

分担研究報告書

長崎県油症認定患者におけるセマフォリン3A(Sema3A)の検討

研究分担者 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 郡家佑美 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

油症発生当初より、油症患者は四肢のしびれや感覚低下などの末梢神経症状を呈することが知られているが、半世紀経過した今でもその有病率は正常群より高い。しかしダイオキシン類が末梢神経へ影響を与えるメカニズムについては未だ明らかになっていない。本年度は、神経軸索ガイダンスなど生体内で様々な情報伝達を担うタンパク質であるセマフォリンのうち、脊椎動物の表皮神経系発達の調節に関わるセマフォリン3A (Sema3A)について解析し、認定患者(N=30)と健常人(N=30)で比較、検討した。その結果、油症患者では有意に高値であった($p=0.00357$)。この値とダイオキシン濃度との間にはPCQのみにも有意な相関を認めた。Sema3Aは神経系への影響のみならず、免疫調節機構への関与も報告されており、油症患者へ何らかの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49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]。

セマフォリンは神経軸索ガイダンスなど生体内で様々な情報伝達を担うタンパク質である。構造の違いにより Sema1 から Sema8 まで 8 種類のサブファミリーに分かれており、Sema3 ファミリー(Sema3A~3G)は脊椎動物の神経系形成に関わっている。中でもセマフォリン 3A(Sema3A)は表皮神経発達の調節を担っており、アトピー性皮膚炎患者では表皮ケラチノサイトでの Sema3A 発現が減少することが報告されている^[2]。一方で、関節リウマチ患者血清において sema3A が有意に減少するとされる報告があり^[3]、Sema3 ファミリーは何らかの形で免疫調節機構に関与している可能性が指摘されている。また、マウスの脳において、TCDD 添加による *Sema3b* mRNA の増加が報告され^[4]、ダイオキシンによる Sema3

ファミリーの調節異常の可能性が示唆されている。我々はこれまで、油症患者における免疫調節機能に異常が存在する可能性を検討報告しており、油症患者において Sema3A が何らかの関与を及ぼしているのではないかと考えた。また、油症患者の中に、末梢神経のしびれや異常感覚を主訴とする患者が一定数存在していることから、Sema3A が油症患者で変動している可能性も考慮した。そこで、我々は、油症患者血清中の Sema3A 濃度について検討を行った。

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 30 名および年齢を合わせた健常人 30 名を対象とした。検診時に採血を行い、凍結保存し Sema3A 測定用サンプルとした。

Sema3A の測定：ヒト Sema3A ELISA キット (MyBioSource 社製)を用いてサンプル血清中の Sema3A を測定した。

Sema3A 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、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 Sema3A 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 Sema3A 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) 30 名、および健常人 (CON) 30 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 Sema3A の比較を図 1 に示す。油症患者では有意に高値 (P=0.0357) となった。また、認定患者における Sema3A 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 との間有意な相関を認めた (図 2)。

D. 考察

今回の結果は予想に反し、油症患者において血清 Sema3A が増加していた。詳細な原因は不明であるが、末梢神経などに生じた炎症のため代償的に Sema3A が上昇している可能性がある。

一方で、セマフォリンの主な受容体として plexin ファミリーと Neuropilin(Nrp)ファミリーが知られている。型セマフォリンの多くは Nrp/plexin 受容体複合体を介してシグナルを伝える。Sema3A は神経軸索の進展に対し抑制的に作用するだけでなく、樹状細胞の移動を促進していることが報告され、樹状細胞が所属リンパ節への遊走する際に Sema3A が関与していることが知られている^[5]。

これまでに Sema3A とダイオキシンレセプターである AhR との直接的な関連の報告はないが、Sema3A による刺激が、Nrp-1 陽性制御性 T 細胞からの IL-10 分泌を促すなど、免

疫制御に関わることが知られている^[6]。これまでの当研究班の報告で、油症患者における AhR を介した IL-10 増加の可能性を示してきたが、今回の結果から Sema3A を介する機序がその一端を担っている可能性が示唆された。

セマフォリンファミリーとダイオキシン、油症患者の神経症状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神経症状や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

これまでの油症研究にお力添え頂いた関係者の皆様、快く血液をご提供下さった油症患者の皆様に深謝致します。

参考文献

1. Aoki Y: Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disruptors -- what we have learned from Yusho disease. *Environmental research* 2001, 86(1):2-11.
2. 高森健二: ドライスキンのサイエンス～原点から最前線まで～ドライスキンとかゆみ. *日本化粧品学会誌* 2014, 38(2):92-95.
3. Teng Y, Yin Z, Li J, Li K, Li X, Zhang Y: Adenovirus-mediated delivery of Sema3A alleviates rheumatoid arthritis in a serum-transfer induced mouse model. *Oncotarget* 2017, 8(39):66270-66280.
4. Kimura E, Endo T, Yoshioaka W, Ding Y, Ujita W, Kakeyama M, Tohyama C: In utero and lactational dioxin exposure induces Sema3b and Sema3g gene expression in the developing mouse brain. *Biochemical and biophysical research communications* 2016, 476(2):108-113.

5. 高松漂太、熊ノ郷淳: セマフォリンによる免疫制御. *生化学* 2011, 83(12): 1103-1109.
6. Catalano A: The neuroimmune semaphorin-3A reduces inflammation and progression of experimental autoimmune arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)* 2010, 185(10):6373-6383.

F . 研究発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

なし