

平成 21 年 6 月 13 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790431

研究課題名 (和文) アスベスト長期曝露のNK細胞活性化制御機構への影響

研究課題名 (英文) Effect of long-term exposure to asbestos
on the activating system of NK cells

研究代表者

西村 泰光 (NISHIMURA YASUMITSU)

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：90360271

研究成果の概要：

抗腫瘍免疫を担うNK細胞機能へのアスベスト曝露の影響について調べた。培養実験と患者NK細胞の機能解析より、アスベスト曝露がNK細胞機能低下に関わることが示された。悪性中皮腫患者末梢血中のNK細胞の細胞傷害性および活性化に関わる受容体NKp46発現量が低下していること、アスベスト曝露下培養後のNK細胞で同じようにNKp46発現低下が見られることが明らかとなった。アスベスト曝露による抗腫瘍免疫抑制作用が示唆される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	0	1,700,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	450,000	3,650,000

研究分野：衛生学、免疫学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学健康科学

キーワード：アスベスト, NK細胞, 悪性中皮腫, NK細胞活性化受容体, NKp46, chrysotile

1. 研究開始当初の背景

アスベストの発癌性はよく知られていたが、その一方で生体防御系への影響は不明な点が多かった。実際、アスベスト曝露は悪性中皮腫の原因となるが、疾患発症までには曝露後約30年の長い潜伏期間が存在する。このことは、アスベスト曝露の発癌性以外の生体への曝露影響の存在を示唆した。

2. 研究の目的

抗腫瘍免疫を担うNK細胞機能へのアスベスト曝露の影響を調べることを目的として、各

種培養実験および悪性中皮腫患者NK細胞の機能解析を行った。特に、NK細胞の細胞膜上で標的細胞の認識と活性化に関わるNK細胞活性化受容体群の発現量へのアスベスト曝露影響について注目し、解析を行った。

3. 研究の方法

(1) アスベストなどの鉱物繊維

クリソタイルB (CB) を用いた。また、人工鉱物繊維としてガラスウールを用いた。

(2) 細胞と培養

ヒトNK細胞株、YT-A1細胞をCB 5µg/ml 曝露

下で長期間培養を行いYT-CB5 亜株を作成し、対象亜株 YT-0rg と比較した。また末梢血単核球(PBMC)を IL-2 添加培養条件で CB 5µg/ml に 6 日間曝露した。悪性中皮腫患者末梢血より PBMC を調節し機能解析を行った。

(3)細胞傷害性

K562 細胞を標的細胞としてフローサイトメトリー (FCM) を用いて YT-CB5, YT-0rg または PBMC の細胞傷害性を測定した。

(4)NK 細胞活性化受容体発現量の測定

蛍光標識抗体と FCM を用いて、YT-CB5, YT-0rg または PBMC 中 NK 細胞の NKp46 等の NK 細胞活性化受容体発現量を測定した。

(5)活性化に伴う脱顆粒の測定

NK 細胞が標的細胞を傷害する際の脱顆粒は蛍光標識抗体と FCM を用いて測定できる。刺激後の YT-CB5, YT-0rg における脱顆粒を測定した。

4. 研究成果

(1)研究の主な成果

- ① アスベスト長期曝露が NK 細胞の NK 細胞活性化受容体発現量に影響し、細胞傷害性を低下させることが分かった。アスベスト曝露下で培養を続けた YT-CB5 では YT-0rg と比べて細胞傷害性が低く、一部の NK 細胞活性化受容体発現量が低下していることが分かった。また、細胞傷害に関わる脱顆粒現象の低下も確認された。
- ② 悪性中皮腫患者の末梢血 NK 細胞の細胞傷害性は健常人と比べ低いことが分かった。また、悪性中皮腫患者では NK 細胞上の NKp46 に特徴的な発現低下が見られることが分かった。
- ③ 末梢血より調製した PBMC をアスベスト曝露下で培養したところ、培養後 PBMC 中の NK 細胞では対照培養と比べ NKp46 発現量が低いことが明らかとなった。この発現低下はアスベスト代替品の人工鉱物繊維であるグラスウールでは見られなかった。
- ④ 以上より、アスベスト曝露が NK 細胞の細胞傷害性を低下させること、悪性中皮腫患者 NK 細胞では細胞傷害性が低く特徴的な NKp46 発現低下がみられること、アスベスト曝露は NKp46 発現抑制作用があることが明らかとなった。

(2)得られた成果の国内外における位置づけとインパクト

- ① アスベスト曝露の抗腫瘍免疫機能への抑制作用について、このような細胞膜上受容体発現量に注目し活性化制御機構への作用にまで言及した研究内容は、国内外を問わず皆無である。従って、本研究成果は、初めてアスベスト曝露と NK 細胞機能抑制との関わりを具体的に示すものであり、アスベスト関連発癌、中でも悪性中皮腫の発

症機構解明に寄与するものだと考えられる。

- ② 本研究成果より示される、悪性中皮腫患者とアスベスト曝露条件に共通した NK 細胞上 NKp46 発現低下は、NKp46 発現量評価が悪性中皮腫予防指標として、またはアスベスト曝露者における免疫機能評価指標として利用できる可能性を示唆する。NKp46 発現量評価は、アスベスト被曝者における癌疾患発症リスクのモニタリングを可能にするかもしれない。

(3)今後の展望

- ① 悪性中皮腫患者だけでなく胸膜プラーク陽性者の NK 細胞の NKp46 発現量解析を行い比較することで、本研究成果の内容が更に高まると考えられる。また、アスベスト曝露歴の有無で群分けした肺癌患者における NK 細胞機能解析を行うことも重要であり、その成果しだいでは肺癌患者の中からアスベスト関連肺癌患者を抽出することが可能となるかもしれない。
- ② アスベスト曝露による NKp46 発現抑制作用のメカニズム解明を行う。NKp46 発現抑制は遺伝子レベルおきているのか、転写因子など遺伝子発現に関わる分子の抑制作用は存在するか、エピジェネティック遺伝子発現制御は関係しているか、などについて調べる。それらの研究結果は、悪性中皮腫予防だけでなく、その治療に結びつく情報を提供し、大きな意義を持つと予想され、そのような意味でも本研究成果は、大きな意義を持つものであると言える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Nishimura Y, Miura Y, Maeda M, KUmagai N, Murakami S, Hayashi H, Fukuoka K, Nakano T, Otsuki T. Impairment in cytotoxicity and expression of NK-cell activating receptors on human NK cells following exposure to asbestos fibers. Int J Immunopathol Pharmacol (in press)、査読有り
- ② Murakami S, Nishimura Y, Maeda M, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Kusaka K, Kishimoto T, Otsuki t. Cytokine alteration and speculated immunological pathophysiology in silicosis and asbestos-related diseases. Environ Health Prev Med (in press)、査読有り
- ③ Miura Y, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Hayashi H, Fukuoka K, Kishimoto T,

- Nakano T, Otsuki T. Immunological alterations found in mesothelioma patients and their experimental evidences. *Environ Health Prev Med* 13: 55-59, 2008、査読有り
- ④ Maeda M, Miura Y, Nishimura Y, Murakami S, Hayashi H, Kumagai N, Hatayama T, Katoh M, Miyahara N, Yamamoto S, Fukuoka K, Kishimoto T, Nakano T, Otsuki T. Immunological changes in mesothelioma patients and their experimental detection. *Clin Med: Circ, Resp Pulm Med* 2008. 2. 11-17.、査読有り
- ⑤ 西村泰光, 前田恵, 村上周子, 熊谷直子, 林宏明, 大槻剛巳. アスベスト関連疾患の発症機構—悪性中皮腫を中心として—. *Surgery Frontier* 15(2), 8-13, 2008、査読無し
- ⑥ 村上周子, 前田恵, 林宏明, 西村泰光, 大槻剛巳. 大気環境汚染による肺疾患. 日本臨床別冊 呼吸器症候群 (I) —その他の呼吸器疾患を含めて— 2008. 593-596.、査読無し
- ⑦ Otsuki T, Miura Y, Maeda M, Hayashi H, Dong M, Nishimura Y. Keynote lecture in the 13th Japanese Society of Immunotoxicology (JSIT 2006) --- Pathophysiological Development and Immunotoxicology: what we have found from the researches related to the silica and silicate such as asbestos---. *Environ Health Prev Med* 2007, 12(4): 153-164、査読有り
- ⑧ Otsuki T, Miura Y, Hyodoh F, Maeda M, Hayashi H, Dong M, Katsuyama H, Tomita M, Ueki A, Nishimura Y. Keynote lecture in the 13th Japanese Society of Immunotoxicology (JSIT 2006) --- Pathophysiological Development and Immunotoxicology: what we have found from the researches related to the silica and silicate such as asbestos---. *Kawasaki Med J* 2007, 33(3):165-179、査読有り
- ⑨ Otsuki T, Maeda M, Murakami S, Hayashi H, Miura Y, Kusaka M, Nakano T, Fukuoka K, Kishimoto T, Hyodoh F, Ueki A, Nishimura Y. Immunological effects of silica and asbestos. *Cell Mol Immunol* 2007, 4(4):261-8、査読有り
- ⑩ 大槻剛巳, 前田恵, 林宏明, 董茂龍, 三浦由恵, 西村泰光. アスベストの生態影響に関する研究について. *安全医学 (Journal of Medical Safety)* 3(2): 92-103, 2007、査読無し
- ⑪ 大槻剛巳, 前田恵, 三浦由恵, 兵藤文則, 植木絢子, 村上周子, 林宏明, 勝山博信, 富田正文, 西村泰光. 珪酸・アスベストの免疫系への影響. *日本職業災害医学学会誌* 55(3): 113-120, 2007、査読有り
- [学会発表] (計 10 件)
- ① 西村泰光, 前田恵, 熊谷直子, 村上周子, 林宏明, 陳瑩, 岸本卓巳, 大槻剛巳. 石綿曝露による NK 細胞上 NKp46 発現抑制機構の解析, 及び石綿関連疾患患者群間での NKp46 発現量の比較. 第 79 回日本衛生学会総会. 2009. 3. 30-4... 北里大学白金キャンパス
- ② 西村泰光. アスベスト曝露の NK 細胞・CTL 機能への抑制的影響、NKp46 の悪性中皮腫予防分子指標の可能性. 第 79 回日本衛生学会総会. 分子予防環境医学研究会シンポジウム「労働環境衛生への分子医学的アプローチ」. 2009. 3. 30. 北里大学白金キャンパス
- ③ Nishimura Y, Maeda M, Kumagai N, Murakami S, Hayashi H, Kishimoto T, Fukuoka K, Nakano T, Otsuki T. Suppressive effect of asbestos-exposure on cytotoxicity of human NK cells, and the possibility of NKp46 as a marker to monitor immune status in people exposed to asbestos. 第 2 回日中石綿シンポジウム, New Century Zhijiang Resort Hangzhou, Hangzhou, China 2009. 4. 17-18.
- ④ 西村泰光, 前田恵, 熊谷直子, 村上周子, 林宏明, 陳瑩, 岸本卓巳, 大槻剛巳. 悪性中皮腫予防分子指標としての NK 細胞上 NKp46 発現量低下の検討、および石綿曝露後 NKp46 発現抑制機構の解析. 第 82 回日本産業衛生学会 2009. 5. 20-22. 福岡国際会議場
- ⑤ 西村泰光, 前田恵, 村上周子, 熊谷直子, 林宏明, 三浦由恵, 大槻剛巳. 石綿曝露培養後の末梢血 NK 細胞における NKp46 発現低下および石綿曝露 NK 細胞亜株 YT-CB5 における ERK リン酸化低下. 2008. 3. 28-31. 第 78 回日本衛生学会総会. 熊本市民会館
- ⑥ 西村泰光, 前田恵, 熊谷直子, 村上周子, 林宏明, 三浦由恵, 岸本卓巳, 大槻剛巳. 悪性中皮腫患者の NK 細胞機能低下における加齢と石綿曝露の関連性の検討. 日本基礎老化学会第 31 回大会. 長野県松本文化会館国際会議室. 2008. 6. 12-13.
- ⑦ 西村泰光, 前田恵, 村上周子, 林宏明, 三浦由恵, 大槻剛巳. 悪性中皮腫患者末梢血 NK 細胞と符合する石綿曝露培養後 NK 細胞上の NKp46 発現低下. 第 81 回日本産業衛生学会. 2008. 6. 25-27. 札幌コンベンションセンター
- ⑧ 西村泰光, 前田恵, 熊谷直子, 村上周子, 林宏明, 陳瑩, 三浦由恵, 岸本卓巳, 大槻剛巳. 悪性中皮腫患者 NK 細胞および石綿

曝露後ヒト PBMC 中 NK 細胞に共通する NKp46 発現量の低下. 第 15 回日本免疫毒性学会学術大会. タワーホール船堀. 2008. 9. 11-12.

- ⑨ 西村泰光, 前田恵, 村上周子, 熊谷直子, 林宏明, 三浦由恵, 岸本卓巳, 大槻剛巳. 悪性中皮腫患者 NK 細胞における NKp46 発現量低下と細胞傷害性低下の相関性. 第 49 回日本肺癌学会総会. 西日本総合展示場/北九州国際会議場. 2008. 11. 13-14.
- ⑩ NISHIMURA Yasumitsu, MAEDA Megumi, KUMAGAI Naoko, MURAKAMI Shuko, HAYASHI Hiroaki, OTSUKI Takemi. 悪性中皮腫患者末梢血中に観察されアスベスト曝露下で誘導される NK 細胞上 NKp46 発現低下/Decreased expression of NKp46 on NK cells in peripheral blood of patients with malignant mesothelioma and in PBMCs cultured under exposure to asbestos. 第 38 回日本免疫学会学術集会. 京都国際会館. 2008. 12. 1-3.

[図書] (計 2 件)

- ① Otsuki T, Maeda M, Miura Y, 林 H, Murakami S, Kumagai N, Nishimura Y. Immunological effects of Asbestos. In Asbestos: Risks, Environment and Impact. Eds: Antonio Soto and Gael Salazar, ISBN 978-1-60692-053-4, © 2009 Nova Science Publishers, Inc. 2009 (in press)
- ② 林宏明, 西村泰光, 前田恵, 大槻剛巳. アスベスト—シス. In 炎症・再生医学事典. 編: 松島綱治, 西脇徹. pp 269-271. 朝倉書店, 東京, 2009 (ISBN978-4-254-30099-4 C3547)

[産業財産権]

○出願状況 (計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計◇件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西村 泰光 (NISHIMURA YASUMITU)
川崎医科大学・医学部・講師
研究者番号: 90360271

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: