

分担研究報告書

油症における甲状腺機能に関する研究

研究分担者 辻 博 北九州津屋崎病院内科 部長

研究要旨 2015 年度福岡県油症一斉検診を受診した 239 例について甲状腺機能検査を行い、血中 PCB 濃度との関連について検討した。同居家族を含む油症患者において未認定患者に比ベトリヨードサイロニンの有意の低下を認めた。血中 PCB 濃度とトリヨードサイロニンの間に有意の負の相関を認め、血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比ベトリヨードサイロニンの有意の低下を認めた。PCB のトリヨードサイロニンに対する慢性的影響が示唆された。

A. 研究目的

1968 年 4 月頃よりポリ塩化ビフェニル (PCB) 混入ライスオイル摂取により北部九州を中心に発生した油症では、原因油の分析から油症の原因物質としてポリ塩化ジベンゾフラン (PCDF) の毒性影響が大きいと考えられる¹⁾。PCDF は、狭義のダイオキシンであるポリ塩化ジベンゾパラジオキシン (PCDD) およびコプラナー PCB とともにダイオキシン類と総称され、これらの物質の毒性は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (Ah 受容体) を介すると考えられているが、その機構の詳細は未だ不明である²⁾。油症発生以来 40 年以上が経過し種々の症状は軽快しているが、重症例においては体内の PCB 濃度が今なお高く血中 PCB の組成には未だに特徴的なパターンが認められ、慢性中毒に移行していると推定される³⁾。2001 年度より福岡県油症一斉検診においてダイオキシン類の測定が開始され、油症患者では未だに血中 PCDF 濃度が高値であり、PCDF の体内残留が推測される⁴⁾。

近年、PCB、ダイオキシン類が内分泌攪乱物質として正常なホルモン作用を攪乱し、生殖機能の阻害、悪性腫瘍の発生、

免疫機能の低下等を引き起こす可能性が指摘されている。油症患者における甲状腺機能については油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において対照者に比ベトリヨードサイロニンおよびサイロキシンの上昇を認めることが報告されている⁵⁾。さらに、1996 年度福岡県油症一斉検診では血中 PCB 濃度が高値の油症患者において抗サイログロブリン抗体が高頻度に認められた⁶⁾。抗サイログロブリン抗体は慢性甲状腺炎や Graves 病などの自己免疫性甲状腺疾患に高率に出現することより、油症患者では甲状腺機能の経過を注意深く追跡する必要があると考えられた。

今回我々は、2015 年度福岡県油症一斉検診において甲状腺機能検査を行い、PCB の甲状腺機能に対する慢性的影響について検討した。

B. 研究方法

2015 年度福岡県油症一斉検診の受診者 245 例中、甲状腺機能検査に同意が得られた 239 例を対象とした。

甲状腺機能検査として甲状腺刺激ホルモン (TSH)、トリヨードサイロニン (T_3)、サイロキシシン (T_4) および遊離サイロキ

シン (Free T₄) は電気化学発光免疫測定 (Electrochemiluminescence Immunoassay: ECLIA) 法 (エクルーシス試薬 TSH、エクルーシス試薬 T₃、エクルーシス試薬 T₄ II およびエクルーシス試薬 FT₄、ロシユ・ダイアグノスティックス社) によりモジュラーアナリティクス E170 (日立ハイテクノロジーズ社) にて測定した。

PCB の測定は福岡県保健環境研究所、福岡市保健環境研究所、北九州市環境科学研究所および北九州生活科学センターで行なった。血中 PCB 濃度は 2015 年度福岡県油症一斉検診において測定した 239 例の測定値を用い、TSH、T₃、T₄ および Free T₄ との関連について検討した。

結果は平均±標準偏差 (mean±S. D.) で表し、平均値の比較については t 検定を、異常値の出現頻度の比較は χ^2 検定で行なった。

C. 研究結果

2015 年度福岡県油症一斉検診を受診し、甲状腺機能検査に同意が得られた 239 例の内訳は女性 132 例、男性 107 例で、平均年齢は 63.4±14.9 (8-96) 歳であり、油症患者 171 例、油症患者 (同居家族) 25 例、未認定患者 34 例、観察者 2 例、初回受診者 7 例であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.5479$, $P<0.001$) を認めた。

同居家族を含む油症患者 196 例について観察者、初回受診者を含む未認定患者 43 例を対照者として TSH、T₃、T₄ および Free T₄ の異常値の出現頻度について検討した。TSH、T₃、T₄ あるいは Free T₄ のいずれか 1 項目以上の異常値を認めたものは油症患者 34 例 (17.3%)、対照者 12 例 (27.9%) であり、出現頻度に差をみなかった。油症患者において T₄ 値の低下を 19 例 (9.7%) と最も多く認めたが、対照者 2 例 (4.7%) と出現頻度に差をみなかった。TSH 値の上昇は油症患者 12 例

(6.1%)、対照者 6 例 (14.0%) に、低下は油症患者 4 例 (2.0%)、対照者 2 例 (4.7%) に、T₃ 値の上昇は油症患者 2 例 (1.0%)、対照者 3 例 (7.0%) に、低下は油症患者 6 例 (3.1%)、対照者 2 例 (4.7%) に、Free T₄ 値の上昇は油症患者 1 例 (0.5%)、対象者 1 例 (2.3%) に、低下は油症患者 4 例 (2.0%)、対照者 2 例 (4.7%) に認め、いずれも出現頻度に差をみなかった。T₄ 値の上昇は油症患者、対照者ともにみられなかった。

油症患者および対照者の甲状腺機能について検討した (表 1)。T₃ 値は油症患者において 1.09±0.18 ng/ml と対照者 1.20±0.34 ng/ml に比べ有意の低下を認めた ($P<0.05$)。TSH 値、T₄ 値、Free T₄ 値は両群間に差を認めなかった。

2015 年度福岡県油症一斉検診受診者 239 例について血中 PCB 濃度と甲状腺機能の関連について検討した (表 2)。血中 PCB 濃度と T₃ 値 ($r=-0.206$, $P<0.005$) の間に有意の負の相関を認めた。TSH 値 ($r=0.053$)、T₄ 値 ($r=-0.064$)、Free T₄ 値 ($r=-0.108$) との間に相関をみなかった。

血中 PCB 濃度 1.0 ppb 未満の 144 例を PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の 95 例を PCB 高濃度群として、両群間の甲状腺機能について検討を行なった (表 3)。PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は 0.52±0.26 ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は 1.72±0.87 ppb であった。T₃ 値は PCB 高濃度群において 1.06±0.16 ng/ml と PCB 低濃度群 1.15±0.25 ng/ml に比べ有意の低下を認めた ($P<0.001$)。TSH 値、T₄ 値、Free T₄ 値は両群間に差をみなかった。

D. 考察

甲状腺機能と PCB の関連について、PCB を投与した実験動物に甲状腺機能低下や甲状腺腫がみられることが報告されてい

る。PCB (Aroclor 1254) を投与したラットに $^{125}\text{I-T}_4$ を投与すると対照に比べ血中 $^{125}\text{I-T}_4$ 値が速やかに低下し、胆汁中に主としてグルクロン酸抱合を受けた $^{125}\text{I-T}_4$ の排泄が増加することが報告されている⁷⁾。そして、PCB 投与による血中 T_4 値の低下は下垂体の TSH 分泌を促進し、血中 TSH 値の上昇により甲状腺重量の増加が認められることが報告されている⁸⁾。さらに、PCB を投与したラットや marmoset monkey において甲状腺ろ胞細胞の腫大、過形成、甲状腺ろ胞の縮小などの組織学的変化が報告されており⁹⁾¹⁰⁾、血中 TSH 値の上昇によるものと考えられる。しかし、PCB の投与による甲状腺機能低下や甲状腺の組織学的変化は可逆的なものであり、投与中止により改善することが報告されている⁹⁾。PCB 投与による甲状腺の機能低下および組織学的変化は、PCB の投与中止により改善する急性あるいは亜急性中毒症状と考えられる。また、PCB による甲状腺機能低下の機序として PCB や PCDF の水酸化体と T_4 との構造類似性による T_4 結合蛋白質への結合が阻害されることが報告されている¹¹⁾。

油症患者における甲状腺機能に対する慢性的影響について、油症発生 16 年後の 1984 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 124 例と対照者 43 例を比較し油症患者に T_3 値および T_4 値の有意の上昇を認めることが報告されている⁵⁾。そして、油症発生 28 年後の 1996 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 81 例を対象に甲状腺機能を検討し、TSH 値の低下を 2 例 (2.5%) に、上昇を 7 例 (8.6%) に、 T_3 値の低下を 1 例 (1.2%) に、 T_4 値の低下を 1 例 (1.2%) に、上昇を 1 例 (1.2%) に認めた⁶⁾。血中 PCB 濃度が 3.0 ppb 未満の油症患者 40 例と 3.0 ppb 以上の 41 例の甲状腺機能異常および甲状腺自己抗体の出現頻度を比較し TSH 値、 T_3 値および T_4 値には差をみなかったが、血中 PCB

濃度が 3.0 ppb 以上の油症患者に有意に高頻度の抗サイログロブリン抗体の出現を認めた。抗サイログロブリン抗体陽性者の血中 TSH 値は陰性者に比べ高く、血中 TSH 値の上昇を認める抗サイログロブリン抗体陽性者では原発性甲状腺機能低下症に陥る頻度が高いとの報告がみられる^{12) 13)}。血中 PCB 高濃度の油症患者において抗サイログロブリン抗体を有意に高頻度に認めることより、甲状腺機能の経過を注意深く追跡する必要があると考えられた。そして、油症発生 34 年後の 2002 年度福岡県油症一斉検診において油症患者 115 例を対象に甲状腺機能検査所見を検討し、TSH 値、 T_3 値あるいは T_4 値のいずれか 1 項目以上の異常を認めたものは 20 例 (17.4%) であり、TSH 値の低下を 6 例 (5.2%) に、上昇を 13 例 (11.3%) と最も多く認め、 T_4 値の上昇を 1 例 (0.9%) に認めた。TSH 値の上昇を認めた 13 例では、全例 T_3 値および T_4 値は正常であり潜在性の甲状腺機能低下状態と考えられた。

今回の甲状腺機能の検討では 2015 年度福岡県油症一斉検診受診者 239 例において同居家族を含む油症患者において未認定患者に比べ T_3 の有意の低下を認めた。そして、血中 PCB 濃度と T_3 値の間に有意の負の相関を認め、血中 PCB 濃度 1.0 ppb 以上の高濃度群では 1.0 ppb 未満の低濃度群に比べ T_3 値の有意の低下を認めた。PCB の T_3 に対する慢性的影響が示唆された。PCB の T_3 に対する慢性的影響については、2011 年度福岡県油症一斉検診を受診した 190 例について甲状腺機能検査を行い、血中 PCB 濃度と T_3 の間に有意の負の相関を認め、血中 PCB 高濃度群において低濃度群に比べ T_3 、 T_4 、Free T_4 の有意の低下を認め、同様の結果であった。しかし、 T_3 値の基準値未満の低下は対照者 43 例中 2 例 (4.7%) に対し油症患者 196 例中 6 例 (3.1%) と出現頻度に差をみな

かった。血中 PCB 濃度が高値の油症患者に認められる T_3 値の低下は潜在性のものと考えられる。

今回の甲状腺機能の検討において PCB の T_3 に対する慢性的影響が示唆され、血中 PCB 濃度が高値の油症患者では T_3 が潜在性に低下していると考えられる。PCB の T_3 に対する慢性的影響の機序は不明であるが、油症の原因物質として毒性影響が大きいと考えられる PCDF の影響について検討が必要と思われる。

E. 結論

油症発生以来 40 年以上が経過しているが、2015 年度福岡県油症一斉検診受診者 239 例の甲状腺機能の検討において PCB のトリヨードサイロニンに対する慢性的影響が考えられた。しかし、油症患者におけるトリヨードサイロニンの低下は潜在性なものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

辻 博:油症における抗 SS-A/Ro 抗体および抗 SS-B/La 抗体の検討. 福岡医誌 106 : 119-123, 2015.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

- Masuda Y, Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in patients with Yusho and their toxicological significance : A review. *Amer J Ind Med* 5 : 31-44, 1984.
- Gonzalez FJ, Liu SY, Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : molecular mechanism . *Pharmacogenetics* 3 : 51-57, 1993.
- 増田義人, 山口早苗, 黒木広明, 原口浩一:最近の油症患者血液中のポリ塩化ビフェニール異性体. *福岡医学雑誌* 76 : 150-152, 1985.
- 飯田隆男, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和大, 松枝隆彦, 堀就英, 中川礼子, 古江増隆:油症患者血中ダイオキシン類レベルの追跡調査 (2001 年). *福岡医学雑誌* 94 : 126-135, 2003.
- 村井宏一郎, 辻 博, 梶原英二, 赤木公博, 藤島正敏:油症患者の甲状腺機能. *福岡医誌* 76 : 233-238, 1985.
- 辻 博, 佐藤薫, 下野淳哉, 東晃一, 橋口衛, 藤島正敏:油症患者における甲状腺機能:油症発生 28 年後の検討. *福岡医学雑誌* 88 : 231-235, 1997.
- Bastomsky CH : Effects of a polychlorinated biphenyl mixture (Aroclor 1254) and DDT on biliary thyroxine excretion in rats . *Endocrinology* 95:1150-1155, 1974.
- Bastomsky CH : Goitres in rats fed polychlorinated biphenyls. *Can J Physiol Pharmacol* 55 : 288-292, 1977.
- Collins WT Jr, Capen CC, Kasza L, Carter C, Dailey RE : Effect of polychlorinated biphenyl (PCB) on the thyroid gland of rats . Ultrastructural and biochemical investigations. *Am J Pathol* 89 : 119-136, 1977.
- Van den Berg KJ, Zurcher C, Brouwer A : Effects of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl on thyroid function and histology in marmoset monkeys. *Toxicol Lett* 41 : 77-86, 1988.
- Brouwer A : Inhibition of thyroid hormone transport in plasma of rats by polychlorinated biphenyls. *Arch Toxicol Suppl* 13 : 440-445, 1989.
- Gordin A, Heinonen OP, Saarinen P,

- Lamberg BA : Serum-thyrotrophin in symptomless autoimmune thyroiditis. Lancet 1 : 551-554, 1972.
13. Tunbridge WMG, Brewis M, French JM, Appleton D, Bird T, Clark F, Evered DC, Evans JG, Hall R, Smith P, Stephenson J, Young E : Natural history of autoimmune thyroiditis. Br Med J 282 : 258-262, 1981.

表 1 油症患者および対照における甲状腺機能

No.		Yusho	Controls
		196	43
TSH	(μ IU/ml)	2.53 \pm 1.73	7.32 \pm 31.28
T ₃	(ng/ml)	1.09 \pm 0.18 ^a	1.20 \pm 0.34
T ₄	(μ g/dl)	7.72 \pm 1.28	7.95 \pm 1.54
Free T ₄	(ng/dl)	1.21 \pm 0.16	1.21 \pm 0.25

^aP<0.05 vs. Controls.

表 2 血中 PCB 濃度と甲状腺機能の関連

	r
TSH	0.053
T ₃	-0.206 ^b
T ₄	-0.064
Free T ₄	-0.108

^bP<0.005.

表 3 血中 PCB 低濃度群および PCB 高濃度群における甲状腺機能

No. (%)		PCB 濃度	
		< 1.0 ppb	\geq 1.0 ppb
		144	95
TSH	(μ IU/ml)	2.47 \pm 1.91	4.79 \pm 21.05
T ₃	(ng/ml)	1.16 \pm 0.25	1.06 \pm 0.16 ^c
T ₄	(μ g/dl)	7.86 \pm 1.37	7.62 \pm 1.26
Free T ₄	(ng/dl)	1.22 \pm 0.19	1.19 \pm 0.18

^cP<0.001 vs. blood PCB concentration < 1.0 ppb.

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 大久保佑美 九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター 助教
清原龍士 長崎大学病院皮膚科・アレルギー科 医員

研究要旨 我々は、長崎県油症検診受診者（認定患者（N=53）、未認定患者（N=14））におけるリンパ球サブセットの割合の変化を解析した。今回、油症認定患者は未認定患者より、CD3, 4, 8 陽性細胞、Treg 細胞の相対割合(%)が低く、一方NK 細胞の相対割合(%)が高値であることを初めて明らかにした。このうち統計上有意なものは、CD3,8 陽性細胞の低下、NK 細胞の上昇であった。また、血中ダイオキシンとTreg 値の関連について検討を行ったところ、PCQ 値とTreg 細胞数に有意な相関が見られた。ダイオキシンが患者免疫機能へ影響を及ぼしていることが示唆された。

A. 研究目的

油症発生から 45 年以上が経過し、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¹⁾。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²⁾、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^{3,4)}。Treg 細胞は免疫応答の抑制的制御を司る T 細胞の一種である。

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た。油症患者の免疫機能についてさらなる検討を進めるべく、去年症例数が不足していた未認定患者血清サンプル数を増やし、油症患者におけるリンパ球サブセットの検討と、血清中のダイオキシン濃度とTreg 細胞数との関連について解析を行った。

B. 研究方法

①対象：平成 26 年、平成 27 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 67 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 14 名であった。検診時に採血を行い、血球を分離した。

②リンパ球サブセットの内 CD3 陽性 T 細胞、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、NK 細胞、Treg 細胞に対するフローサイトメトリー用抗体キット (BD Simultest™, BD Bioscience) を用いて CD4+T 細胞 (CD4+)、CD8+T 細胞 (CD8+)、NK 細胞 (CD16+CD56+)、Treg 細胞 (CD4+CD25+) を測定し% で表し

た。

③Treg 細胞と各種ダイオキシン濃度との相関: ②で算出したTreg 細胞サブセットと同一患者のダイオキシン濃度との相関を測定した。

④統計処理: 測定したリンパ球サブセットにおける認定・未認定群での比較は Mann-Whitney の U 検定を、ダイオキシン濃度と Treg 細胞数は 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 67 名において、認定患者 53 名、未認定患者 14 名の平均年齢は各々 67.2 ± 12.1 歳、70.6 ± 10.3 歳で有意差はなかった。それぞれの群における血中の細胞の未認定患者、認定患者の比較を図1に示す。

- 1) CD4 陽性 T 細胞(47.41 ± 8.89%, 43.3 ± 7.77%, $p=0.076$)、
- 2) CD8 陽性 T 細胞(18.4 ± 6.91%, 14.4 ± 5.26%, $p=0.0115$)、
- 3) NK 細胞 (16.6 ± 7.75, 21.8 ± 9.35%, $p=0.0322$)、であった。
- 4) Treg 細胞 (7.91 ± 3.36%, 7.16 ± 2.38%, $p=0.173$)、

また CD3 陽性 T 細胞は、未認定患者、認定患者で、それぞれ、67.6 ± 7.3%, 60.4 ± 10.4, $p=0.00843$ であった。

油症患者では CD3、CD8 陽性 T 細胞が有意に低かった。CD4 陽性 T 細胞と Treg 細胞が低い有意差は見られなかった。認定患者で NK 細胞が有意差をもって高かった。

また認定患者における Treg 細胞と各種ダイオキシン濃度との spearman 順位相関係数をみたところ、PCQ では $r=-0.4474$, $p=0.0116$ となり、PCDF では $r=-0.3012$, $p=0.1731$ となった。PCQ のみにおいて有意な逆相関を認めた (図 2)。

D. 考察

今回、油症認定患者は未認定患者より、CD3, 4, 8 陽性細胞、Treg 細胞の相対割合 (%) が低く、一方 NK 細胞の相対割合 (%) が高値であることを初めて明らかにした。このうち統計上有意差を示したのは、CD3,8 陽性細胞の低下、NK 細胞の上昇であった。

ダイオキシンは受容体である Ahr に結合し、Treg 細胞、Th17 細胞、Th1/Th2 細胞の分化増殖を調整しているとされる^{3,5,6)}。

我々は油症認定患者では CTLA4、IL-10、IL-35 が血清中で上昇していると報告している。それらのデータから、Treg 細胞の増加を想定していたが、今回の研究では細胞の割合に有意差は見られなかった。

CD4 陽性 T 細胞は種々のサイトカイン刺激を受け Th1、Th2、Th17、そして Treg 細胞へと分化する。Treg 細胞への分化には Foxp3 を活性化する TGF β 刺激が関与するとされる。しかし、TGF β と IL-6 の存在下では Th17 への分化が促進され、Treg への分化は抑制されるとの報告がある。今回の結果は、今回の結果に加えて Th17 細胞を含めた解析を行うことが今後必要であることを示した。

NK に関してはダイオキシンとの関連の詳しい解析はこれまでされておらず、油症患者の免疫応答における病態解明には本研究を更に発展させる必要性があると考えた。

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。油症患者における免疫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、ダイオキシン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皆様、フローサイトメトリー解析にご協力頂いた柳原克紀教授をはじめ長崎大学病院検査部の皆様にこの場をお借りし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) 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
- 6) 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 *immurol* 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. 認定患者と未認定者におけるリンパ球サブセット

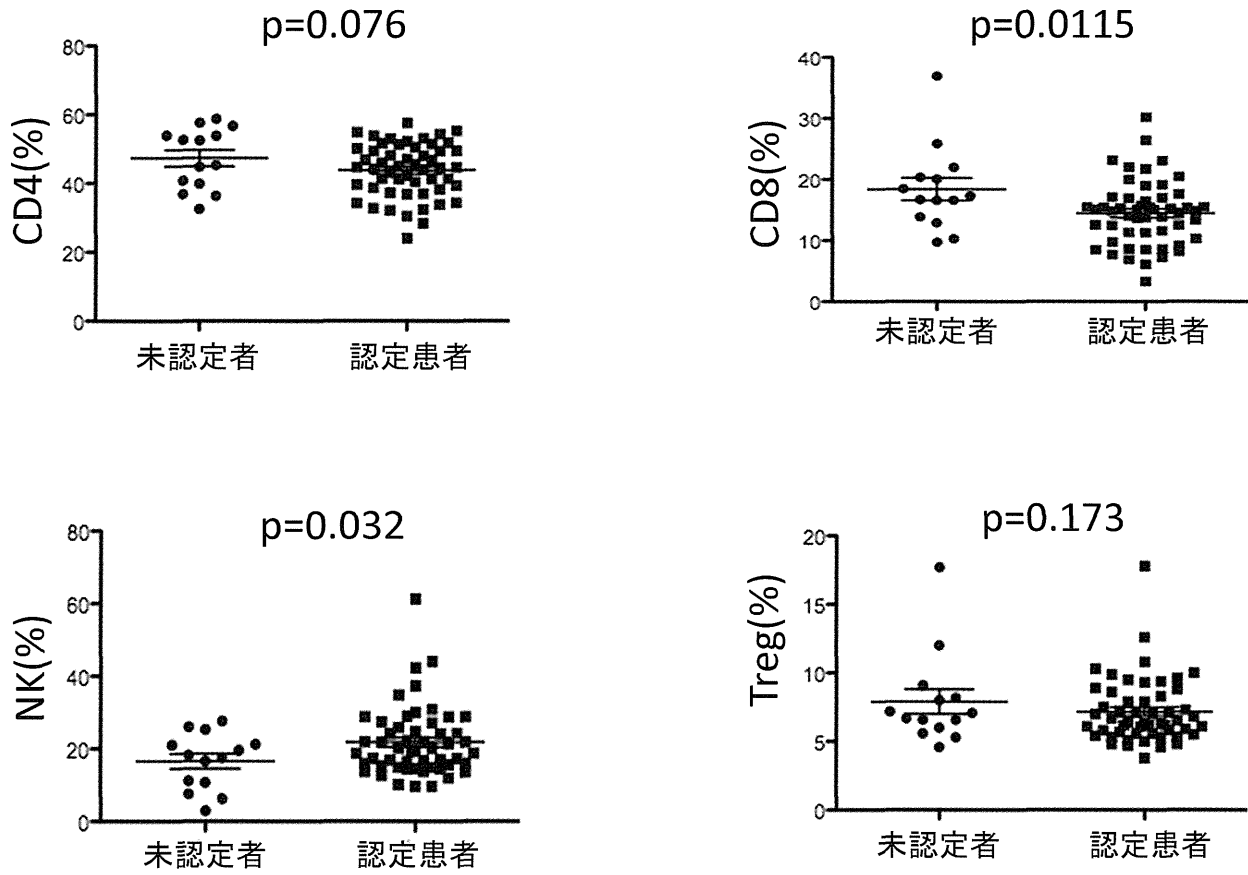
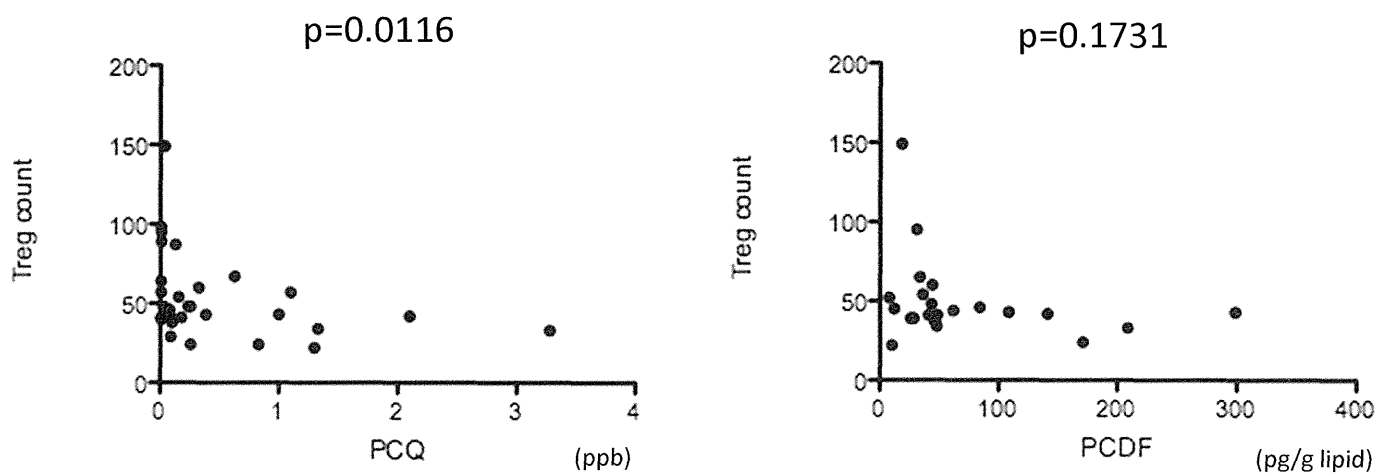


図2. 認定患者における各種ダイオキシン濃度とTreg細胞数の相関
(個/ μ l)



分担研究報告書

油症認定患者における soluble CD27 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 富村沙織 長崎大学病院皮膚科・アレルギー科 講師

研究要旨 以前の検討にて、制御性 T 細胞 (Treg 細胞) より分泌される血清 IL-10 値が健常人と比べ高い傾向にあり、血清 IL-35 値が優位に高値であることを確認した。これらのサイトカインは Treg 細胞を活性化、あるいは維持するサイトカインであり、油症認定患者では Treg 細胞が活性化している可能性がある。今回、Treg 細胞で発現している血清 CD27 について、正常人との比較を行った。その結果、血清中 CD27 値は油症患者で 12023 ± 1154 pg/ml、健常人で 16020 ± 5066 pg/ml であり、2 群間に有意な差はなかった。

A. 研究目的

1968 年カネミ油症事件発生後 40 年以上経過し、初期に認められた激しい症状は消退傾向にあるが、現在でも瘡瘡様皮疹などの皮膚症状、咳嗽や喀痰過多などの呼吸器症状、しびれや頭重などの神経症状、全身倦怠感などの全身症状など多彩な症状が残存している。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¹⁾。しかし、これらのダイオキシン類は自己代謝が進まず、また代謝経路が不明であることから治療薬の開発が遅れ、油症患者では依然として高濃度のダイオキシン類が検出されている。

以前の検討で油症患者血清サイトカインの検討を行い、IL-33 や IL-35 といったサイトカインが長崎地区油症認定患者で有意に上昇していることを見出した²⁾。これらのサイトカインは制御性 T 細胞を活性化あるいは維持するサイトカインであり、油症認定

患者では制御性 T 細胞が活性化している可能性がある。CD27 は制御性 T 細胞で発現しており、CD70 とともに胸腺における制御性 T 細胞の positive selection に関与している。別の報告では TCDD 曝露下での soluble CD27 の検討がなされており³⁾、油症患者でも sCD27 が変動している可能性がある。以上から、今回我々は血清中の sCD27 を測定し、正常人との比較検討を行った。

B. 研究方法

①対象:2005 年から 2008 年に施行された長崎県油症検診受診者のうち、同意を得られかつ PCB, PCQ, PCDF の測定を行った油症認定患者 27 名および年齢を合わせた健常人 27 名を対象とした。検診時に採血を行い凍結保存し sCD27 測定用サンプルとした

②sCD27 の測定;ヒト CD27/TNFRSF7 ELISA キット (R&D 社製) を用いてサンプル血清中の sCD27 を測定した。

③検査値との相関;油症患者データベースを元に血清採取時の PCB, PCQ, PCDF と sCD27 値との相関を検討した。

④統計的処理:測定した sCD27 値の統計的処理に Mann-Whitney の U 検定、Spearman の順位相関係数の検定を使用した。

(倫理面への配慮)

データの解析は個人情報特定されないよう、連結不可能な匿名化データとして解析を行った。

C. 研究結果

検討した油症患者におけるダイオキシン濃度は PCB 2.89 ± 1.21 ppb、PCQ 0.39 ± 0.43 ppb、PCDF 277.6 ± 150.6 pg/g lipids であった。油症患者血清を用いて、sCD27 の検討を行った。長崎県の油症患者 29 名、および健常人 28 名の平均年齢は各々 71.7 ± 6.36 歳および 71.4 ± 6.28 歳で有意差はなかった。血清中 sCD27 値はそれぞれ油症患者で 12023 ± 1154 pg/ml、健常人で 16020 ± 5066 pg/ml であり、2 群間に有意な差は見られなかった(p=0.453)(図 1)。つづいて、油症認定患者血清中の sCD27 値と PCB、PCQ、PCDF 値に関し検討を行ったが相関は認められなかった。

D. 考察

CD27 は、腫瘍壊死因子レセプター遺伝子ファミリーに属し、末梢 T 細胞、活性化 B 細胞、形質細胞の一部、NK 細胞に発現している。CD27 は制御性 T 細胞でも発現しており、CD70 とともに胸腺における制御性 T 細胞の positive selection に深く関わっている。さらに、sCD27 は Hodgkin lymphoma を代表とするリンパ腫のマーカーと成り得る可能性が報告されている⁴⁾。別の報告では TCDD 曝露下での sCD27 の検討がなされており、油症患者でも sCD27 が変動している可能性がある。だが、今回の検討では、油症認定患者と健常人の血清中 sCD27 値は有意

差を認めなかった。本年度、我々は油症認定患者及び健常人について、末梢血の制御性 T 細胞数についても検討を行ったところ、両者に有意な差は認めなかった。この結果は、制御性 T 細胞に発現している血清中 sCD27 値が両者で有意差がないという検討結果に合致するものである。しかし、以前の検討において、IL-35 や IL-10 といった制御性 T 細胞関連サイトカインが有意に上昇もしくは高い傾向を示しており、制御性 T 細胞の数自体には変化がなくとも、その活性において油症認定患者と健常人では差がある可能性は否定できない。

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。残念ながら、今回の検討では有意な結果が得られなかったが、今後も更なる検討で油症患者におけるサイトカイン動態等の解明を行い、油症患者の QOL 向上に繋がるよう役立てていきたい。

謝辞

PCB、PCQ、PCDF 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ならびに福岡県保健環境研究所の方々はこの場をかりて御礼申し上げます。

E. 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. Kuwatsuka Y, Shimizu K, Akiyama Y, Koike Y, Ogawa F, Furue M, Utani A: Yusho patients show increased serum IL-17, IL-23, IL-1beta, and TNF alpha levels more than 40 years after

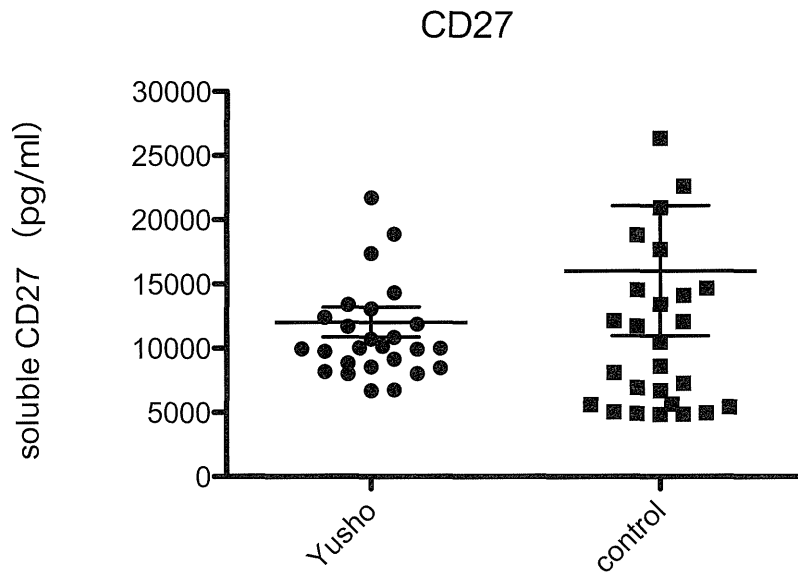
- accidental polychlorinated biphenyl poisoning. *J Immunotoxicol*, 11(3): 246-249, 2014.
3. Saberi Hosnijeh F, Portengen L, Bueno-de-Mesquita HB, Heederik D, Vermeulen R.: Circulating soluble CD27 and CD30 in workers exposed to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 22(12): 2420-2424, 2013.
 4. Dong HY, Shahafaei A, Dorfman DM: CD148 and CD27 are expressed in B cell lymphomas derived from oth memory and naïve B cells. *Leuk Lymphoma*, 43(9): 1855-1858, 2002.

F. 研究発表

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 油症認定患者、健常人血清におけるsCD27値の比較



分担研究報告書

油症患者における骨密度の解析

研究分担者 岩本幸英 九州大学大学院医学研究院整形外科学分野 教授
 研究協力者 福士純一 九州大学病院整形外科 助教

研究要旨 2010 年度全国油症一斉検診の受診者において骨密度を測定し、ダイオキシン類濃度との関連について検討した。末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度との関連を男女別に解析すると、居住地および body mass index で調整した場合、女性において 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD と骨密度 (Z スコア) との間に負の関連を認めた。男性においては、ダイオキシン類濃度と骨密度の間に明らかな関連を認めなかった。

A. 研究目的

ダイオキシン類が骨代謝に及ぼす影響については不明な点が多い。骨密度とダイオキシン類濃度との関連について評価検討することが本研究の目的である。

B. 研究方法

2010 年度の油症一斉検診参加者 (543 名) および九州大学での検診受診者 (14 名) のうち、油症発生前に出生の 489 名を対象とした。検診においては、骨粗鬆症の治療歴の有無を、油症相談員より聴取、もしくは問診票を用いて確認した。

骨密度は非利き腕の橈骨遠位端を二重 X 線吸収法 (DXA 法) にて測定した。機材は ALOKA DCS-600EX (福岡県、大阪府、高知県、173 名)、東洋メディック Discovery Wi (広島県、島根県、20 名)、DTX-200 (長崎県、191 名)、ホロジック Delphi A (埼玉県、12

名) を用いた。若年成人 (20-44 才) の平均骨密度 (YAM) に対する評価として T スコアを、同一年齢の平均骨密度に対する評価として Z スコアを用いた。

ダイオキシン類濃度については、2010 年の一斉検診にて測定された結果を用いて多重直線回帰による解析を行った。居住地および body mass index (BMI) で調整し、末梢血ダイオキシン類濃度と骨密度 Z スコアとの関連を検討した。検出限界未満の測定値は検出限界の 1/2 を代入した。対象者の過半数が検出限界未満の異性体は解析を行わなかった。両側 $p < 0.05$ をもって統計学的に有意と判定した。

(倫理面への配慮)

データ解析は、匿名化された結果を用いて行われ、個人情報保護の観点から、個人情報の保護について十分な配慮がなされた。

C. 研究結果

解析対象者は男性 227 名、女性 262 名で、平均年齢は男性 66.9 才、女性 66.3 才、平均 BMI は男性 23.8、女性 23.1 であった。骨密度測定およびダイオキシン類濃度測定がなされたのは、男性 170 名、女性 213 名であった (表 1)。未認定者は男性 69 名、女性 101 名で、認定者と未認定者の間で、骨密度に有意な差はなかった。

骨密度とダイオキシン類濃度との関連を検討した結果を、表 2 に示す。居住地および BMI にて調整すると、男性においては有意な関連を認めなかった。女性においては、骨粗鬆症の治療歴の有無に関わらず、Z スコアと 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD に有意な負の関連を認めた (図 1)。

D. 考察

ダイオキシン類が骨代謝におよぼす影響については、一定の見解が得られていない。グリーンランドのイヌイットにおける調査では、PCB-153 と骨密度とが負の関連を示すものの、性別や体重、治療の既往などを考慮した多重直線回帰モデルによる解析を行うと統計学的に有意な関連がなかったと報告されている (Cote, 2006)。また PCB 汚染を受けたスウェーデン住人 325 名の検討では、ダイオキシン様異性体 CB-118 と骨密度との間に男性では負の、女性では正の関連があったとの報告もある (Hodgson, 2008)。Seveso での TCDD 曝露の疫学研究では、骨密度と TCDD 濃度との間に有意な負の関

連がなかったと報告されている (Eskenazi, 2014)。

今回の検討では、居住地域と BMI を用いて調整したところ、女性において一つの異性体 (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD) と Z スコアの間に、有意な負の関連を認めた。男性においては Z スコアと有意に関連する異性体を認めなかった。しかしながら、女性で有意差を認めた異性体は、対照群と油症患者との間で平均血中濃度に違いがないことが報告されている (Todaka, 2009)。またこの異性体の TEF は 0.01 と低値であり、結果の解釈は慎重に行う必要がある。今後は実際の骨折発生率の調査を行うことで、油症が骨代謝に及ぼす影響を検討する予定である。

E. 結論

女性においてダイオキシン類異性体 (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD) と骨密度 Z スコアの間に、負の関連を認めた。

F. 研究発表

論文発表

Fukushi J, Tokunaga S, Nakashima Y, Motomura G, Mitoma C, Uchi H, Furue M, Iwamoto Y.

Effects of dioxin-related compounds on bone mineral density in patients affected by the Yusho incident. *Chemosphere*, 145(2016):25-33, 2016

福士純一, 岩本幸英

油症検診における骨密度の解析

福岡医誌, 106(5):135-138, 2015

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

Cote S, et al. 2006. Plasma organochlorine concentrations and bone ultrasound measurements: a cross-sectional study in peri- and postmenopausal Inuit women from Greenland. *Environ Health* 5: 33.

Hodgeson S, et al. 2008. Bone mineral density changes in relation to environmental PCB exposure. *Environ Health Perspect* 116:1162-6.

Eskenazi B, et al. 2014. Serum dioxin concentrations and bone density and structure in the seveso women's health study. *Environ Health Perspect* 122:51-57.

Todaka T, et al. 2009. Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood of Yusho patients over 35 years after the incident. *Chemosphere* 74:902-909.

表 1. 検診受診者の内訳 (人数(%))

	女性(骨粗鬆 症治療あり)	女性(骨粗鬆 症治療なし)	全女性	男性
合計	40 (15.3)	222 (84.7)	262 (100.0)	227 (100.0)
認定/未認定				
認定	26 (65.0)	135 (60.8)	161 (61.5)	158 (69.6)
未認定	14 (35.0)	87 (39.2)	101 (38.5)	69 (30.4)
年齢				
40-49	1 (2.5)	22 (9.9)	23 (8.8)	20 (8.8)
50-59	1 (2.5)	61 (27.5)	62 (23.7)	45 (19.8)
60-69	8 (20.0)	53 (23.9)	61 (23.3)	57 (25.1)
70-79	21 (52.5)	59 (26.6)	80 (30.5)	71 (31.3)
80+	9 (22.5)	27 (12.2)	36 (13.7)	34 (15.0)
検診受診地				
神奈川	1 (2.5)	7 (3.2)	8 (3.1)	4 (1.8)
愛知	0 (0.0)	8 (3.6)	8 (3.1)	5 (2.2)
大阪	1 (2.5)	13 (5.9)	14 (5.3)	7 (3.1)
鳥取	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.4)	1 (0.4)
広島	0 (0.0)	15 (6.8)	15 (5.7)	52 (22.9)
山口	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
高知	1 (2.5)	4 (1.8)	5 (1.9)	6 (2.6)
福岡	11 (27.5)	83 (37.4)	94 (35.9)	62 (27.3)
長崎	26 (65.0)	91 (41.0)	117 (44.7)	90 (39.6)

表 2: Zスコアと血中ダイオキシン類濃度の関連 (BMI と居住地で調整)

log10 congeners (pg/g lipid)	Regression Coefficient (b)				
	b	SE of b	Lower 95%	upper 95%	P
女性 (骨粗鬆症治療なし)					
2,3,7,8-TCDD	0.24653	0.33616	-0.41813	0.91119	0.46
1,2,3,7,8-PeCDD	0.02223	0.53760	-1.04069	1.08516	0.97
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.58707	0.30964	-1.19927	0.02514	0.06
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.56041	0.43385	-1.41822	0.29739	0.20
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.54909	0.34099	-1.22329	0.12510	0.11
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-1.12887	0.47813	-2.07421	-0.18353	0.020
OCDD	-0.79860	0.53714	-1.86062	0.26341	0.14
2,3,7,8-TCDF	0.11592	0.24604	-0.37054	0.60239	0.64
2,3,4,7,8-PeCDF	0.09430	0.21180	-0.32446	0.51306	0.66
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.11143	0.19789	-0.27983	0.50269	0.57
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.01455	0.30085	-0.58028	0.60938	0.96
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.38683	0.41882	-0.44124	1.21491	0.36
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.45001	0.36113	-0.26401	1.16403	0.21
全女性					
	b	SE of b	Lower 95%	upper 95%	P
2,3,7,8-TCDD	0.22263	0.31900	-0.40694	0.85221	0.49
1,2,3,7,8-PeCDD	0.07541	0.49326	-0.89809	1.04890	0.88
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.53532	0.28524	-1.09828	0.02763	0.06
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.37711	0.38684	-1.14059	0.38637	0.33
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.40665	0.29880	-0.99637	0.18306	0.18
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-1.12340	0.43123	-1.97447	-0.27232	0.010
OCDD	-0.84142	0.47162	-1.77221	0.08937	0.08
2,3,7,8-TCDF	0.25757	0.22211	-0.18079	0.69592	0.25
2,3,4,7,8-PeCDF	0.14123	0.19064	-0.23502	0.51749	0.46
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.17752	0.17555	-0.16896	0.52399	0.31
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.10889	0.26862	-0.42126	0.63905	0.69
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.28089	0.38223	-0.47348	1.03526	0.46
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.42723	0.32784	-0.21980	1.07427	0.19
男性					
	b	SE of b	Lower 95%	upper 95%	P
2,3,7,8-TCDD	0.47093	0.36096	-0.24363	1.18548	0.19
1,2,3,7,8-PeCDD	0.53667	0.60099	-0.65304	1.72639	0.37
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.52476	0.35524	-0.17847	1.22799	0.14
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.15720	0.52915	-1.20471	0.89031	0.77
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.43843	0.37051	-0.29503	1.17188	0.24
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.85215	0.60784	-0.35113	2.05542	0.16
OCDD	0.72309	0.59036	-0.44559	1.89177	0.22
2,3,7,8-TCDF	0.52171	0.28285	-0.03821	1.08163	0.07
2,3,4,7,8-PeCDF	0.04679	0.30075	-0.54859	0.64216	0.88
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.04660	0.25876	-0.46563	0.55883	0.86
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.14234	0.33223	-0.51534	0.80002	0.67
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	0.66539	0.38260	-0.09200	1.42278	0.08
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	0.36678	0.45059	-0.52521	1.25877	0.42