

平成 22 年 2 月 24 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）  
研究期間：H19 年度～H20 年度  
課題番号：19890253  
研究課題名（和文） 免疫担当細胞のアスベスト曝露と腫瘍進展メカニズムの解析  
研究課題名（英文） Analysis of relationship between exposure to asbestos on immunocompetent cells and mechanisms of asbestos-induced tumor progression  
研究代表者  
村上周子（Shuko Murakami）  
川崎医科大学衛生学・助教  
研究者番号：50454848

研究成果の概要（和文）：アスベストの低濃度長期曝露が免疫担当細胞に、腫瘍免疫の減弱を惹起して、アスベスト曝露症例における腫瘍発生の下地を形成することを想定して実験モデルの構築と症例による検討を行った。細胞株モデルでは、抑制性サイトカイン IL-10 の産生亢進と、免疫反応活性化サイトカインの IFN $\gamma$  の低下が観察されたが、症例でのサイトカイン産生ではおそらく腫瘍細胞が産生する IL-6 の高値が悪性中皮腫症例で認められたのみであった。

研究成果の概要（英文）：The establishment of in vitro model using cell line for long-term and low-dose exposure model to asbestos on immunocompetent cells and immunological assessment of cases exposed silica, and asbestos were performed. Although increased production of IL-10, which is known as immune-suppressive cytokine, and decreased production of IFN $\gamma$ , which is immune-activating cytokine, were observed by in vitro model, the serum concentration of various cytokines from silicosis and asbestos-exposed patients did not show any apparent difference among these groups except high IL-6 (probably produced by tumor cells) in mesothelioma patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
H19 年度	1,320,000	0	1,320,000
H20 年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,670,000	405,000	3,075,000

研究分野：衛生学

科研費の分科・細目：7101

キーワード：アスベスト、細胞増殖、転写因子、アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

アスベスト吸引を原因とする健康障害がアスベスト取扱工場作業員のみならず、家族や周辺住民にも生じることが報道され、平成 17 年以来、社会問題となった。医学的には 30

年近く前から知られていた事実であるが、その対策は、アスベスト起因性悪性腫瘍の症例数が希少であることもあって、なかなか十分な対応がなされていなかった。一方、アスベストの化学的構造のコアである珪酸 (SiO<sub>2</sub>)

の曝露例である珪肺症例では、呼吸器障害以外に免疫系が侵され、自己寛容の破綻によって慢性関節リウマチや強皮症などの自己免疫疾患が生じることが知られている。そこで、珪酸の金属塩であるアスベストにおいても免疫担当細胞が繫留したアスベストとリンパ節などで邂逅することによって、慢性低濃度長期曝露を受けることにより、何らかの変化が生じるのではないかと考え、かつ、前述の様にアスベスト曝露症例での合併症が悪性中皮腫などの癌であることを鑑みると、そこには腫瘍免疫の減衰が生じている可能性が想定できる。

## 2. 研究の目的

アスベストの免疫担当細胞への低濃度長期曝露のモデルを構築し、そこで得られた免疫担当細胞の変化が、腫瘍免疫に関連するのではないかと考え、その検証を行う。

## 3. 研究の方法

従来、研究者が在籍している川崎医科大学衛生学では、*in vitro* 実験モデルとして HTLV-1 不死化多クローン性ヒト T 細胞株：MT-2 (MT-2Org)を用いて、アスベスト（クリソタイル=白石綿）の低濃度長期曝露モデル (MT-2Rst) を構築してきた。

これらの細胞株を用いて、アスベスト曝露によって観察される変化を、主に細胞増殖、アポトーシス、サイトカイン産生などに着目して検討し、加えて、これらの結果と、実際のヒトでのアスベストや珪酸の曝露の例である珪肺症 (SIL: Silicosis) 例、胸膜プラーク (PP; Pleural Plaque) 保有者、悪性中皮腫 (MM: Malignant Mesothelioma) 症例ならびに健常人 (HD; Healthy Donor) のデータと比較検討した。

これによって、アスベスト曝露が腫瘍発生の母地を形成するかどうかを検討することを試みた。

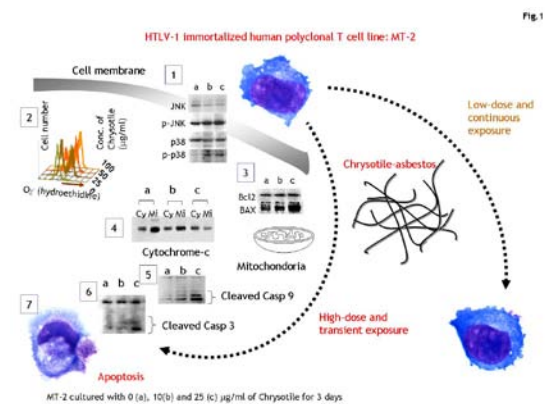
## 4. 研究成果

MT-2 細胞に対してアスベストの一過性高濃度曝露をした際には、肺胞上皮細胞や胸膜中皮細胞での報告が見られるように、ミトコンドリア系アポトーシス経路の活性化、活性酸素種の産生、DNA 障害などによりアポトーシスが生じる。

そこで、本 MT-2 細胞株が、一過性高濃度曝露でも、1/3 以下の細胞群しかアポトーシスが生じない濃度で、8 か月以上低濃度長期曝露を継続したところ、毎月、曝露中のアス

ベストから細胞をリリースした後に、更に一過性高濃度曝露を行うとアポトーシスが非常に生じにくい細胞株 (亜株) となってきた。

この細胞の特徴は、Src ファミリーキナーゼの抑制物質で減弱させられる IL-10 産生の亢進、その下流のシグナル伝達分子、STAT3

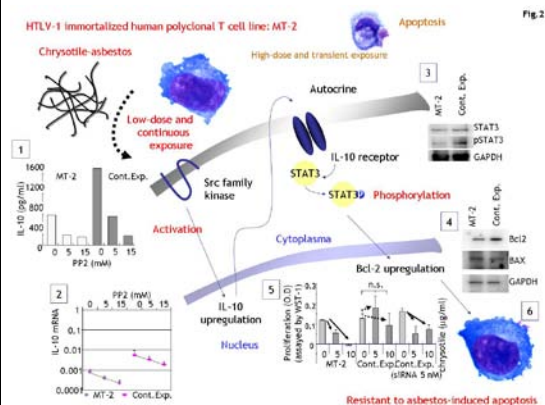


のリン酸化、そして、STAT3 の下流に存在することが報告されている抗アポトーシス分子 BCL-2 の高発現であり、これらの結果から、アスベスト誘導アポトーシスに抵抗性を獲得してきたと、判断された。

IL-10 の高産生は、従来、免疫反応に対して抑制的に本サイトカインが作用すると捉えられているために、例えば、腫瘍免疫をも減弱させる可能性がある。

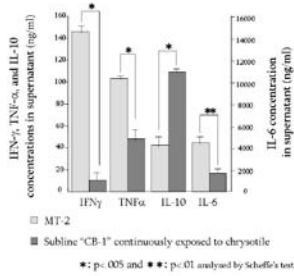
これらの結果を受けて、その他サイトカイン産生の比較を行った。

その結果、IL-10 以外の IFN $\gamma$ 、IL-6 そし



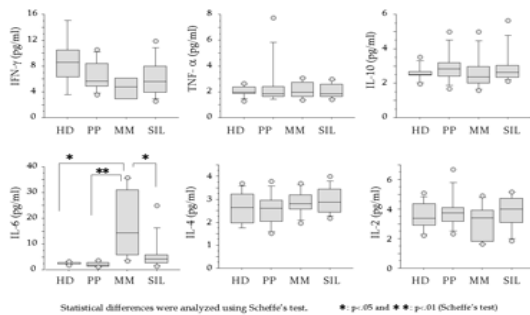
て TNF $\alpha$  などは元の株 (MT-0rg = アスベストに接触していない細胞) と長期曝露株 (MT-2Rst) の比較では、これらのある免疫を賦活するように作用するサイトカイン群は、アスベスト曝露株で低値となることが判明した。

Fig. 2 Murakami



そこで実際の症例について、いくつかのサイトカイン測定を実施した。

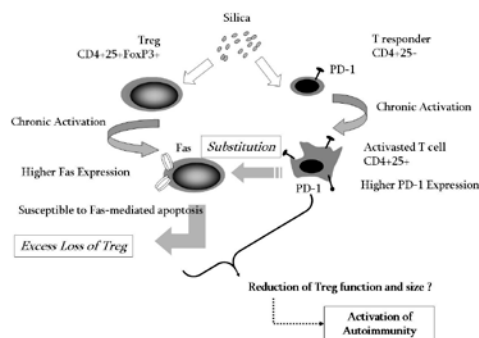
残念ながら細胞株で得られた IL-10 については、十分な群間の差は得られなかったが、興味深いことに、そして細胞株の動態と同様に IFN $\gamma$  は MM 症例で低値の傾向 (症例数が少なく有意差には至らなかった), IL-6 は (お



そらくは腫瘍細胞自体が産生している可能性があるが) MM 例で高値であった。一方、これも症例数の関係で統計学的な有意差には至らなかったが、珪肺症例では IL-2 の高値傾向、MM 例での IL-2 の低値傾向も観察された。

珪肺症例は前述の様に、珪酸曝露が免疫担当細胞を活性化することが考えられ、川崎医科大学衛生学で、その観点で、反応性 T 細胞の慢性活性化と、制御性 T 細胞に対する慢性

Fig. 3 Murakami



活性化が FAS 分子の活性化を通じて制御性 T 細胞の早期喪失を惹起する可能性を検討し

ていることに、合致する所見とも考えられた。

これらのことより、免疫担当細胞へのアスベスト低濃度長期曝露が明らかに腫瘍免疫を減衰させる指標として明白なものとは得られなかったが、IFN $\gamma$  の産生低値や、IL-10 の高値は、他の因子やサイトカインなどを介して、腫瘍免疫の減衰につながる可能性もあり、今後の検討課題と考えられた。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

1. 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* 14(4): 216-222, 2009
2. 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* 2009 Jul-Sep;22(3):579-90
3. Hayashi H, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Chen Y, Hatayama T, Katoh M, Miyahara N, Yamamoto S, Yoshida Y, Nishimura Y, Kusaka M, Fujimoto W, Otsuki T. Soluble interleukin-2 receptor as an indicator of immunological disturbance found in silicosis patients *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009 Jan-Mar;22(1):53-62
4. Hayashi H, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Chen Y, Kusaka M, Uragami K, Fujimoto W, Otsuki T. Is soluble CD40 ligand an indicator of immunopathological disturbance in silicosis patients? *Kawasaki Med J* 35(2): 129-138, 2009
5. 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
6. 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.
7. Miura Y, Ishibashi T, Tatsukawa T, Maeda M, Murakami S, Nishimura Y, Kumagai N, Hayashi H, Ying C, Hyodo F, Kojima S, Fujii M, Morimoto K. Lifestyle and T-helper 1 and 2 related cytokines in healthy volunteers, Kawasaki Medical Journal 2008; 34(3), 171-177
  8. 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
  9. 林宏明, 三浦由恵, 前田恵, 村上周子, 熊谷直子, 西村泰光, 草加勝康, 大槻剛巳. 珪肺症例 CD4+25+分画における活性化T細胞の混入と制御性T細胞早期細胞死の可能性. 日本職業・環境アレルギー学会雑誌 15(2), 43-50, 2008
  10. 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.
  11. 熊谷直子, 西村泰光, 前田恵, 村上周子, 林宏明, 陳瑩, 平野靖史郎, 大槻剛巳. 新しい環境中物質, 繊維・粒子状物質による生体影響へのアプローチ—シンポジウム「日本臨床環境医学の近未来」によせて—. 臨床環境医学 17: 83-94, 2008
  12. 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 4(4):261, 2007,
  13. 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. 日本職業災害医学会誌 55(3): 113-120, 2007

[学会発表] (計 8 件)

1. 村上周子, 前田恵, 三浦由恵, 西村泰光, 熊谷直子, 林宏明, 大槻剛巳. ヒトポリクローナル T 細胞株のアスベスト誘導アポトーシス抵抗性亜株における転写因子に関する検討. 第 78 回日本衛生学会総会. 熊本市民会館. 2008. 3. 28-31.
2. Otsuki T, Maeda M, Murakami S, Miura Y, Kumagai N, Chen Y, Hayashi H, Nakano T, Fukuoka K, Kishimoto T, Nishimura Y. Immunotoxicological effects of asbestos on human T cells. The 48th Society of Toxicology (USA). Baltimore Convention Center in

- Baltimore, Maryland. 2009. 3. 5-19.
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. Otsuki T, Maeda M, Murakami S, Hayashi H, Kumagai N, Miura Y, Chen Y, Kuribayashi K, Fukuoka K, Kishimoto T, Nakano T, Nishimura Y. Immunological changes in mesothelioma patients and their experimental detection. Inetrnational Mesothelioma Interest Group. Congress 2008. Amsterdam. 2008. 9. 25-27.
  5. Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Hayashi H, Miura Y, Fukuoka K, Nakano T, Otsuki T. Impairment in cytotoxicity and expression of NK-cell activating receptors on human NK cells caused by exposure to asbestos fibers. Inetrnational Mesothelioma Interest Group. Congress 2008. Amsterdam. 2008. 9. 25-27.
  6. Maeda M, Nishimura Y, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Ying C, Miura Y, Nakano T, Kishimoto T, Otsuki T. Down-regulation of chemokine receptor CXCR3 in peripheral T lymphocytes from patients with asbestos-related disease. Inetrnational Mesothelioma Interest Group. Congress 2008. Amsterdam. 2008. 9. 25-27.
  7. Hayashi H, Miura Y, Maeda M, Murakami S, Nishimura Y, Kusaka M, Fujimoto W, Otsuki T. Reduced function of the peripheral CD4+25+ fraction in silicosis patients exposed to environmental factors for SSc. The 5th International Investigative Dermatology. 国立京都国際会館. 2008. 5. 14-17.
  8. Otsuki T, Maeda M, Miura Y, Murakami S, Hayashi H, Nishimura Y, Kuribayashi K, Fukuoka K, Nakano T. Immunological effects of asbe4stos. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Pacifica Yokohama. 2007. 10. 3-5.

[図書] (計 2 件)

1. Otsuki T, Maeda M, Miura Y, Hayashi 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
2. Otsuki T, Takahashi K, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chne Y, Miura Y, Shirahama T, Yoshimatsu M, Morimoto K. Establishment of Negatively-charged Indoor Air Conditions and their Biological Effects. In Buildings and the Environment. Authors / Editors: Jonas Nemecek and Patrik Schulz . Pub. Date: 2009 4th Quarter ISBN: 978-1-60876-128-9 © 2009 Nova Science Publishers, Inc. 2009

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

川崎医科大学衛生学の HP に研究概要と業績を紹介している。

<http://www.kawasaki-m.ac.jp/hygiene/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

村上周子 (Shuko Murakami)

川崎医科大学衛生学・助教

研究者番号：50454848