

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		珪酸ならびに珪酸塩 (特に石綿) のヒト免疫系への影響の解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis for the effects of silica and silicates, particularly asbestos, on human immune system			
研究氏代表名者	カナ CC	姓) オオツキ	名) タケミ	研究期間 B	2005 ~ 2006 年
	漢字 CB	大槻	剛巳	報告年度 YR	2007 年
	ローマ字 CZ	Otsuki	Takemi	研究機関名	川崎医科大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		川崎医科大学・衛生学 教授			
<p>概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)</p> <p>珪酸(SiO₂)曝露の症例である珪肺症では、呼吸器病変とともに自己免疫疾患の合併が知られている。即ち、珪酸は、ヒト免疫系に対して自己寛容の破綻をもたらすように影響する可能性がある。一方、珪酸をコアとして Mg, Fe, Ca などの金属塩を形成するアスベスト類の場合は、肺の繊維化とともに、悪性腫瘍の合併が着目されている。アスベスト曝露は肺胞上皮細胞や胸膜中皮細胞に悪性形質転換(癌化)をもたらすと思われるが、免疫系という観点で考察すると、腫瘍免疫の減衰が生じている可能性もあり、それが40年前後の潜伏期の後に、急速に増大、進展する悪性腫瘍の形成に影響していると思われる。腫瘍免疫とは云え、元来自己抗原に対する反応であると考え、珪酸の影響(自己抗原に対する反応が病的に亢進した状況)とアスベストの影響(その減衰)は、正反対の現象をもたらされているとも考えられ、その機構を明らかにすることによって、環境物質による免疫影響の解明とともに、アスベスト起因性悪性腫瘍の早期診断指標の発見や、予防標的の同定につながるのではないかと考えている。</p> <p>珪酸では、T細胞活性化の早期指標である CD69 分子の発現で観察してみると、珪酸は緩徐ながらT細胞を活性化させる。そして、活性化したT細胞は CD4+25+という表現形を持つようになる。果たしてこの表現形は自己抗原への反応を中心的に制御する制御性T細胞(Treg)細胞と同様であり、もし、末梢血の CD4+25+分画にこのような慢性活性化T細胞が混入し、かつこの分画の割合が変化していないとすると、本来のTreg細胞は減弱させられていることになり、この制御の阻害が自己反応を過剰にさせている可能性も考えられる。実際、珪肺症例の CD4+25+分画は、CD4+細胞の中での割合としても健常人から予測された年齢補正率より減少していたし、実際の末梢血 CD4+25+分画の Treg 機能は弱められていた。また、Treg 細胞では発現していず、慢性活性化 T 細胞で発現している PD-1 遺伝子も、珪肺症例ではこれらの分画で健常人と比し、相対的高発現となっていた。これらのことが相俟って、珪酸曝露により自己寛容の破綻が生じているのではないかと想定している。</p> <p>アスベストの場合では、アスベスト(クリソタイルを使用)を曝露し、細胞毒性について、十分な感受性を有する human T cell leukemia/lymphoma virus (HTLV)-1 不死化多クローン性 T 細胞株、MT-2、を用いて検討を行った。MT-2 細胞を用いた低濃度長期曝露モデルの作成は、短期曝露では軽度のアポトーシスや細胞増殖抑制を来さない濃度のクリソタイル 10 μg/ml で曝露を継続し、経時的に、クリソタイルから分離した後の高濃度曝露でのアポトーシスの出現具合を検討することで試行した。約8~12ヶ月経た段階で、長期曝露株ではアポトーシスの出現が非常に少なくなり増殖抑制も軽度である性質に移行した。そこで、この亜株をアスベスト誘導アポトーシス抵抗性亜株(MT-2Rst)と名付け、親株(MT-20rg)との性質の違いの検討に入った。その結果、MT-2Rst 細胞では、Src family kinase の活性化が生じ、下流にある IL-10 の遺伝子発現・産生が亢進され、元来 IL-10 受容体を有する MT-2 ではオートクリン機構によって、過剰産生となった IL-10 を利用し、下流のシグナル伝達経路である STAT3 のリン酸化を誘導、その下流に存在する抗アポトーシス蛋白 Bcl-2 の遺伝子・蛋白発現の増加がもたらされ、アスベスト誘導アポトーシス抵抗性が獲得されてきたと考えられた。Bcl-2 蛋白の重要性は、この遺伝子を siRNA 法によりサイレンスさせることにより、MT-2Rst 細胞が再びアスベスト誘導アポトーシスに感受性を回復することによって証明された。また、健常人、石綿肺(担癌状態でない症例)そして悪性中皮腫の症例の末梢血 CD4 陽性細胞における Bcl-2 発現が、悪性中皮腫症例でのみ他の 2 群に比して有意に亢進していることも確認され、アスベストの T リンパ球への作用、中でも低濃度長期曝露の影響が視えると考えている。また長期曝露株では、T細胞受容体も多様に発現亢進が認められ、これはアスベスト曝露の石綿肺症例や悪性中皮腫症例でも同様であった。このようなことから、アスベスト曝露と悪性中皮腫発生の早期診断指標の発見に近づいたと考えている。</p>					
キーワード FA	珪酸	アスベスト	免疫担当細胞	アポトーシス	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA						
研究機関番号 AC					シート番号						

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）注：図書欄を雑誌に変更									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Involvement of IL-10 and Bcl-2 in resistance against an asbestos-induced apoptosis of T cells.							
	著者名 ^{GA}	Miura Y et al	雑誌名 ^{GC}	Apoptosis					
	ページ ^{GF}	1825~1835	発行年 ^{GE}	2	0	0	6	巻号 ^{GD}	11(10)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Expression of the T cell receptor Vβ repertoire in a human T cell resistant to asbestos-induced apoptosis and peripheral blood T cells from patients with silica and asbestos-related diseases.							
	著者名 ^{GA}	Nishimura et al	雑誌名 ^{GC}	Int J Immunopathol Pharmacol					
	ページ ^{GF}	795~805	発行年 ^{GE}	2	0	0	6	巻号 ^{GD}	19(4)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Alterations of Fas and Fas-related molecules in patients with silicosis							
	著者名 ^{GA}	Otsuki T et al	雑誌名 ^{GC}	Exp Biol Med 231(5) : 522-33, 2006					
	ページ ^{GF}	522~533	発行年 ^{GE}	2	0	0	6	巻号 ^{GD}	231(5)
雑誌	論文標題 ^{GB}	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							
	著者名 ^{GA}	Otsuki T et al	雑誌名 ^{GC}	Environ Health Prev Med					
	ページ ^{GF}	153~164	発行年 ^{HD}	2	0	0	7	巻号 ^{GD}	12(4)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Immunological effects of silica and asbestos.							
	著者名 ^{GA}	Otsuki T et al	雑誌名 ^{GC}	Cell Mol Immunol					
	ページ ^{GF}	in press	発行年 ^{HD}	2	0	0	7	巻号 ^{GD}	in press

欧文概要 EZ

Silicosis patients (SILs) and patients who have been exposed to asbestos develop not only respiratory diseases but also certain immunological disorders. In particular, SIL sometimes complicates autoimmune diseases. In addition, malignant complications such as lung cancer and malignant mesothelioma often occur in patients exposed to asbestos, and may be involved in the reduction of tumor immunity.

Silicosis patients often reveal impaired autoimmunity. Higher *pd-1* (activated T cell (aT) marker) expression in peripheral CD4+25+ and 25- fractions in SIL than healthy donor (HD) indicates immixture of aT in SIL's peripheral CD4+25+ fraction. Higher surface Fas expression in CD4+25+FoxP3 regulatory T cells (Treg) in SIL than HD suggests SIL's Treg may sensitive to apoptosis. Thus, autoimmunity may excessively activated in SIL.

Regarding to the asbestos, in seeking a molecular target for the prevention of cancer progression induced by exposure to asbestos, it may be helpful to analyze the immunological effects of asbestos. An HTLV-1 immortalized polyclonal T cell line, MT-2 (MT-2Org), proceeded into apoptosis by a relatively higher concentration of chrysotile (CH). MT-2 cells were exposed to relatively lower concentrations of CH continuously. After 8 months, these cells acquired resistance to CH-induced apoptosis (MT-2Rst). The features of MT-2Rst when compared with those of MT-2Org were; 1) activation of Src-family kinases, 2) IL-10 overexpression and overproduction, 3) activation of STAT3 caused by autocrine utilization of IL-10, 4) activation of bcl-2, and 5) acquisition of resistance to chrysotile-induced apoptosis. Interestingly, peripheral CD4+ lymphocytes from patients with malignant mesothelioma, but not ones from healthy volunteers or patients with asbestosis, showed excess gene expression of bcl-2. Although at the initial-time point of MT-2Rst, there was a sole trial of continuous exposure to CH, we have since established five other MT-2Rst lines and all these lines showed resistance to CH-induced apoptosis.

Immunological analyses may lead to the development of new clinical tools for the modification of the pathophysiological aspects of diseases such as the regulation of autoimmunity or tumor immunity using cell-mediated therapies, various cytokines, and molecule-targeting therapies. In particular, as the incidence of asbestos-related malignancies is increasing and such malignancies have been a medical and social problem since the summer of 2005 in Japan, efforts should be focused on developing a cure for these diseases to eliminate nationwide anxiety.