

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09171

研究課題名(和文) 環境物質誘発性自己免疫疾患における免疫細胞分化機構の解析

研究課題名(英文) Immune cell polarization in autoimmune diseases caused by environmental particles

研究代表者

李 順姫 (Lee, Suni)

川崎医科大学・医学部・助教

研究者番号：70414026

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：珪肺症患者では、呼吸器病変に加え、高頻度で自己免疫疾患を発症する。珪肺症例全員が自己免疫疾患を併発するわけではなく、その全容は明らかではない。近年、感染症などが自己免疫疾患発症のきっかけになることが報告されており、本研究では、珪肺症での自己免疫疾患の発症メカニズムとして珪酸粒子の免疫動態に及ぼす影響を検討した。その結果、外来物質や病原菌の擬似物質(TLRリガンド)を珪酸と混合して免疫細胞に添加すると、添加するリガンドごとに異なる炎症性サイトカインの分泌パターンがあることを明らかにした。また、この時のヘルパーT細胞の分極を調べたところTLRリガンドごとに異なるT細胞構成になることをつきとめた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

珪肺症例において、ある種の感染や異物の侵入がある場合、免疫に関わる細胞が健常例とは違った動態をとることを示している。このことは、珪肺症例で自己免疫疾患に傾向する一つの原因に感染症などがあることを示唆する結果だと考える。

研究成果の概要(英文)：In addition to respiratory lesions, silicosis patients frequently develop autoimmune diseases. Since not all cases of silicosis present with autoimmune disease, there must be trigger factors. In recent years, infections have been reported to trigger autoimmune diseases. In this study, we examined the effect of silica particles on the immune cells in vitro to reveal the mechanism of autoimmune diseases development in silicosis. As a result, it was clarified that when a TLR ligand was mixed with silica particles and added to immune cells, there were different inflammatory cytokine secretion patterns depending on the added ligand. In addition, when polarization pattern of helper T cells was examined, it was found that different TLR ligands induce different T cell subtype configurations.

研究分野：衛生学

キーワード：珪肺症 自己免疫疾患

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

珪肺症は塵肺のひとつで、慢性的に珪酸 (SiO<sub>2</sub>) 粉塵を吸入することで肺が線維化し、進行すると慢性の呼吸不全をひきおこすことが知られている。特記すべき点は、この珪肺症患者においては多発性硬化症、リウマチ (Caplan 症候群)、強皮症などの自己免疫疾患を高頻度で合併する点である (Iannello S, Clin Rheumatol, 2002; Steenland K, Am J Ind Med, 1995)。我々は、自己免疫疾患未発症の珪肺症例を自己免疫疾患発症過渡期ととらえ、その免疫動態の変遷過程を明らかにすることで、自己免疫疾患における自己寛容の破綻、発症メカニズムを解明できるのではないかと考えている。

珪酸はアジュバント効果が高いことで知られており、従来、珪肺症患者における自己免疫疾患の併発もこのアジュバント効果によるものであると考えられてきた。しかし、我々は取り込まれた珪酸は長期にわたり体内に貯留し、循環リンパ球と遭遇・乖離を繰り返すことでアジュバント効果以外の慢性的な作用を免疫細胞に及ぼすと確信している。そこで当研究室においてはこれまでにT細胞に注目し珪酸の免疫学的影響を検討してきた。その結果、珪肺症例では制御性T細胞 (Treg) の機能的減弱と絶対数が減少することを明らかにした (Wu P, *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2006; Hayashi H, *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2010)。

### 2. 研究の目的

珪肺症例で頻繁に自己免疫疾患を合併することから、珪肺症例は自己免疫疾患の前段階、すなわち自己免疫疾患発症への過渡期と捉えることができるのではないかと考えた。本研究では、この前段階の免疫動態から自己免疫発症を誘導するきっかけを明らかにすることを目的としている。アウトプットとして、発症の予防法の確立、治療に難渋する自己免疫疾患の発症を早期発見するツールの開発などを目指している。

### 3. 研究の方法

- (1) 健常人由来樹状細胞への珪酸曝露により変化する、mRNA 発現、サイトカインを同定する。

珪酸曝露による免疫応答の最前線にいるのは樹状細胞であると考えられることから、これらへの珪酸の直接影響を遺伝子発現やサイトカイン分泌などで測る。

- (2) 樹状細胞への珪酸曝露が健常人由来 T 細胞の極性化 (Th バランス) に及ぼす影響を解析する。  
珪酸を添加した樹状細胞と T 細胞を混合培養することで T 細胞の極性化に及ぼす影響の解析を行う。

健常人由来樹状細胞へ珪酸曝露と同時に各種 Toll Like Receptor (TLR) リガンドを添加することで変化する mRNA、サイトカインを同定する。珪酸曝露により引き起こされる免疫応答が各種 TLR リガンド添加によってどのように変化するかを明らかにする。

### 4. 研究成果

- (1) 健常人末梢血由来T細胞および樹状細胞への珪酸曝露、TLR リガンド添加により変化する

mRNA、サイトカインの同定を行った。その結果、珪酸曝露下、ある種のTLRを加えると数種類の炎症性サイトカインの増減が検出された。この増減は珪酸とTLRリガンドの組み合わせで変わることも

明らかとなった。この結果は、珪酸曝露下で異なるTLR刺激が入ると、その応答も変わることを示したもので、外来の異物の侵入(感染)が珪肺症における自己免疫疾患発症へのきっかけになりうるという本研究の仮定を裏付けるものと考えている。

- (2) 珪酸曝露下で TLR 刺激がサイトカイン産生を規定しているかを探索した。その結果、ある種(2種類)の TLR リガンドは樹状細胞と CD4+ T 細胞の混合培養で、IL-6、IFN-g、G-CSF を増やし、また異なる TLR リガンドは IL-6、G-CSF、IL-1b を増やすという異なる反応を示した。また、別の TLR リガンドは珪酸があることにより、様々なサイトカイン産生が抑えていることが示された。この結果は、珪酸曝露下で異なる TLR 刺激が入ると、その応答も変わることを示しており、感染の原因によっては珪肺症における自己免疫疾患発症へのきっかけになりうるという本研究の仮定を裏付けるものと考えている。
- (3) 珪酸曝露下で TLR 刺激が Th バランスに与える影響調べた。その結果、大変興味深い結果が得られた。TLR1/2 と TLR4 リガンドは珪酸が無い時に比べ Th1 を増やし、TLR2 リガンドは Th1 および Th17 を、TLR3 および TLR7/8 リガンドは Th1 を大幅に減少させた。この結果は、珪肺症例において、ある種の感染や異物の侵入がある場合、免疫に関わる細胞が健常例とは違った動態をとることを示している。このことは、珪肺症例で自己免疫疾患に傾向する一つの原因に感染症などがあることを示唆する結果だと考える。

これらの結果から、珪酸粒子を免疫細胞に添加すると、明らかに無添加時に比べサイトカイン分泌が変わること、種々の TLR リガンド刺激でその応答も変わることに、さらに、免疫学的に疾患の発症につながる Th バランスも計算プラス TLR リガンドの組み合わせで異なることが明らかとなった。このことは、珪肺症例においては、何らかの外来因子によっては自己免疫疾患のスイッチとなることを示すものと考えられる。今後より詳細に調べることで、珪肺症における自己免疫疾患の合併を予防する戦略や、珪肺症に限らず、自己免疫疾患のリスクファクターを回避する方法を提案できると考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Lee S, Hayashi H, Kumagai-Takei N, Mastuzaki H, Yoshitome K, Nishimura Y, Uragami K, Kusaka M, Yamamoto S, Ikeda M, Hatayama T, Fujimoto W, Otsuki T	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical evaluation of CENP-B and Scl-70 autoantibodies in silicosis patients.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Exp Ther Med	6. 最初と最後の頁 2616-2622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2017.4331	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Lee S, Hayashi H, Mtsuzaki H, Kumagai-Takei N, Otsuki T	4. 巻 17
2. 論文標題 Silicosis and autoimmunity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Curr Opin Allergy Clin Immunol	6. 最初と最後の頁 78-84
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/ACI.0000000000000350	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Lee S, Honda M, Yamamoto S, Kumagai-Takei N, Yoshitome K, Nishimura Y, Sada N, Kon S, Otsuki T	4. 巻 20
2. 論文標題 Role of nephronectin in pathophysiology of silicosis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci. Special Issue "Macrophages in Inflammation 2019"	6. 最初と最後の頁 2581
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms20102581	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 李順姫、武井直子、西村泰光、吉留敬、大槻剛巳	4. 巻 58
2. 論文標題 結晶質シリカの生体影響について 自己寛容の破綻を中心に	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 労働衛生工学	6. 最初と最後の頁 39-44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Suni Lee
2. 発表標題 Clinical evaluation of CENP-B and Scl-70 autoantibodies in silicosis patients.
3. 学会等名 International Congress on Occupational Health (ICOH2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 李順姫
2. 発表標題 珪肺症における自己免疫疾患発症をもたらす増悪因子の検討
3. 学会等名 川崎医科大学学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 李順姫、本田真知子、山本祥子、幡山圭代、松崎秀紀、武井直子、吉留敬、西村泰光、今重之、大槻剛巳。
2. 発表標題 珪肺症血漿における細胞外マトリクス・ネフロネクチンの上昇。
3. 学会等名 第88回日本衛生学会学術年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 李順姫、山本祥子、幡山圭代、松崎秀紀、武井奈子、吉留敬、西村泰光、大槻剛巳
2. 発表標題 珪酸曝露下の免疫細胞におけるTLR刺激応答と自己免疫疾患関連分子の探索
3. 学会等名 第89回日本衛生学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 李順姫、武井直子、吉留敬、西村泰光、大槻剛巳
2. 発表標題 珪肺症と自己免疫疾患（日本免疫毒性学会合同シンポジウム：免疫毒性研究のポテンシャル）
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Lee S, Hayashi H, KUmagai-Takei N, Matsuzaki H, Yoshitome K, Sada N, Kusaka M, Uragami K, Nishimura Y, Otsuki T.	4. 発行年 2017年
2. 出版社 IntechOpen Limited, London, UK.	5. 総ページ数 13
3. 書名 Autoantibodies in Silicosis Patients: Silica-Induced Dysregulation of Autoimmunity	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 自己免疫異常の検査方法	発明者 大槻剛巳、西村泰光、李順姫	権利者 川崎医科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-192501	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	大槻 剛巳 (Otsuki Takemi) (40160551)	川崎医科大学・医学部・教授  (35303)	
研究分担者	西村 泰光 (Nishimura Yasumitsu) (90360271)	川崎医科大学・医学部・准教授  (35303)	