

## 油症におけるリンパ球幼若化反応の検討

辻, 博  
北九州津屋崎病院内科

伊東, 靖夫  
北九州津屋崎病院内科

<https://doi.org/10.15017/19725>

---

出版情報：福岡醫學雑誌. 102 (4), pp.81-86, 2011-04-25. 福岡医学会  
バージョン：  
権利関係：



## 油症におけるリンパ球幼若化反応の検討

北九州津屋崎病院 内科

辻 博, 伊 東 靖 夫

### Impaired Mitogen-induced Lymphocyte Transformation in Patients with Yusho

Hiroshi TSUJI and Yasuo ITO

*Department of Internal Medicine, Kitakyushu-Tsuyazaki Hospital, Fukuoka 811-3307, Japan*

**Abstract** To investigate chronic immune effects of polychlorinated biphenyl (PCB) and polychlorinated dibenzofuran (PCDF), *in vitro* lymphocyte transformation in response to phytohemagglutinin (PHA) and concanavalin A (Con A) was studied in 139 patients with Yusho and 61 controls. PHA-induced lymphocyte transformation was significantly lower in patients with Yusho than in controls. PHA-induced lymphocyte transformation was inversely correlated with the concentrations of PCB and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) in the blood. Con A-induced lymphocyte transformation showed similar inverse correlations with the concentrations of PCB and 2,3,4,7,8-PeCDF. We conclude that impairment of mitogen-induced lymphocyte transformation in patients with Yusho may be associated with PCB and 2,3,4,7,8-PeCDF in the blood.

**Key words** : Yusho, Mitogen-induced lymphocyte transformation, PCB, PCDF

#### はじめに

本邦において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<sup>3)</sup>. しかし, その機構の詳細は未だ不明である. 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<sup>4)~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, 油症患者では現在においても未だに血

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>.

最近, PCBあるいは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>. 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, 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>. そして, 2007年度福岡県油症一斉検診において, 血中2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (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有意の相関を, 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有意に高頻

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 PCDF が関与している可能性が考えられ、液性免疫に対する PCDF の慢性的影響が示唆された。

今回我々は、2009 年度福岡県油症一斉検診においてリンパ球機能検査として phytohemagglutinin (PHA) および concanavalin A (Con A) の mitogen 刺激によるリンパ球幼若化反応を測定し、油症原因物質である PCB および PCDF の細胞性免疫に対する慢性的影響について検討した。

### 対象および方法

2009 年度福岡県油症一斉検診の受診者 202 例にアンケートによるインフォームドコンセントを実施し、PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた 200 例を対象者とした。

検診の内容は自覚症状、既往歴、家族歴、理学的所見、検尿、赤血球沈降速度、末梢血液検査、血液生化学検査、胸部レントゲン検査および心電図などよりなり、採血は午前中の空腹時に行なった。PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応は<sup>3</sup>H-サイミジン取り込み能により測定した。リンパ球はヘパリン加末梢血から Ficoll-Conray 法により分離後、PBS にて洗浄し 10% FCS 添加 RPMI1640 培地にて  $5 \times 10^5$  cells/ml に調整した。リンパ球浮遊液 0.2 ml を mitogen を添加したマイクロプレートに分注し、5% CO<sub>2</sub> 培養器にて 37°C、64 時間培養後に<sup>3</sup>H-サイミジン 0.25 μCi を加え、さらに 8 時間培養後、培養細胞をセルハーベスターにて回収、乾燥しマイクロプレートシンチレーション・ルミネッセンスカウンター (PerkinElmer, Inc., TopCount NXT) にて<sup>3</sup>H の放射能を測定した。対照として mitogen 無添加の試料を測定した。

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、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 PCB 濃度は 2009 年度福岡県油症一斉検診において測定した 200 例の測定値を用い、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度は 2009 年度福岡県油症一斉検診に最も近い時期に測定した 2002 年度 1 例、2006 年度 81 例、2007 年度 19 例、2008 年度 17 例、

2009 年度 80 例の計 198 例の測定値を用い、PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応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 検定を用いた。

### 結 果

2009 年度福岡県油症一斉検診を受診し、PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた 200 例 (認定患者 139 例、未認定患者 61 例) の内訳は女性 115 例、男性 85 例で、平均年齢は  $60.8 \pm 16.8$  (4 - 92) 歳であった。血中 PCB 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ( $r = 0.537$ ,  $P < 0.001$ ) を、血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と年齢の間に有意の正の相関 ( $r = 0.327$ ,  $P < 0.001$ ) を認めた。

福岡県油症一斉検診を受診した油症認定患者 139 例の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について未認定患者 61 例を対照として検討した (Table 1)。PHA によるリンパ球幼若化反応は油症患者において  $36,416 \pm 14,368$  cpm と対照者  $42,841 \pm 15,748$  cpm に比べ有意の低下を認めた ( $P < 0.01$ )。Con A によるリンパ球幼若化反応は油症患者において  $28,376 \pm 12,023$  cpm と対照者  $30,810 \pm 13,401$  cpm に比べ低い傾向が認められたが有意ではなかった。mitogen 無添加の対照は両群間に差をみなかった。

検診受診者 200 例について血中 PCB 濃度とリンパ球幼若化反応の関連について検討した (Table 2)。血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応 ( $r = -0.341$ ,  $P < 0.001$ ) (Fig. 1)、Con A によるリンパ球幼若化反応 ( $r = -0.233$ ,  $P < 0.001$ ) の間に有意の負の相関を認めたが、mitogen 無添加の対照 ( $r = -0.134$ ) との間に相関をみなかった。

次に、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 未満の 154 例を PCB 低濃度群、血中 PCB 濃度 2.0 ppb 以上の 46 例を PCB 高濃度群として、両群間の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について検討を行なった (Table 3)。PCB 低濃度群の平均血中 PCB 濃度は  $0.93 \pm 0.52$  ppb、PCB 高濃度群の平均血中 PCB 濃度は  $3.11 \pm 1.14$  ppb であった。PHA によるリンパ球幼若化反応は PCB 高濃度群において  $30,907 \pm 11,373$  cpm と PCB 低濃度群

40,607 ± 15,332 cpm に比べ有意の低下を認めた (P < 0.001). そして, Con A によるリンパ球幼若化反応も PCB 高濃度群において 24,562 ± 9,765 cpm と PCB 低濃度群 30,479 ± 12,895 cpm に比べ有意の低下を認めた (P < 0.005). 対照は PCB 低濃度群 237 ± 114 cpm, PCB 高濃

度群 213 ± 83 cpm と両群間に差をみなかった.

2009 年度福岡県油症一斉検診を受診し, リンパ球幼若化反応の測定に同意が得られた受診者 200 例中, 血中 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度が測定された 198 例について 2,3,4,7,8-PeCDF 濃度とリンパ球幼若化反応の関連について検討した (Table 4).

**Table 1** Mitogen-induced lymphocyte transformation in patients with Yusho and controls

| No.                         |       | Yusho<br>139                 | Controls<br>61  |
|-----------------------------|-------|------------------------------|-----------------|
| PHA-induced LT*             | (cpm) | 36,416 ± 14,368 <sup>†</sup> | 42,841 ± 15,748 |
| Con A-induced LT*           | (cpm) | 28,376 ± 12,023              | 30,810 ± 13,401 |
| Non-mitogen treated control | (cpm) | 230 ± 106                    | 234 ± 113       |

\*Lymphocyte transformation, <sup>†</sup>P < 0.001 vs. controls.

**Table 2** Correlation coefficients between mitogen-induced lymphocyte transformation and blood PCB concentration

|                             | r                    |
|-----------------------------|----------------------|
| PHA-induced LT*             | - 0.341 <sup>†</sup> |
| Con A-induced LT*           | - 0.233 <sup>†</sup> |
| Non-mitogen treated control | - 0.134              |

\*Lymphocyte transformation, <sup>†</sup>P < 0.001.

**Table 3** Mitogen-induced lymphocyte transformation in Yusho patients with high PCB concentration and subjects with low PCB concentration

| No.                         |       | PCB concentration            |                  |
|-----------------------------|-------|------------------------------|------------------|
|                             |       | ≥ 2.0 ppb<br>46              | < 2.0 ppb<br>154 |
| PHA-induced LT*             | (cpm) | 30,907 ± 11,373 <sup>†</sup> | 40,607 ± 15,332  |
| Con A-induced LT*           | (cpm) | 24,562 ± 9,765 <sup>‡</sup>  | 30,479 ± 12,895  |
| Non-mitogen treated control | (cpm) | 213 ± 83                     | 237 ± 114        |

\*Lymphocyte transformation, <sup>†</sup>P < 0.001 vs. PCB concentration < 2.0 ppb, <sup>‡</sup>P < 0.005 vs. PCB concentration < 2.0 ppb.

**Table 4** Correlation coefficients between mitogen-induced lymphocyte transformation and 2,3,4,7,8-PeCDF concentration in blood

|                             | r                    |
|-----------------------------|----------------------|
| PHA-induced LT*             | - 0.158 <sup>†</sup> |
| Con A-induced LT*           | - 0.147 <sup>†</sup> |
| Non-mitogen treated control | 0.02                 |

\*Lymphocyte transformation, <sup>†</sup>P < 0.05.

**Table 5** Mitogen-induced lymphocyte transformation in Yusho patients with high 2,3,4,7,8-PeCDF concentration and subjects with low 2,3,4,7,8-PeCDF concentration

| No.                         |       | 2,3,4,7,8-PeCDF concentration |                         |
|-----------------------------|-------|-------------------------------|-------------------------|
|                             |       | ≥ 30 pg/g lipids<br>82        | < 30 pg/g lipids<br>116 |
| PHA-induced LT*             | (cpm) | 34,156 ± 12,406 <sup>†</sup>  | 41,867 ± 15,616         |
| Con A-induced LT*           | (cpm) | 26,603 ± 10,361 <sup>‡</sup>  | 31,325 ± 13,172         |
| Non-mitogen treated control | (cpm) | 236 ± 111                     | 229 ± 106               |

\*Lymphocyte transformation, <sup>†</sup>P < 0.001 vs. 2,3,4,7,8-PeCDF concentration < 30 pg/g lipids, <sup>‡</sup>P < 0.01 vs. 2,3,4,7,8-PeCDF concentration < 30 pg/g lipids.

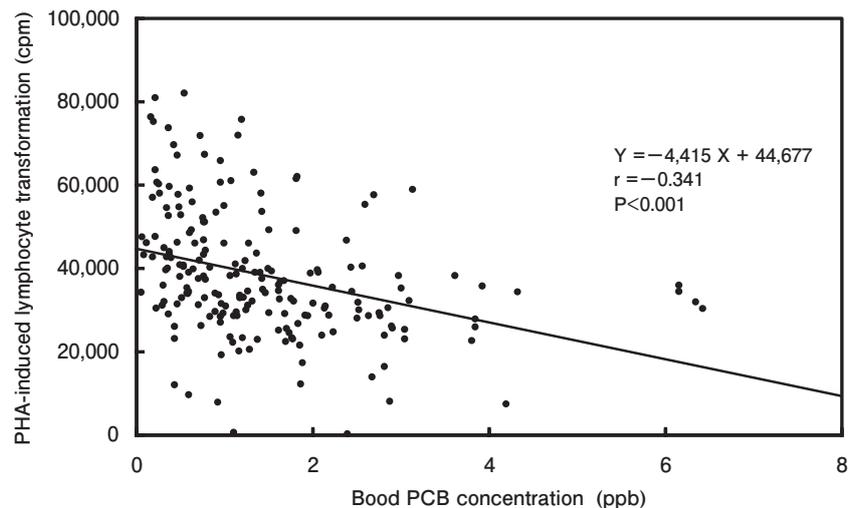


Fig. 1 Correlation between PHA-induced lymphocyte transformation and blood PCB concentration for each subject.

2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応 ( $r = -0.158$ ,  $P < 0.05$ ), Con A によるリンパ球幼若化反応 ( $r = -0.147$ ,  $P < 0.05$ ) の間に有意の負の相関を認めたが, 対照 ( $r = 0.020$ ) との間に相関をみなかった。

次に, 血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度 30 pg/g lipids 未満の 116 例を 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群, 30 pg/g lipids 以上の 82 例を 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群として両群の PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応について検討した (Table 5). 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は  $13.40 \pm 7.29$  pg/g lipids, 高濃度群の平均血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度は  $240.31 \pm 227.90$  pg/g lipids であった。PHA によるリンパ球幼若化反応は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群において  $34,156 \pm 12,406$  cpm と低濃度群  $41,867 \pm 15,616$  cpm に比べ有意の低下を認めた ( $P < 0.001$ )。Con A によるリンパ球幼若化反応は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群において  $26,603 \pm 10,361$  cpm と低濃度群  $31,325 \pm 13,172$  cpm に比べ有意の低下を認めた ( $P < 0.01$ )。対照は 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 低濃度群  $229 \pm 106$  cpm, 高濃度群  $236 \pm 111$  と両群間に差をみなかった。

## 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 PCB 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, 油症において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>。また, 末梢血リンパ球亜集団の検討において血中 PCB 濃度が高値の油症患者では低値の患者に比べ helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加が認められ, 油症患者に高頻度にみられる免疫グロブリン上昇や自己抗体出現の原因となっている可能性が示唆された。さらに, 2008 年度福岡県油症一斉検診において血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と末梢血リンパ球数, CD4 陽性細胞数の間に有意の正の相関を認め, 血中 PCB 濃度が高値の油症患者において低値の患者に比べ CD4 陽性細胞の増加を, 血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者において末梢血リンパ球, CD4 陽性細胞の増加を認めた<sup>12)</sup>。油症患者の末梢血リンパ球数, helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞

胞の増加に 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF の関与が示唆された。

今回の検討では、油症患者において対照者に比べ PHA によるリンパ球幼若化反応の低下を認めしたが、Con A によるリンパ球幼若化反応、mitogen 無添加の対照は両群間に差をみなかった。そして、血中 PCB 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応、Con A によるリンパ球幼若化反応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 PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。さらに、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と PHA によるリンパ球幼若化反応、Con A によるリンパ球幼若化反応の間に有意の負の相関を認め、2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 高濃度群において低濃度群に比べ PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の有意の低下を認めた。PHA, Con A は T 細胞の mitogen であるが、helper/inducer T 細胞は PHA および Con A により、suppressor/cytotoxic T 細胞は Con A により幼弱化することが知られている<sup>13)14)</sup>。油症患者においては helper/inducer T 細胞のリンパ球幼若化反応が低下していると考えられる。そして、helper/inducer T 細胞のリンパ球幼若化反応は血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と負の相関を示した。血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では helper/inducer T 細胞の幼若化反応が低下していると考えられる。血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者では helper/inducer T 細胞を示す CD4 陽性細胞の増加を認めることが報告されている<sup>12)</sup>が、helper/inducer T 細胞の幼若化反応は低下し、helper/inducer T 細胞のリンパ球機能は低下していると考えられる。

油症発生以来 40 年以上が経過しているが、血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者においては PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応が低下を認め、helper/inducer T 細胞のリンパ球幼若化反応が低下していると考えられる。油症患者において細胞性免疫に対する PCB および PCDF の慢性的影響が示唆された。

## 総 括

2009 年度福岡県油症一斉検診の受診者 200 例（認定患者 139 例、未認定患者 61 例）において PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応を測定した。油症患者において対照者に比べ PHA によるリンパ球幼若化反応の低下を認めた。そして、血中 PCB 濃度と PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の間に負の相関を認め、血中 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度と PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の間に負の相関を認めた。さらに、血中 PCB 濃度あるいは 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF 濃度が高値の油症患者においては PHA および Con A によるリンパ球幼若化反応の低下を認め、油症患者において細胞性免疫に対する PCB および PCDF の慢性的影響が示唆された。

## 参 考 文 献

- 1) Masuda Y and Yoshimura H : Polychlorinated biphenyls and dibenzo-furans in patients with Yusho and their toxicological significance : A Review. Amer. J. Ind. Med. 5 : 31-44, 1984.
- 2) Oishi S, Morita M and Fukuda H : Comparative toxicity of polychlorinated biphenyls and dibenzofurans in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 43 : 13-22, 1978.
- 3) Gonzalez FJ, Liu SY and 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, Kitaga-

- wa H, Yamamoto Y, Nohara K, Tohyama C, Krust A, Mimura J, Chambon P, Yanagisawa J, Fujii-Kuriyama Y and 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.
- 13) Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G and Schlossman SF : A monoclonal antibody reactive with the human cytotoxic/suppressor T cell subset previously defined by a heteroantiserum treated TH2. *J. Immunol.* 124 : 1301-1307, 1980.
- 14) Reinherz EL, Kung PC, Goldstein G and Schlossman SF : Separation of functional subsets of human T cells by a monoclonal antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 : 4061-4065, 1979.

(Received for publication March 17, 2011)