

分担研究報告書

長崎県油症認定患者におけるIL-12とIFN- γ の検討

研究分担者 平成28年4月～11月
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
研究分担者 平成28年11月～平成29年3月
竹中 基 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚病態学 准教授
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

研究要旨 昨年の検討において、認定患者ではNK細胞の相対割合(%)が健常人と比較して高値であることを確認した。今回我々は、本結果の原因を探る目的でNK細胞数に影響を与えるサイトカインIL-12と、NK細胞の産生するIFN- γ について解析し、認定患者(N=31)と健常人(N=31)で比較を行った。その結果、IL-12に有意差はないものの増加傾向を認め、IFN- γ は油症患者で有意に低値であった($p=0.0056$)。これらの値とダイオキシン濃度との間に相関は認めなかったが、AhRを介した患者免疫応答への影響も示唆された。

A. 研究目的

油症発生から48年が経過し、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。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となっている^[3]。

昨年我々は、油症患者の免疫機能について更なる検討を進めるべく、リンパ球サブセットの解析を行った。その結果、

NK細胞の相対割合が健常人と比較して高値であることを確認した。NK細胞は感染防御に重要な役割を果たす免疫細胞の一つである。NK細胞はIL-12やIL-15、IL-18といった炎症性サイトカインの刺激に加え、感染細胞や腫瘍細胞に提示されたリガンドが直接NK細胞受容体に結合することによって活性化される。その反応として、NK細胞は炎症性サイトカイン、主にIFN- γ を産生し、殺細胞性を発揮する^[4]。

本年は油症患者におけるNK細胞数高値の原因を探るべく、NK細胞数に影響を与えるサイトカインIL-12と、NK細胞が産生するIFN- γ について解析を行った。

B. 研究方法

対象：2005年から2009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31名および年齢を合わせた健常人31名を対象とし

た。検診時に採血を行い、凍結保存しIL-12とIFN- γ 測定用サンプルとした。

IL-12の測定:ヒトIL-12ELISAキット (R&D社製)を用いてサンプル血清中のIL-12を測定した。

IFN- γ の測定:ヒトIFN- γ ELISAキット (R&D社製)を用いてサンプル血清中のIFN- γ を測定した。

IL-12, IFN- γ と各種ダイオキシン濃度との相関: 油症患者データベースを元に、 r で算出した値と同一患者の血清採取時のPCB、PCQ、PCDF濃度との相関を検討した。

統計処理:油症認定患者と健常人におけるIL-12値とIFN- γ 値の比較にはMann-WhitneyのU検定を、油症認定患者におけるダイオキシン濃度とIL-12値またはIFN- γ 値の相関にはSpearmanの順位相関係数の検定を用いた。 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

(倫理面への配慮)

本研究は「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則り、長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て行われた。データ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

長崎県の油症認定患者 (Pt) 31名、および健常人 (CON) 31名の平均年齢はそれぞれ 72.0 ± 8.6 歳、および 67.9 ± 11 歳で有意差は認めなかった。それぞれの群における血清中IL-12、IFN- γ の比較を図1に示す。IL-12は、有意差はないものの増加傾向を示し、一方でIFN- γ

は有意差をもって低値を示した($p=0.0056$)。また、認定患者におけるIL-12またはIFN- γ 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、いずれも有意な相関は認めなかった (図2, PCBについては割愛)。

D. 考察

今回の解析では、油症認定患者は健常人と比較して、統計学的に有意ではないもののIL-12が増加傾向を示した。このことがNK細胞数の増加に關与している可能性も考えられた。一方、NK細胞が産生するIFN- γ については有意差をもって低値を示した。昨年解析でNK細胞数が増加していたことから、NK細胞が産生するサイトカインは高値であることを予想していたが、それに反する結果となった。近年、NK細胞においては、トリプトファンを光照射する事で生成されAhRに対して高い親和性を持つ体内物質6-formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ)が、AhRを介してIFN- γ を産生することが報告されている^[5]。AhRはダイオキシン類のレセプターとして知られていることから、今回の結果は、発症から半世紀経過した現在でも低下せず残留し続けるダイオキシンがAhRを持続的に刺激した結果、何らかの負のフィードバックがかかっている可能性も考えられた。NK細胞とダイオキシンとの関連については、これまでに詳細な報告はなく、今回の結果が油症患者の免疫応答における病態解明の発展の一助となることを期待する。

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、様々な症状に苦しんでいる。油症患者における免疫学的研究が、油症患者のQOL向上、病態解明に繋がることを願っている。

謝辞

これまでのすべての研究を支え、ご指導下さった故・宇谷厚志教授に、心より感謝申し上げます。

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* 2001, 86(1):2-11.
2. Dolwick KM, Schmidt JV, Carver LA, Swanson HI, Bradfield CA: Cloning and expression of a human Ah receptor cDNA. *Mol Pharmacol* 1993, 44(5):911-917.
3. Kimura A, Nakai 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 USA* 2008, 105(28): 9721-9726.
4. Keppel MP, Saucier N, Mah AY, Vogel TP, Cooper MA: Activation-specific metabolic requirements for NK Cell IFN-gamma production. *J Immunol* 2015, 194(4):1954-1962.
5. Shin JH, Zhang L, Murillo-Sauca O, Kim J, Kohrt HE, Bui JD, Sunwoo JB: Modulation of natural killer cell antitumor activity by the aryl hydrocarbon receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013, 110(30): 12391-12396.

F . 研究発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし