

令和 7 年 6 月 23 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H03887

研究課題名(和文) 鉱物油のT細胞に与える影響についての研究

研究課題名(英文) A study on the effects of mineral oil on T cells

研究代表者

黒田 嘉紀 (KURODA, YOSHIKI)

宮崎大学・国際連携機構・客員教授

研究者番号：50234620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：鉱物油の自己抗体誘導能については、炭素数16、17、18のHexadecane、Heptadecane、Octadecaneが最も強いことが示唆され、その誘導にT細胞表面レセプターであるPD-1およびCTLA-4の発現低下が関与する可能性も示唆された。PD-1およびCTLA-4のモノクローナル抗体を使用した抗腫瘍剤が使用され、副作用として自己免疫疾患様の症状を示すことが指摘されているが、本研究も同様の現象を示すものと考えられた。ただし鉱物油投与で、PD-1およびCTLA-4の発現が低下するメカニズムは不明であり、今後のさらなる研究が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鉱物油は日常生活で広く多用されている。この鉱物油の免疫影響を研究することで、世の中で汎用されている鉱物油の使用方法について新たな示唆を与えるものである。また今回の研究でパタフィンおよびミネラルオイルの安全性も一部証明できたことは意義あることと思われる。ただしまだまだ鉱物油による自己抗体誘導にはわからない点が多いことからさらなる研究が必要であることも明白である。

研究成果の概要(英文)：Regarding the autoantibody induction ability of mineral oils, it was suggested that hexadecane, heptadecane, and octadecane with carbon numbers 16, 17, and 18 were the strongest, and it was also suggested that the induction may be related to the decreased expression of T cell surface receptors PD-1 and CTLA-4. It has been pointed out that antitumor agents using monoclonal antibodies against PD-1 and CTLA-4 show autoimmune disease-like symptoms as side effects, and this study was thought to show a similar phenomenon. However, the mechanism by which the expression of PD-1 and CTLA-4 is decreased by the administration of mineral oil is unknown, and further research is needed in the future.

研究分野：公衆衛生

キーワード：自己抗体 鉱物油 マウス

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日常生活にはあらゆる化学物質が使用されている。鉱物油もその1つで、設備機器等の潤滑剤や医薬品、化粧品の成分あるいは果実用のワックスやパラフィンとして使用されている。これらの製品を通して人は鉱物油に頻繁に曝露されている。しかし現在、鉱物油の影響についてはほとんど研究されていない。そんな中、鉱物油の1つであるプリステンが自己抗体を誘導することを1995年に Satoh らが報告(1)し、鉱物油の潜在的危険性(免疫学的影響)が指摘された。研究代表者は Satoh らの研究を参考にして、便秘薬として使用されている鉱物油が自己抗体を誘導することをマウスで報告した(2)。この自己抗体誘導のメカニズムとして T 細胞の CD3 ゼータの減少が関係していることもわかった。しかしまだまだ不明な点が多く、本研究では鉱物油の成分である種々の鎖式飽和炭化水素の自己免疫発現について検討する。

(1)M. Satoh, A. Kumar, Y.S. Kanwar, W.H. Reeves, Anti-nuclear antibody production and immune-complex glomerulonephritis in BALB/c mice treated with pristane, Proc Natl Acad Sci U S A, 92 (1995) 10934-10938.

(2)Y. Kuroda, J. Akaogi, D.C. Nacionales, S.C. Wasdo, N.J. Szabo, W.H. Reeves, M. Satoh, Distinctive Patterns of Autoimmune Response Induced by Different Types of Mineral Oil, Toxicol Sci, (2004).

eritoneal injection of n-hexadecane in BALB/c mice, Toxicology, 218 (2006) 186-196.

2. 研究の目的

本研究の目的は鉱物油による自己抗体誘導について、そのメカニズムを解析することである。研究代表者は鉱物油の分子量によって自己抗体誘導能に差があることを報告し、分子量がメカニズムに関与している可能性を指摘している(2)。自己免疫疾患発症には T 細胞が関与していることがわかっていることから、本研究では T 細胞に着目し、鉱物油投与における自己抗体誘導について検討した。

3. 研究の方法

各種鎖式飽和炭化水素(プリステンを含む)0.5mlを3ヶ月齢 BALB/c マウス腹腔内に投与する。3ヶ月後に血清と脾臓細胞を採取し、以下の実験を行う。

投与する鎖式飽和炭化水素：**Dodecane, Tridecane, Tetradecane, Hexadecane, Heptadecane, Octadecane, Pristane, Paraffin, White mineral oil** とする

- 1) 採取血清を使用し、蛍光抗体法にて抗核抗体を測定し、ELISA 法により抗 DNA 抗体、抗 RNP 抗体、抗 Sm 抗体を測定する。
- 2) 摘出脾臓を使用し、単細胞化し、CD4、CD8、PD-1、CTLA-4 等 T 細胞および APC 細胞表面レセプター発現を FCM にて評価する。

【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

4. 研究成果

鉱物油による自己抗体誘導は、鉱物油の構造が DNA に類似しているからとする研究がある。鉱物油の成分は鎖式飽和炭化水素であり、分子量は含まれる炭素数に依存する。これまで、鉱物油の **Pristane** を投与し自己抗体が誘導されることは報告されている。**Pristane** は炭素数 **19** の化合物である。我々はこれまでの研究から分子量が小さいほど炎症反応は強く、自己抗体の発現率は高くなると考えていることから、炭素数 **12** の **Dodecane** から炭素数 **19** の **Pristane** までの鎖式飽和炭化水素、および炭素数 **30** 以上の鎖式飽和炭化水素の混合物である **Paraffin** と **White mineral oil** をマウス腹腔内に投与し自己抗体発現を検討した。

表 1 に各種鉱物油投与における自己抗体(抗核抗体、**dsDNA** 抗体、抗 **RNP** 抗体、抗 **Sm** 抗体)発現について **Immune fluorescence** 法および **ELISA** 法にて検討した結果を示す。

表 1 鉱物油投与における自己抗体発現率

	炭素数	抗核抗体 (IF)	dsDNA 抗体 mu/ml	抗 RNP 抗体	抗 Sm 抗体
Control(n=8)	-	12.5%	37.3	0%	0%
Paraffin(n=13)	-	15.4%	11.1	0%	0%
White mineral oil(n=12)	-	0%	5.6	0%	0%
Dodecane(n=11)	C12	27.3%	26.3	0%	8.3%
Tridecane(n=12)	C13	33.3%	8.9	8.3%	0%
Tetradecane(n=16)	C14	56.3%	22.4	6.3%	6.3%
Hexadecane(n=12)	C16	83.3%	28.6	0%	8.3%
Heptadecane(n=8)	C17	87.5%	35.5	62.5%	12.5%
Octadecane(n=15)	C18	93.3%	14.3	40.0%	6.7%
Pristane(n=9)	C19	66.7%	12.6	0%	0%

*: 蛍光抗体法にて測定

:ELISA** 法にて測定

抗核抗体では、**C16** の **Hexadecane**、**C17** の **Heptadecane** および **C18** の **Octadecane** の陽性率が高く、**Control**、**Paraffin**、**White mineral oil** の陽性率は低かった。抗 DNA 抗体である抗 **dsDNA** 抗体についても **C16** の **Hexadecane**、**C17** の **Heptadecane** が高値で、人の **SLE** の特異的自己抗体である抗 **RNP** 抗体、抗 **Sm** 抗体についても **C17** の **Heptadecane** の陽性率が最も高かった。当初予想していた、鉱物油の分子量が小さいほど自己抗体誘導能が高まるといふ予想は、必ずしも正しくなく、**C12**、**C13**、**C14** の鉱物油における自己抗体誘導は **Paraffin**、**White mineral oil** よりも高いものの、**C16**、**C17**、**C18** よりも低値であった。鉱物油の自己抗体誘導は、直鎖状の炭化水素の構造が DNA に類似しているからだとする、炭素数が少ない場合には、鎖状構造が短すぎて、DNA との類似性が希薄になるからだとも考えられるが、明確ではなくさらなる研究が必要と思われた。

自己抗体に関与している T 細胞について、各種細胞表面レセプターの発現について検討した。その中で、**PD-1** および **CTLA-4** レセプターについての検討結果を表 2 に示す。表 2 は両レセプター発現について、**FCM** を使用して評価した。

表 2 からわかるように、**Control**、**Paraffin**、**White mineral oil** 曝露マウスと比較して、他の鉱物油曝露マウスにおける **PD-1** および **CTLA-4** の発現細胞数が減少していることが確認できた。特に、表 1 で抗核抗体および抗 **dsDNA** 抗体が強く誘導されていた **Tetradecane**、

【1 研究目的、研究方法など(つづき)】

Hexadecane、Heptadecane、Octadecane については、両者ともに著しく低下していた。このことから、鉱物油による自己抗体誘導に PD-1 および CTLA-4 レセプターの関与が示唆

表2 各種曝露における PD-1 および CTLA-4 レセプター発現について

	PD-1 %(SD)	CTLA-4 %(SD)
Control	4.86(0.25)	7.82(2.42)
Paraffin	2.65(0.55)	2.77(1.24)
White mineral oil	6.17(1.52)	7.63(1.36)
Dodecane	2.25(0.19)	2.45(1.37)
Tridecane	2.91(0.13)	2.59(0.80)
Tetradecane	1.68(0.18)	1.64(0.66)
Hexadecane	1.41(0.40)	1.75(0.32)
Heptadecane	2.85(1.92)	2.95(1.07)
Octadecane	1.25(0.19)	1.49(0.24)
Pristane	2.21(1.07)	3.77(1.06)

され、両レセプターの発現が低下することで、免疫誘導にネガティブフィードバックがかからず、自己抗体を誘導する可能性が考えられた。ただしこのことを明確にするにはさらなる追加の研究が必要である。

結論

鉱物油の自己抗体誘導能については、炭素数 16、17、18 の Hexadecane、Heptadecane、Octadecane が最も強いことが示唆され、その誘導に T 細胞表面レセプターである PD-1 および CTLA-4 の発現低下が関与する可能性も示唆された。PD-1 および CTLA-4 のモノクローナル抗体を使用した抗腫瘍剤が使用され、副作用として自己免疫疾患様の症状を示すことが指摘されているが、本研究も同様の現象を示すものと考えられた。ただし鉱物油投与で、PD-1 および CTLA-4 の発現が低下するメカニズムは不明であり、今後のさらなる研究が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 YOSHIKI KURODA
2. 発表標題 Mineral oil could be a potential Immunological risk for factory workers (basic research)
3. 学会等名 ICOH (International Congress on Occupational Health) (国際学会)
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	日野浦 拓之 (HINOURA TAKUJI) (90801168)	宮崎大学・医学部・助教 (17601)	
研究分担者	佐藤 実 (SATO MINORU) (90162487)	産業医科大学・産業保健学部・訪問研究員 (37116)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------