

## 分担研究報告書

### 長崎県油症認定患者における末梢血リンパ球分画、Treg 細胞の検討

研究分担者 宇谷厚志 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 教授  
研究協力者 峯 嘉子 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教

**研究要旨** 以前我々は、長崎県油症認定患者血清において、Treg 細胞由来のサイトカインである IL-10 IL-35 値の上昇を見出した。今回我々は、平成26年長崎県油症検診(五島 玉之浦地区)受診者の末梢血中 Treg 細胞に関して検討を行った。その結果、油症認定患者 53 名(本人認定 45 名、家族認定 8 名)、未認定患者 3 名において血清中 Treg 細胞数はそれぞれ  $51.93 \pm 25.4/\mu\text{l}$ 、 $62.49 \pm 25.79/\mu\text{l}$ 、 $58.89 \pm 19.48/\mu\text{l}$  で有意差はなかった。また各種採血項目と Treg 値の関連について検討を行ったところ、血中の中性脂肪値が高い人ほど Treg 細胞数が有意に高いという相関が見られた。

#### A. 研究目的

油症発生から 40 年以上が経過し、激的な皮膚症状、眼症状を呈する患者は減少傾向にあるが、依然として油症患者血中には高濃度のダイオキシンが残留している状態である。油症の原因であるカネミオイルには Polychlorinated biphenyls (PCB) , Polychlorinated quarterphenyls (PCQ) 及び Polychlorinated dibenzofurans (PCDF) を含む dioxin 類が混在している事がわかっている<sup>1)</sup>。ダイオキシンレセプターとして知られる Aryl hydrocarbon receptor (Ahr) は 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) や PCB などのダイオキシン類のレセプターとして、肺や肝臓をはじめとして幅広く発現が報告され<sup>2)</sup>、T 細胞においては Th17 細胞、Treg 細胞(制御性 T 細胞)に多く発現しているが、Th1 細胞、Th2 細胞にはほとんど発現が見られないことが明らかにされた<sup>3,4)</sup>。我々のグループは油症患者において、Treg 細胞から産生されるサイトカインである CTLA4、IL-10、IL-35 が血清中で上昇していることを示してきた。(しかしながら、これらの

免疫異常があるものの、油症患者の炎症性疾患、アレルギー疾患の罹患率は健常人と同程度である。)

Treg 細胞(制御性 T 細胞)は免疫応答の抑制的制御を司る T 細胞の一種であり、免疫応答機構の過剰な免疫応答を抑制するためのブレーキの役割を果たす。油症患者の免疫機能についてさらに検討を進めるべく、今回我々は、血清中の Treg 細胞に注目し、油症患者における血清 Treg 細胞数や、血清中の各種項目との関連について検討を行った。

#### B. 研究方法

対象：2014 年 7 月に施行された長崎県油症検診五島玉之浦地区受診者のうち、同意を得られた受診者 56 名を対象とした。油症患者中、認定患者 53 名(家族認定 8 名)、未認定患者 3 名)であった。検診時に採血を行い、分離し、血球を取り出した。

Treg 細胞数の測定;分離した血球からフローサイトメトリーを用いて Treg 細胞数を測定した。

各種採血数値との相関;平成25年

度の油症患者データベースを元に同一患者のそれぞれの採血各種項目(血算、生化学)と Treg 細胞数の相関を測定した。

統計的処理:測定した Treg 値の統計的処理に、年齢や性別との関連については Mann-Whitney の U 検定を、各種項目と Treg 細胞数の相関には Spearman の順位相関係数の検定を使用した。

### C. 研究結果

長崎県の油症検診受診者 56 名において、認定患者 45 名、未認定患者 3 名および家族認定 8 名の平均年齢は各々  $67.84 \pm 12.44$  歳、 $73.00 \pm 4.359$  歳および  $63.63 \pm 11.24$  歳で有意差はなかった。それぞれの群における血清中 Treg 細胞数は認定患者(N)  $51.93 \pm 25.4/\mu\text{l}$ 、未認定患者(Mi)  $58.89 \pm 19.48/\mu\text{l}$ 、家族認定(Family)  $62.49 \pm 25.79/\mu\text{l}$ であった(図 1)。性別と Treg 細胞数の相関をみたところ Treg 数は男性で  $57.55 \pm 25.21/\mu\text{l}$ 、女性で  $48.65 \pm 23.72/\mu\text{l}$ であり、やや男性で高値であったが、有意差はなかった(図 2)。年齢と Treg 細胞値の相関は認めなかった(図 3)。中性脂肪値と Treg 細胞数の関係は、中性脂肪値が高い人ほど、Treg 細胞数が高い傾向がみられ、統計上の有意差を認めた( $r=0.2881$ ,  $p=0.0313$ )。(図 4)。総コレステロール値と Treg 細胞数の相関はみられなかった。つづいて赤血球、ヘマトクリット、総蛋白、腎機能(クレアチニン値)、尿酸、HbA1c と Treg 細胞値に関し検討を行ったが相関は認められなかった(図 6-11)。

### D. 考察

ダイオキシンレセプターである Ahr は免疫系において重要な役割を担っている。Ahr が Th17 細胞や Treg 細胞の分化、

Th1/Th2 細胞の分化バランスを調整していることが以下のように報告されている。In vitro で TCDD は Treg と Th17 細胞の分化を促進している<sup>5)</sup>。Ahr はダイオキシンと結合したのち、免疫抑制をおこすことが知られており、とくに Treg や Th17 細胞の分化に重要である<sup>6)7)</sup>。

今回の研究で、油症患者は健常人と比較し、有意ではないものの Treg 細胞数が低値であった。これまでの Treg 細胞由来サイトカインの高値であることから考えると矛盾した結果と言える。その理由として、油症患者に比べ、健常人のサンプル数が少なかったこと、健常人が油症検診を受診した人であり、カネミ油を当時摂取していた可能性のある人である、ことが考えられる。健常人の選定としてカネミ油を摂取していない人を選ぶべきであったと考える。

一方、血清中性脂肪値が高い人ほど Treg 細胞数が有意に高いという結果から、中性脂肪が高い人ほど Ahr を介した Treg 細胞への分化が誘導されている可能性が示された。血清中性脂肪の高値が脂肪肝の発生リスクであることを考慮すると、脂肪肝による肝臓での Ahr の発現上昇や、血清中性脂肪が Ahr による Treg 細胞の分化を直接誘導している可能性がある。

免疫応答は様々な疾患の発症リスクと関連するものであり、今後も油症患者における Treg 細胞や Th17 細胞の働きについてさらなる検討が必要であると考ええる。

### E. 結論

油症患者は現在でもダイオキシン類の血中濃度が高く、様々な症状を有しているのが現状である。油症患者における Treg 細胞に関する更なる検討が、油症患者の QOL 向上、病態解明に繋がるよう役立てていきたい。

### 謝辞

血算、生化学検査結果のデータを提供して頂いた長崎県環境保健研究センターの方々にこの場をかりて御礼申し上げます。

### 参考文献

- 1) Aoki Y: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters --what we have learned from Yusho disease. Environ Res. 86(1): 2-11, 2001
- 2) Dolwick KM, Schmidt JV, Carver LA, Swanson HI, Bradfield CA: Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. Mol Pharmacol. 44(5): 911-917, 1993
- 3) Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T: Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 105(28): 9721-9726, 2008
- 4) Kramer JM, Gaffen SL: Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. J Periodontol. 78(6): 1083-1093, 2007
- 5) Kimura A, Naka T, Nohara K, Fuji-Kuriyama Y and Kishimoto T: Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th 17 cells. Proc. Nati Acad. Sci. USA 105:9721
- 6) Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, et al : Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. Nature 453:106, 2008

- 7) Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Buringham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cell J immunol 185(6):3190-3198, 2010

### F . 研究発表

なし

### G . 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 認定（本人）、未認定、家族患者（認定）Treg細胞数の比較

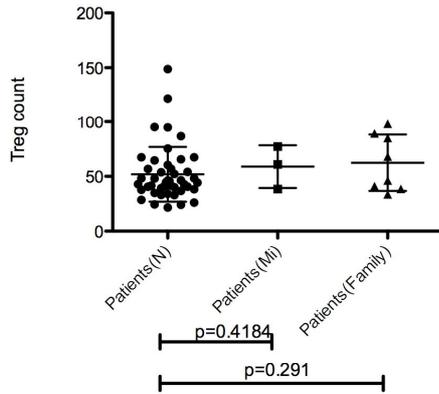


図2 性別とTreg値の相関

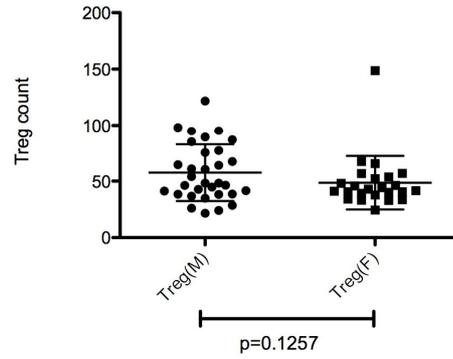


図3 年齢とTreg値の相関

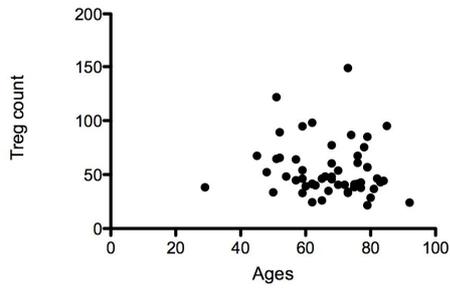


図4 中性脂肪とTreg細胞の関係

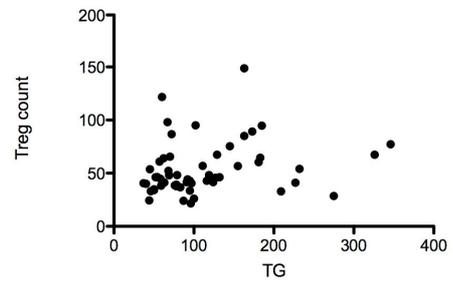


図5 総コレステロール値とTreg細胞の関係

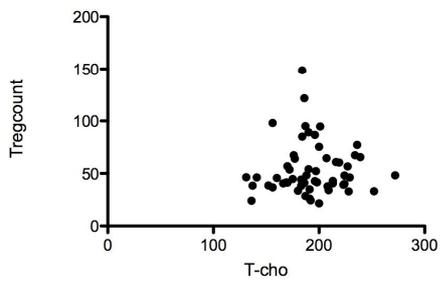


図6 RBCとTreg細胞数の関係

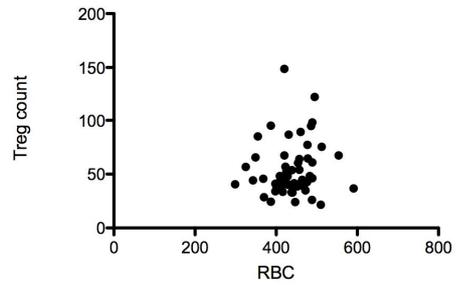


図7 HctとTreg細胞数の関係

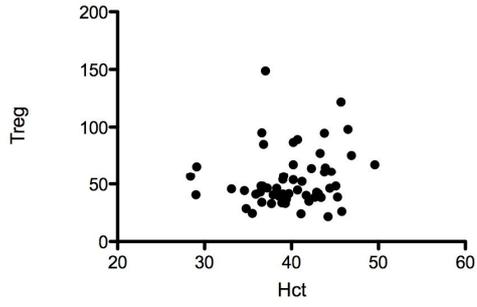


図8 総蛋白とTreg細胞数の関係

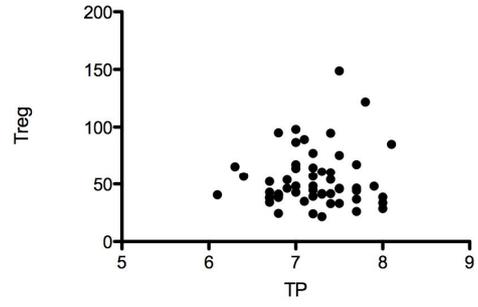


図9 腎機能 (Cre)とTreg細胞数の関係

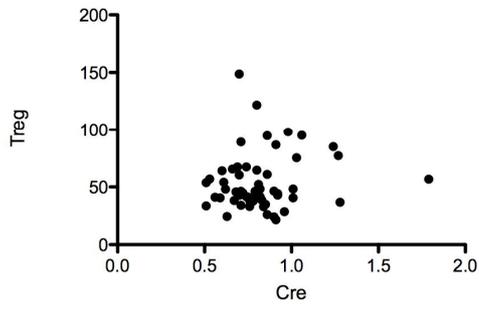


図10 尿酸 (UA)とTreg細胞数の関係

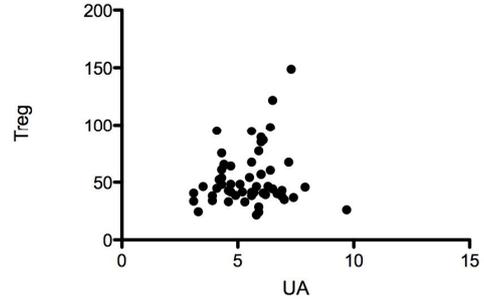


図11 HbA1cとTreg細胞数の関係

