

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月15日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22659122

研究課題名（和文） ベトナムにおけるダイオキシン類暴露と肥大型心筋症有症率に関する分子疫学研究

研究課題名（英文） The molecular epidemiological study on dioxin exposure and prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in Vietnam

研究代表者

城戸 照彦 (KIDO TERUHIKO)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：20167373

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、ベトナムにおける枯葉剤の健康影響に関する研究の一環として、肥大型心筋症に焦点を当て、分子疫学的にその有病率と遺伝子変異を検討することである。汚染地区と対照地区の40歳以上の男性各500名を抽出し、心電図検査で1次スクリーニングを実施した。その結果、7名に心肥大が疑われ、内5名に超音波検査をしたが、肥大型心筋症の所見を有する者は1人もいなかった。肥大型心筋症の有病率が際立って多いということは無いことを伺わせる結果であった。

研究成果の概要（英文）：This study is a series of epidemiological studies on dioxin exposure and human health effects in Vietnam. The aim of this study is to make clear the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy and examine mutations in its genes. Subjects consists of 500 individual men aged over 40 years old in a herbicide contaminated area and a control area, respectively. The first screening was conducted using electric cardiogram. As results, 7 men were suspected as cardiomegaly. Five men among them were examined using ultrasonic equipment. However, no one was found as hypertrophic cardiomyopathy. It would be suggested that the prevalence of hypertrophic cardiomyopathy is not so frequent.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	0	1,500,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	360,000	3,060,000

研究分野：環境保健

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：環境保健、社会医学、ダイオキシン類、肥大型心筋症、ベトナム、分子疫学

1. 研究開始当初の背景

1960-75年に行われたベトナム戦争では、旧南ベトナムにおいて、枯葉剤が散布され、その中に含有していたダイオキシン類により、熱帯雨林（ジャングル）の生態系のみならず、

地域住民や参戦していた兵士にも被害が出ていることが報告されている。ベトナム国内では、1980年以降、本格的な枯葉剤健康影響調査が実施されてきたが（Environmental and human health in Vietnam. HD Cau, NGHE AN public house, Hanoi (2003)）、

必ずしも、その成果が国際的に十分評価されているとは言えない。一方、ベトナム戦争中にアメリカ軍によって散布された枯葉剤に含まれていたダイオキシン類による健康影響に関する多くの研究がアメリカでは帰還兵を対象に実施されている (Serum 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) levels and thyroid function in Air Force veterans of the Vietnam War. Pavuk M, Ann Epidemiol, 13: 335-343 (2003))。韓国でも帰還兵の健康影響調査の結果が報告されている (Impact of agent orange exposure among Korean Vietnam veterans. JS Kim, Industrial Health, 41: 149-157 (2003))。我々は、2002 年以降の調査で枯葉剤散布地区住民の体内ダイオキシン量が対照地区より現時点でも有意に高いことを明らかにした (Association between dioxin concentrations in breast milk and food group intake in Vietnam. K Saito, Environ Health Prev Med. on line(2009))。健康影響に関しても、染色体異常とダイオキシン類との関連を示した (Relation between dioxins levels in human breast milk samples and SCE values among lactating females in a defoliants-sprayed area in Vietnam. Organohalogen Compounds. H Horikawa, 70: 646-649 (2008))。

かつて「原因不明の心筋疾患」と定義されていた肥大型心筋症において、近年の遺伝子解析研究の進展により、心筋 β ミオシン重鎖遺伝子の変異、心筋トロポニン T や I、ミオシン結合蛋白 C 等のサルコメア蛋白をコードする遺伝子の変異が、病因として次々と報告されてきた (A novel mutation Lys273Glu in the cardiac troponin T gene shows high degree of penetrance and transition from hypertrophic to dilated cardiomyopathy. N Fujino, Am J Cardiol, 89: 29-33 (2002))。今回、この遺伝子手法をベトナムでの疫学研究に応用する可能性が見えてきたので、萌芽的研究として挑戦した。

2. 研究の目的

ベトナムの枯葉剤/ダイオキシン類汚染地区における健康障害の特徴の 1 つは先天異常障害の出現である。従来、ベトナムにおいて外表奇形の頻度についての報告はあるが、内臓奇形に関する遺伝子学的検索は十分な研究がなされていない。In vivo における研究で、ダイオキシンと遺伝子変異の研究が進められ、肥大型心筋症やうっ血性心不全との関連性が示されている。

我々はこれまでに姉妹染色分体交換 (SCE ; Sister Chromatid Exchange) を用いて、ベトナム国内で枯葉剤汚染地区と対照地

区の間には有意な差のあることを明らかにしてきた。

本研究の目的は、肥大型心筋症に焦点を当て、心臓内科専門医との連携の下、分子疫学的に両地区間の住民を対象に遺伝子変異の有所見率を比較検討することである。

3. 研究の方法

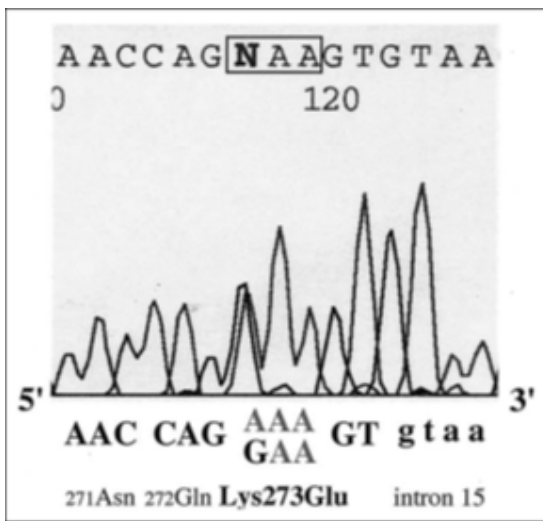
- (1) 研究地区：枯葉剤散布地区；ベトナム中南部の Binh Dinh 省 Phu Cat 県、旧米軍基地周辺。ベトナムの枯葉剤散布地区でも特に濃厚汚染地区であるいわゆる “hot spot” の 1 つである。
対照地区；ベトナム北部 Ha Nam 省 Kim Bang 地区。ハノイから南に 30 km の農村地帯。



- (2) 研究対象：枯葉剤散布地区から無作為抽出した 40 歳以上の男性約 500 名と散布地区と同様に選定した対照地区の男性約 500 名。
- (3) 研究時期：平成 22 年 8 月には汚染地区の Phu Cat でスクリーニング調査を実施した。平成 23 年 8 月には対照地区で同様に実施した。平成 24 年 8 月には両地区で 1 次スクリーニング検査の結果、心肥大が疑われた人を対象に精密検査を実施した。
- (4) 一次スクリーニング検査：現地スタッフによる質問紙調査と心電図検査を実施した。尚、当初の計画では、全対象者から血液を採取し、遺伝子解析を実施する予定であったが、効率性を考慮して精密検

査で肥大型心筋症が疑われた人だけを対象とするように変更した。

- (5)精密検査：日本より携帯型超音波検査装置を持参し、心肥大が疑われた7名中5名に実施した。1名はこの間に死亡、もう1名は病气入院中（病名不明）で検査への同意が得られなかった。
- (6)遺伝子検査：DNAの抽出は遺伝子検査の手順に則り専門家の指導の下、大学院生（ベトナムからの博士課程1年の留学生）が分析にあたるため、平成24年5月より手技を学んだ。彼は、既に2年間修士課程では検査技術科学で遺伝子解析の訓練を受けてきた。肥大型心筋症関連遺伝子として今回は心筋ベータミオシン重鎖、ミオシン結合蛋白C、心筋トロポニンTとIの4遺伝子の測定を準備した。



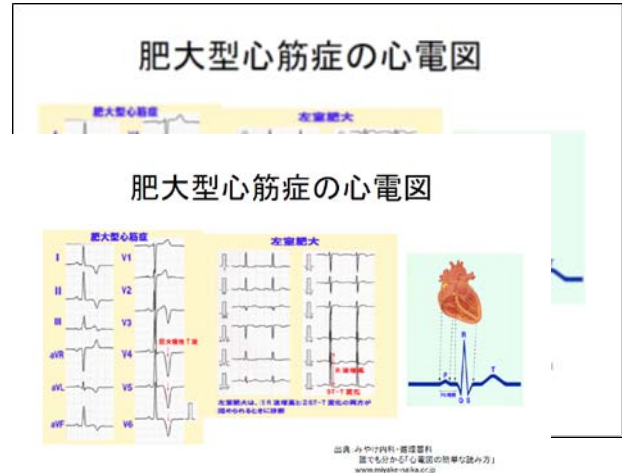
遺伝子解析の概要は以下のとおりである。白血球より DNA extractor 341 Nucleic Acid Purification System (GENEPURE, PE Biosystems Corporation Ltd., Foster City, California) を用いて DNA を抽出し、PCR (polymerase chain reaction) 法にて遺伝子の増幅を行う。Oligonucleotide primers が既報の sequences に基づき exon 15 of the cTnT gene の増幅に用いた (サンプルを図示)。

4. 研究成果

平成 22 年度は、枯葉剤濃厚汚染地区であるベトナム中南部の Binh Dinh 省 Phu Cat 県、旧米軍基地周辺に在住する 40 歳以上の男性 500 名から、1 次スクリーニング検査として質問紙調査と心電図検査を実施した。この結果、4 名が肥大型心筋症を疑わせる所見を示した。

平成 23 年度は、対照地区であるベトナム北部 Ha Nam 省 Kim Bang 地区においても、前

年度の汚染地区における調査と同様に、無作為に抽出した 40 歳以上の男性約 500 名に対して、平成 23 年度に 1 次スクリーニング検査として質問紙調査と心電図検査を実施した。この結果、3 名が肥大型心筋症を疑わせる所見を示した。



平成 24 年度は、上記 2 地区で肥大型心筋症が疑われた 7 名について、循環器内科専門医が携帯用超音波検査装置を用いて、現地の医療施設において 2 次検査を実施した。その結果、汚染地区の 4 名中 2 名のみ検査実施となった。(1 名は死亡、他の 1 名は病名不明だが、入院中で検査の同意が得られなかった。) 超音波検査の結果は、1 名は高血圧症に伴う心筋肥大を認めたが、他の 1 名には心肥大の所見は認められなかった。対照地区の 3 名については、1 名は心室中隔欠損症で手術経験のある人、他の 2 名にはいずれも心肥大の所見は認められなかった。

以上の結果、今回のスクリーニング検査の対象 1,000 名の中には肥大型心筋症を疑わせる人はいなかった。これは当初の予測に反する結果であった。

さて、特発性心筋症は、1980 年の World Health Organization / International Society and Federation of Cardiology (WHO/ISFC) では「原因不明の心筋疾患」と定義されていた。しかしながら、肥大型心筋症において、心筋 β ミオシン重鎖遺伝子を初めとして、心筋トロポニン T や I 遺伝子の変異が病因であると解明され始めたのに伴い、1995 年の WHO/ISFC では、「心機能障害を伴う心筋疾患」と定義された。そして、特発性心筋症は肥大型心筋症、拡張型心筋症、拘束型心筋症、不整脈源性右室心筋症、および分類不能の心筋症に分類された。

肥大型心筋症は、高血圧や大動脈弁狭窄症等の明らかな原因がないにもかかわらず、心筋肥大を呈する特発性心筋症である。疫学的には約 500 人に 1 人と比較的高頻度に認

められる疾患であり、また若年者突然死の原因としては最も頻度が高い。今回のベトナムの結果は、少なくとも、枯葉剤汚染地区で肥大型心筋症の有病率が特に高いことを疑わせる結果ではなかった。

このため、ベトナム人を対象に肥大型心筋症の遺伝子解析を実行することはかなわなかった。しかし、この検査のためにベトナムからの留学生がその手技に習熟できたことは本研究計画の成果の一つと考える。

また、超音波検査装置は一般的に大型であり、その運搬は容易ではないが、今回使用した携帯用超音波検査装置は平成22年10月から使用可能となった最新の小型装置である。ポケットサイズであり、日本や欧米では主に在宅・訪問医療の場、および循環器専門病院におけるベッドサイドにおいて、迅速な診断・病態把握を目的として使用される。今回の調査では、この携帯用超音波検査装置を枯葉剤汚染地区および対象地域に携行し、対象とした5名について、正確な循環器診断を下すことができた。十分に医療器械がそろわない地域においても正確な心臓の形態学的・機能的診断を下すことができることを示した初めての調査結果であり、今後の調査における有用性を示すことができたのも、本研究の成果であると考えられる。



携帯型超音波検査装置による診察風景

さらに汚染地区で検査した2名のうち1名は、高血圧症に起因するとはいえ著明な心肥大を呈していた。これは、1次スクリーニングにおける心電図診断の精度の高さを示す

結果であったといえよう。

今後とも、機会があれば、別の汚染地域で調査規模を拡大して同様な調査を実施し、遺伝子解析まで行えれば、ベトナムにおける肥大型心筋症の有病率と遺伝子変異についてより正確な評価を下せるであろう。

5. 主な発表論文等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

城戸 照彦 (KIDO TERUHIKO)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：20167373

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

藤野 陽 (FUJINO NOBORU)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：40361993

岡本 理恵 (OKAMOTO RIE)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：50303285