

分担研究報告書

油症における末梢血 CD3 陽性細胞に対する 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の影響

研究分担者 辻 博 北九州若杉病院西日本総合医学研究所 所長

研究要旨 2018 年度福岡県油症一斉検診受診者 215 例について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度との関連について検討した。油症患者では対照者に比較し T 細胞を示す CD3 陽性細胞の比率および絶対数の低下を認めたが、B 細胞を示す CD20 陽性細胞の比率あるいは絶対数は油症患者と対照者の間に差をみなかった。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の間に負の相関を認め、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が低値の受診者に比較し CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の低下を認めた。油症患者において CD3 陽性細胞の低下が認められ、CD3 陽性細胞の低下に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の慢性的影響が示唆される。

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⁾²⁾。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³⁾。油症発生以来 50 年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⁴⁾⁵⁾⁶⁾。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⁷⁾。

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⁸⁾⁹⁾。油症における免疫機能影響については、1996 年度福岡県油症一斉検診において血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認め油症患者における免疫機能の障害が推測された¹⁰⁾。そして、1997 年度の福岡県油症一斉検診において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか 1 分画以上の上昇を 40.0% に、自己抗体では抗核抗体を 45.6% と高率に認め、油症において液性免疫の障害を高頻度に認めることが報告されている¹¹⁾。

今回我々は、2018 年度福岡県油症一斉検診において細胞性免疫機能検査として末梢血リンパ球亜集団の T 細胞を示す CD3 陽性細胞および B 細胞を示す CD20 陽性細胞を測定し、油症における細胞性免疫に対する 2, 3, 4, 7, 8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) の慢性的影響について検討した。

B. 研究方法

2018 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者 218 例中、細胞性免疫検査にアンケートにて同意が得られ、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の研究目的の使用

に同意が得られた 215 例を対象者とした。

白血球数、末梢血液像は半導体レーザーを使用したフローサイトメトリー法により多項目自動血球分析装置 XE-2100 (シスメックス(株))にて測定した。リンパ球亜集団の測定は抗ヒトマウスモノクローナル抗体を用いフローサイトメトリー法により、T 細胞を示す CD3 陽性細胞を CD3 (Leu-4) FITC (日本ベクトン・ディッキンソン(株))を用いて、B 細胞を示す CD20 陽性細胞を B1-FITC (ベックマン・コールター(株))を用いて BD FACSCanto II フローサイトメーター (BD Biosciences)にて測定した。リンパ球亜集団は、総リンパ球に対する比率および絶対数で表した。

2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の測定は福岡県保健環境研究所で行なった。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 2018 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2015 年度 27 例、2016 年度 25 例、2017 年度 63 例、2018 年度 100 例の計 215 例の測定値を用いて CD3 陽性細胞および CD20 陽性細胞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 検定で行なった。

C. 研究結果

2018 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者で細胞性免疫検査および血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度の研究目的の使用に同意が得られた 215 例の内訳は女性 122 例、男性 93 例で、平均年齢は 64.2 ±13.5 (15-91) 歳であり、油症患者 165 例、油症患者 (同居家族) 24 例、未認定患者 17 例、観察者 1 例、初回受診者 8 例であった。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ($r=0.3985$, $P<0.001$) を認めた。

2018 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 165 例について未認定患者 17 例を対照者として、両群間の CD3 陽性細胞

および CD20 陽性細胞について検討を行なった (表 1)。油症患者の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 90.25 ± 154.99 pg/g lipids、対照者の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 5.96 ± 3.86 pg/g lipids であった。CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率は対照者 $73.6 \pm 6.8\%$ に対し油症患者では $66.6 \pm 9.7\%$ と有意の低下を認めた ($P<0.005$)。CD3 陽性細胞絶対数は対照者 $1,326.2 \pm 232.0/\mu l$ に対し油症患者では $1,178.8 \pm 392.7/\mu l$ と有意の低下を認めた ($P<0.05$)。CD20 陽性細胞の比率は対照者 $11.0 \pm 4.3\%$ に対し油症患者では $10.1 \pm 4.8\%$ と差をみなかった。CD20 陽性細胞絶対数は対照者 $205.5 \pm 101.5/\mu l$ に対し油症患者では $179.7 \pm 107.8/\mu l$ と差をみなかった。

2018 年度福岡県油症一斉検診の受診者 215 例について血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球亜集団の関連について検討した (表 2)。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の間に有意の負の相関 ($r=-0.1816$, $P<0.01$) を認めた。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD3 陽性細胞絶対数の間に相関をみなかった。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD20 陽性細胞の比率あるいは CD20 陽性細胞絶対数の間に相関をみなかった。

2018 年度福岡県油症一斉検診受診した 215 例について血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度 50 pg/g lipids 未満の 152 例を 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度 50 pg/g lipids 以上の油症患者 63 例を 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群として、CD3 陽性細胞および CD20 陽性細胞について検討した (表 3)。2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 15.63 ± 11.16 pg/g lipids、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は 206.85 ± 202.41 pg/g lipids であった。CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群

68.6±9.5%に対し2,3,4,7,8-PeCDF 高濃度群 64.8±9.9%と有意の低下を認めた ($P < 0.01$)。CD3 陽性細胞絶対数は2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群 1,243.3 ± 413.4/μl に対し高濃度群では1,194.4 ± 424.3/μl と低下傾向を認めたが、差をみなかった。CD20 陽性細胞の総リンパ球に対する比率あるいは絶対数は2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群と高濃度群の間に差をみなかった。

D. 考察

油症における免疫機能への影響については血中 PCB 濃度が高値の油症患者に抗サイログロブリン抗体の出現を高頻度に認めることが報告されている。油症発症28年後の1996年の甲状腺機能検査において、甲状腺ホルモンは血中 PCB 濃度 3.0 ppb 以上の PCB 高濃度群と 3.0 ppb 未満の PCB 低濃度群の間に差がみられなかったが、抗サイログロブリン抗体を高濃度群の41例中8例(19.5%)と低濃度群の40例中1例(2.5%)に比べ高頻度に認めた¹⁰⁾。そして、1997年度福岡県油症一斉検診において免疫機能検査として免疫グロブリンおよび自己抗体を測定し、油症患者において免疫グロブリン IgA、IgG、IgM のいずれか1分画以上の上昇を40.0%に、自己抗体についてはリウマチ因子を8.9%に、抗核抗体を45.6%と高率に認め、液性免疫を中心とする免疫機能に対する慢性的影響が示唆された¹¹⁾。さらに、2007年度福岡県油症一斉検診において、血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子との間に正の相関を、抗核抗体を血中2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群に比べ高濃度群に高頻度に認め、油症における免疫グロブリン IgA およびリウマチ因子の上昇、抗核抗体の出現に2,3,4,7,8-PeCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する2,3,4,7,8-PeCDF の慢性的影響が示唆された¹²⁾。

今回の油症における細胞性免疫の検討では、2018年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者について未認定患者を対照者としてT細胞を示すCD3陽性細胞およびB細胞を示すCD20陽性細胞を検討した。CD3陽性細胞の総リンパ球に対する比率および絶対数は対照に比較し油症において低下を認めたが、CD20陽性細胞の比率および絶対数は対照者および油症患者に差をみなかった。そして、2018年度福岡県油症一斉検診受診者の血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球亜集団の関連について検討し、血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度とT細胞を示すCD3陽性細胞の総リンパ球に対する比率の間に負の相関を認めた。さらに、血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が低値の受診者に比較しCD3陽性細胞の総リンパ球に対する比率の低下を認めた。油症患者におけるT細胞の低下に2,3,4,7,8-PeCDF の慢性的影響が示唆される。

油症におけるリンパ球亜集団への影響については2008年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者について末梢血リンパ球亜集団を測定し、血中 PCB 濃度および血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度との関連について報告されている¹³⁾。血中 PCB 濃度と末梢血リンパ球、helper/inducer T細胞を示すCD4陽性細胞、suppressor/cytotoxic T細胞を示すCD8陽性細胞の間に相関はみられなかったが、血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数、CD4陽性細胞の間に相関が認められ油症患者の末梢血リンパ球、CD4陽性細胞の増加に2,3,4,7,8-PeCDF の関与が示唆された。また、血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において低値の患者に比べ末梢血リンパ球、helper/inducer T細胞を示すCD4陽性細胞の増加を認めた。今回の検討では油症においてT細胞を示すCD3陽性細胞の低下を認め、2,3,4,7,8-PeCDF の慢性

的影響が示唆された。そして、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において helper/inducer T 細胞は増加し、helper/inducer T 細胞および suppressor/cytotoxic T 細胞等より構成される T 細胞は減少する可能性が考えられる。

油症発生 50 年後の 2018 年度福岡県油症一斉検診受診者においてリンパ球亜集団を検討し、油症患者において対照者に比べ T 細胞を示す CD3 陽性細胞の低下を認めた。そして、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD3 陽性細胞の比率の間に負の相関を認め、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が低値の受診者に比較し CD3 陽性細胞の低下を認めた。油症における 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF のリンパ球亜集団に対する、慢性的影響の機序は不明であるが、油症患者における CD3 陽性細胞の低下に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の関与が示唆される。

E. 結論

油症発生 50 年後の 2018 年度福岡県油症一斉検診受診者 215 例のリンパ球亜集団を検討し油症患者において T 細胞を示す CD3 陽性細胞の低下を認めた。血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の間に負の相関を認め、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が低値の受診者に比較し CD3 陽性細胞の総リンパ球に対する比率の低下を認めた。油症患者において T 細胞の低下が認められ、T 細胞の低下に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の慢性的影響が示唆された。

F. 参考文献

1. 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.
2. Oishi S, Morita M, Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 43 : 13-22, 1978.
3. Gonzalez FJ, Liu SY, Yano M : Regulation of cytochrome P450 genes : molecular mechanism. *Pharmacogenetics* 3 : 51-57, 1993.
4. 飯田隆男, 芥野岑男, 高田智, 中村周三, 高橋克巳, 増田義人 : ヒトの血液中におけるポリ塩化ビフェニルおよびポリ塩化クアテルフェニルについて. *福岡医誌* 72 : 185-191, 1981.
5. 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ル異性体. *福岡医誌* 76 : 150-152, 1985.
6. 増田義人, 原口浩一, 古野純典 : 油症患者における PCB 異性体の 30 年にわたる特異な残留. *福岡医誌* 94 : 136-143, 2003.
7. 飯田隆男, 戸高尊, 平川博仙, 飛石和夫, 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). *福岡医誌* 94 : 126-135, 2003.
8. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP and Becker JL : Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam. Appl. Toxicol.* 21 : 433-441, 1993.
9. Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, Kitagawa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y, Kato S : Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor.

Nature 423 : 545-550, 2003.

10. 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. 福岡医誌 88 : 231-235, 1997.
11. 辻 博, 平橋高明, 緒方久修, 藤島正敏 : 油症患者における免疫機能の検討. 福岡医誌 90 : 147-149, 1999.
12. 辻 博 : 油症患者における免疫機能の検討. 熱媒体の人体影響とその治療法に関する研究 平成 19 年度総括・分担研究報告書 37-39, 2008.
13. 辻 博 : 油症における末梢血リンパ球亜集団の検討. 福岡医誌 100:131-135, 2009.

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 油症患者および対照者におけるリンパ球亜集団

No.		Controls	Yusho
		17	165
CD3 陽性細胞	(%)	73.6±6.8	66.6±9.7*
	(/μl)	1,326.2±232.0	1,178.8±392.7 [†]
CD20 陽性細胞	(%)	11.0±4.3	10.1±4.8
	(/μl)	205.5±101.5	179.7±107.8

*P<0.005 vs. Controls, [†]P<0.05 vs. Controls.

表2 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度とリンパ球亜集団の関連

		r
CD3 陽性細胞	(%)	-0.1816*
	(/μl)	-0.0178
CD20 陽性細胞	(%)	-0.0163
	(/μl)	-0.0182

*P<0.01.

表3 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 低濃度群および高濃度群におけるリンパ球亜集団

No.		2,3,4,7,8-PeCDF 濃度	
		<50 pg/g lipids	≥50 pg/g lipids
		152	63
CD3 陽性細胞	(%)	68.6±9.5	64.8±9.9*
	(/μl)	1,243.3±413.4	1,194.4±424.3
CD20 陽性細胞	(%)	10.5±4.6	9.5±4.8
	(/μl)	194.0±110.3	176.1±117.9

*P<0.01 vs. blood 2,3,4,7,8-PeCDF concentration <50 pg/g lipids.