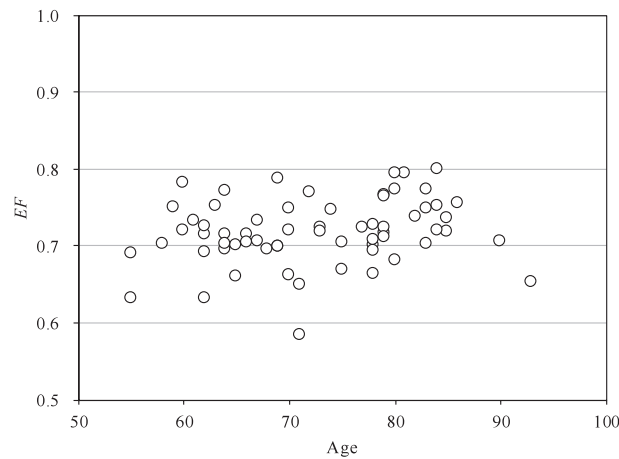
$EF$  値と年齢の間に相関関係があるか確認した (Fig. 3)。年齢は 55~93 歳であった。Shapiro-Wilk 検定を行った結果、 $EF$  値については  $W = 0.973$ ,  $p = 0.166$ 、年齢については  $W = 0.971$ ,  $p = 0.132$  であり、ともに正規分布に従うことを確認した。この結果をふまえ、Pearson の積率相関検定を行った結果、 $t = 1.77$ ,  $r = 0.219$ ,  $p = 0.0822$  であり、両者に有意な相関関係は確認されなかった。



**Fig. 1** Chromatograms of enantioselective analysis of PCB183.



**Fig. 2** Comparison of enantiomeric fractions (*EFs*) of 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) between male and female.

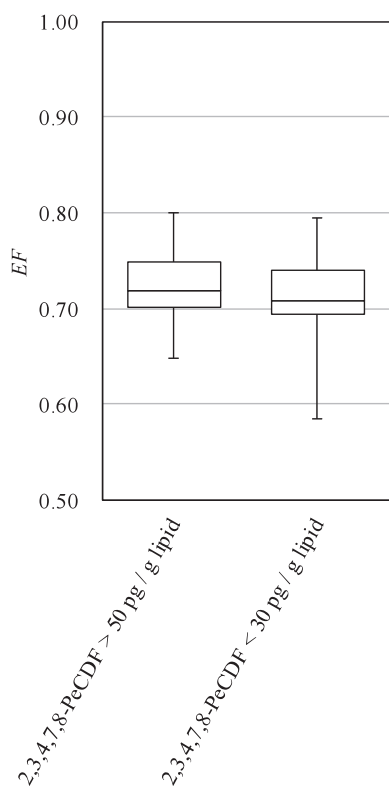


**Fig. 3** Enantiomeric fractions (*EFs*) of 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) as a function of age.

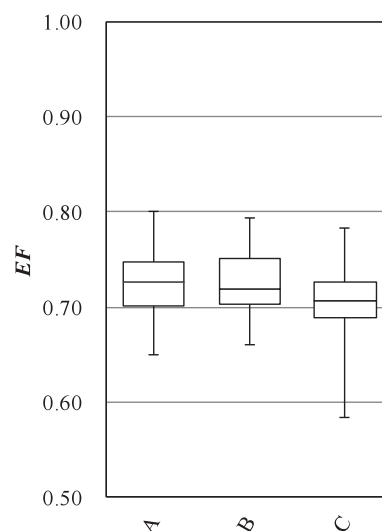
### (3) 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度

2,3,4,7,8-PeCDF について、高濃度とされる 50 pg/g lipid 以上の群と、一般健常者で通常みられる濃度である 30 pg/g lipid 未満の群で、*EF* 値の比較を行った (Fig. 4)。試料数は 50 pg/g lipid 以上の群が 32、30 pg/g lipid 未満の群が 32 であ

り、*EF* 値はそれぞれの群で平均 0.726 (最大 0.800, 最小 0.649) と 0.711 (最大 0.795, 最小 0.585) であった。Shapiro-Wilk 検定を行った結果、50 pg/g lipid 以上の群については  $W = 0.975$ ,  $p = 0.652$ 、30 pg/g lipid 未満の群については  $W = 0.968$ ,  $p = 0.445$  であり、ともに正規分布に従う



**Fig. 4** Relationship between enantiomeric fractions (*EFs*) of 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) with concentration of 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (2,3,4,7,8-PeCDF).



**Fig. 5** Relationship between enantiomeric fractions (*EFs*) of 2,2',3,4,4',5',6-Heptachlorobiphenyl (PCB183) with the gas chromatographic pattern of blood poly chlorinated biphenyls (PCBs).

ことを確認した。この結果をふまえ、Welch の *t* 検定を行った結果、 $t = 1.41$ 、 $p = 0.164$  であり、2 群間の *EF* 値には有意差が認められないことが分かった。

#### (4) PCB の性状

PCB の性状について、A、B および C パターンの 3 群間で *EF* 値の比較を行った (Fig. 5)。試料数は A パターンの群が 12、B パターンの群が 21、C パターンの群が 28 であり、*EF* 値はそれぞれの群で平均 0.727 (最大 0.800、最小 0.649)、0.726 (最大 0.795、最小 0.691) および 0.705 (最大 0.783、最小 0.585) であった。Shapiro-Wilk 検定を行った結果、A パターンの群については  $W = 0.979$ 、 $p = 0.978$ 、B パターンの群については  $W = 0.974$ 、 $p = 0.822$ 、C パターンの群については  $W = 0.956$ 、 $p = 0.278$  であり、いずれも正規分布に従うことを確認した。この結果をふまえ、一元配置分散分析を行った結果、 $F = 2.00$ 、 $df = 30.0$ 、 $p =$

0.154 であり、3 群間の *EF* 値には有意差が認められないことが分かった。

## 総 括

2015 年度から 2017 年度の福岡県油症一斉検診受診者のうち 64 名の血液を試料として PCB183 キラル体を分析し、*EF* 値を算出した。その結果、*EF* 値は平均 0.718 (最大 0.800、最小 0.585) であり、PCB183 (+) がキラル選択的に蓄積されていることを確認した。また、*EF* 値について性別、年齢、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度および PCB の性状をパラメータとした統計解析を行ったが、いずれも *EF* 値との間に明瞭な関係性はみられなかった。ただし、今回の調査では試料数が限られたことや、油症発症後 50 年近い時間が経過していることを考慮し、さらに多くの知見を集めて解析する必要があると考える。



## 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) 塚元久雄：油症患者が使用したライスオイル中の有毒物質の化学的検索 油症研究班分析部会報告書（油症（塩化ビフェニール中毒）特集）。福岡医学雑誌 60：496-512, 1969.
- 2) 増田義人：油症患者および一般体内のポリ塩化ビフェニール（油症とPCBに関する研究報告集-4-）。福岡医学雑誌 65：17-24, 1974.
- 3) Karumbati A, Espandiari P, Festag M, Robertson LW and Ludewig G : PCBs : Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects. 2001.
- 4) Kania-Korwel I and Lehmler HJ : Toxicokinetics of chiral polychlorinated biphenyls across different species--a review. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 23 : 2058-2080, 2016.
- 5) Jamshidi A, Hunter S, Hazrati S and Harrad : Concentrations and Chiral Signatures of Polychlorinated Biphenyls in Outdoor and Indoor Air and Soil in a Major U.K. Conurbation. Environ. Sci. Technol. 41 : 2153-2158, 2007.
- 6) Asher BJ, Ross MS and Wong CS : Tracking chiral polychlorinated biphenyl sources near a hazardous waste incinerator : fresh emissions or weathered revolatilization? Environ. Toxicol. Chem. 31 : 1453-1460, 2012.
- 7) Muller TA and Kohler HP : Chirality of pollutants--effects on metabolism and fate. Appl. Microbiol. Biotechnol. 64 : 300-316, 2004.
- 8) Lehmler HJ, Harrad SJ, Hühnerfuss H, Kania-Korwel I, Lee CM, Lu Z and Wong CS : Chiral polychlorinated biphenyl transport, metabolism, and distribution : a review. Environ. Sci. Technol. 44 : 2757-2766, 2010.
- 9) Todaka T : New protocol of dioxins analysis in human blood. Fukuoka Acta Med 94 : 148-157, 2003.
- 10) 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 飛石和夫, 飯田隆雄：ヒト血液中ダイオキシン類の抽出・精製法の改良および油症患者血液中ダイオキシン類濃度（油症とPCB及びダイオキシン関連化合物に関する研究報告集（第20集））。福岡医学雑誌 96：185-191, 2005.
- 11) Masuda Y : Health status of Japanese and Taiwanese after exposure to contaminated rice oil. Environ. Health Perspect. 60 : 321-325, 1985.
- 12) 立川涼, 川北啓子, 脇本忠明：食事から摂取するPCB量。家政学雑誌 24 : 466-473, 1973.
- 13) Konishi Y, Kakimoto K, Nagayoshi H and Nakano T : Trends in the enantiomeric composition of polychlorinated biphenyl atropisomers in human breast milk. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 23 : 2027-2032, 2016.

(Received for publication March 19, 2019)