

## 分担研究報告書

### 油症における末梢血 CD4 陽性 CD25 陽性細胞の検討

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** 2022 年度福岡県油症一斉検診受診者 187 例について末梢血リンパ球亜集団の CD4 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性細胞を測定した。油症患者 91 例では対照者 78 例に比較し CD4 陽性細胞の比率あるいは絶対密度に差を認めなかった。CD4 陽性 CD25 陽性細胞の比率は油症患者において対照者に比べ上昇を認めた。CD4 陽性 CD25 陽性細胞の絶対密度は油症患者と対照者に差をみなかった。2022 年度福岡県油症一斉検診において油症患者では対照者に比較し CD4 陽性 CD25 陽性細胞の上昇が認められた。

#### 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<sup>1)2)</sup>。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<sup>3)</sup>。油症発生以来 50 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<sup>4)5)6)</sup>。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<sup>7)</sup>。

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<sup>8)9)</sup>。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<sup>10)</sup>。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<sup>11)</sup>。

今回我々は、2022 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 CD4 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性細胞を測定し、油症における細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

#### B. 研究方法

2022 年度福岡県油症一斉検診における 15 歳以上の受診者 189 例中、細胞性免疫検査にアンケートにて同意が得られた 187 例を対象者とした。

白血球数、末梢血液像は半導体レーザ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。末梢血リンパ球亜集団の CD4 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性細胞の測定は抗ヒトマウスモノクローナル抗体を用い二重染色フローサイトメトリー法により、CD4 陽性細胞は CD4 FITC (Beckman Coulter) を用いて、CD25 陽性細胞は CD25 PE (BD Biosciences) 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密度で表した。

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

2022 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に同意が得られた 187 例の内訳は女性 106 例、男性 81 例で、平均年齢は 57.8±18.7 (18-93) 歳であり、油症患者 91 例、油症患者 (同居家族) 15 例、未認定患者 78 例、観察者 3 例であった。

2022 年度福岡県油症一斉検診を受診した油症患者 91 例について未認定患者 78 例を対照者として、両群間の CD4 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性細胞について検討を行なった (表 1)。CD4 陽性細胞の総リンパ球に対する比率は対照者 46.2±8.6% に比べ油症患者では 47.7±10.0% と差を認めず、CD4 陽性細胞数は対照者 915.2±352.1/μl に対し油症患者では 847.3±310.6/μl と差をみなかった。CD4 陽性 CD25 陽性細胞の比率は対照者 16.9±6.9% に対し油症患者では 19.2±7.5% と有意の上昇を認めた (P<0.05)。CD4 陽性 CD25 陽性の絶対密度は対照者 328.1±165.5/μl に対し油症患者では 339.7±172.0/μl と差をみなかった。

### 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<sup>10)</sup>。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<sup>11)</sup>。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<sup>12)</sup>。

油症における細胞性免疫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。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<sup>13)</sup>。

2022 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 CD4 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性細胞を検討した。油症患者では対照者に比較し CD4 陽性細胞の総リンパ球に対する比率あるいは絶対密度に差をみなかった。CD4 陽性 CD25 陽性細胞数は油症患者と対照者の間に差をみなかったが、油症患者では対照者に比べ CD4 陽性 CD25 陽性細胞の比率の上昇を認めた。CD4 陽性 CD25 陽性細胞に含まれる CD4 陽性 CD25 陽性制御性 T 細胞は免疫自己寛容により自己免疫疾患の発症抑制に関与するほか、抗腫瘍免疫の抑制、移植免疫寛容の誘導に関与することが報告されている<sup>14)15)16)</sup>。油症において CD4 陽性 CD25 陽性制御性 T 細胞について検討が必要と考えられる。

2022 年度福岡県油症一斉検診において油症患者では対照者に比較し CD4 陽性 CD25 陽性細胞の比率の上昇を認めた。油症における CD4 陽性 CD25 陽性細胞に対する PCB あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の慢性的影響を検討するため CD4 陽性 CD25 陽性細胞と血中 PCB 濃度あるいは血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度との関連の検討が必要と考えられる。

## E. 結論

2022 年度福岡県油症一斉検診受診者 187 例について末梢血リンパ球亜集団の CD4 陽性細胞および CD4 陽性 CD25 陽性細胞を測定した。油症患者 91 例では対照者 78 例に比較し CD4 陽性細胞の比率あるいは絶対密度に差を認めなかった。CD4 陽性 CD25 陽性細胞の比率は油症患者では対照者に比べ上昇を認めた。CD4 陽性 CD25 陽

性細胞数は油症患者と対照者の間に差をみなかった。油症において CD4 陽性 CD25 陽性細胞と血中 PCB 濃度あるいは血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度との関連について検討が必要と考えられた。

## 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). *福岡医誌* 94:126-135, 2003.
8. Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, 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.
  14. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M : Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$ -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol.* 155 : 1151-1164, 1995.
  15. Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, Kuniyasu Y, Shimizu J, Otsuka F, Sakaguchi S : Thymus and autoimmunity: production of CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-

tolerance. *J. Immunol.* 162 : 5317-5326, 1999.

16. Togashi Y, Shitara K, Nishikawa H : Regulatory T cells in cancer immunosuppression - implications for anticancer therapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 16 : 356-371, 2019.

#### 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.		Yusho	Controls
		91	78
CD4 陽性細胞	(%)	47.7±10.0	46.2±8.6
	(/μl)	847.3±310.6	915.2±352.1
CD4 陽性 CD25 陽性細胞	(%)	19.2±7.5*	16.9±6.9
	(/μl)	339.7±172.0	328.1±165.5

\*P<0.05 vs. controls.