

ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会：The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 13 No. 2 (通巻26号) 2008

目次

第15回日本免疫毒性学会学術大会報告 …… 1
国立医薬品食品衛生研究所 澤田 純一
第16回日本免疫毒性学会学術大会(予告1) … 1
旭川医科大学 吉田 貴彦
第15回大会 年会賞
原爆被爆者における加齢に関連した炎症指標の 上昇と放射線被曝の影響 …… 2
放射線影響研究所 林 奉権 ほか
第15回大会 奨励賞
日本人におけるスティーブンス・ジョンソン症候 群及び中毒性表皮壊死症と相関するHLAタイプの 探索 (第一報) …… 5
国立医薬品食品衛生研究所 斎藤嘉朗 ほか
免疫毒性学を志す若き研究者へ …… 6
東京慈恵会医科大学名誉教授 清水英佑
シリーズ「免疫毒性研究の若い力」5
有機リン農薬による免疫毒性のメカニズム …… 7
日本医科大学 李卿
海外からの参加者の免疫毒性学会学術大会 参加記 …… 9
English pages …… 10

第16回日本免疫毒性学会学術大会 (JSIT2009) (予告1)

第16回日本免疫毒性学会学術大会を下記の要領で開催しますのでご案内申し上げます。

会 期：2009(平成21)年8月27日(木)～28日(金)
会 場：学術集会 旭川市 旭川市民文化会館
〒070-0037 旭川市7条通9丁目50番地
TEL：0166-25-7331 FAX：0166-22-3526

学術大会テーマ：「子どもと免疫」

内 容：招待講演1：Dori Germolec
(NIEHS, USA)

招待講演2：「動物園の役割」
小菅正夫(旭川市旭山動物園園長)

シンポジウム「子どもと免疫」

ワークショップ「タイトル未定」

一般演題：口演・ポスター

大 会 長：吉田貴彦
(旭川医科大学医学部 健康科学講座 教授)

大会事務局：旭川医科大学健康科学講座
電話：0166-68-2402 FAX:0166-68-2409
メール：jsit16@asahikawa-med.ac.jp

第15回日本免疫毒性学会学術大会報告

澤田純一 (年会長)

平成20年9月11日(木)・12日(金)の2日間にわたり、第15回日本免疫毒性学会学術大会が、「免疫毒性研究の新展開」というテーマの下、東京(タワーホール船堀)にて開催された。今回は、第52回日本産業衛生学会 アレルギー・免疫毒性研究会との共催とされた。また、本大会の開催に際し、日本薬学会、日本衛生学会、日本トキシコロジー学会、日本毒性病理学会の共催・協賛を頂いた。

本学術大会では、招聘講演、基調講演、教育講演、2つのシンポジウム、ワークショップが企画され、活発な討議が行われた。一般演題は、口頭発表15題、ポスター発表17題の計32題の発表が行われた。参加者は、招待演者を含めると185名であった。また、高校生12名の見学

もあった。なお、一日目の昼に総会が開催され、予算及び決算、委員会の再編、新評議員等が議題とされた。また、名誉会員の推戴も行われた(学会ホームページに掲載の議事録を参照)。

講演に関しては、ミシシッピ州立大学S.B. Pruett教授を招聘し、“Immunotoxicology of innate immunity”のタイトルで自然免疫に関する免疫毒性学的な観点からの講演を頂いた。また、前回大会のテーマとされたトキシコゲノミクスの分野で、国立環境研究所 野原恵子先生に「環境化学物質のイムノトキシコゲノミクス」の講演を頂いた。年会長講演として、「遺伝子多型と抗がん剤の骨髄毒性」のタイトルで、最近の知見をご紹介した。

シンポジウム1「ナノ粒子の生体影響」では、「産業用ナノ物質の健康影響評価について」(広瀬明彦 国立

医薬品食品衛生研究所)、「ナノ粒子のキャラクタリゼーションとラット肺における生体影響」(大神 明ら、産業医科大学 産業生態科学研究所他)、「ナノ粒子が呼吸器・血管系の脆弱状態へ及ぼす複合影響」(井上 健一郎ら、(独)国立環境研究所 環境健康研究領域)、「ナノ粒子の皮膚暴露・皮膚浸透の可能性を考える」(杉林堅次、城西大学 薬学部)のタイトルで、シンポジウム2「腸管免疫系とその調節」では、「レチノイドによる腸管免疫の制御」(岩田 誠ら、徳島文理大学香川薬学部他)、「腸管免疫を介したアレルギー -マウスの食物アレルギーモデルの確立-」(新藤 智子ら、食品薬品安全センター他)、「プロバイオティクス乳酸菌によるマクロファージの機能制御と免疫調節作用」(志田 寛、(株)ヤクルト本社中央研究所)、「Mucosal immune dysfunction by the trichothecene mycotoxins」(James J. Pestka, Center for Integrative Toxicology, Michigan State University, USA)のタイトルで、それぞれの専門分野での最近のトピックスやテーマをご紹介いただいた。なお、シンポジウム2のJ.J. Pestka教授は、米国トキシコロジー学会の免疫毒性学分会(SOT-Immunotoxicology Specialty Section)との交流の一環として参加された。

ワークショップ「医薬品の副次的免疫調節作用とアレルギー性を考える」では、副次的免疫調節作用として、「PPARアゴニストの免疫調節作用」(植木 重治、秋田大学 医学部 臨床検査医学)、「ドパミンの免疫調節作用」(中野 和久、産業医科大学 医学部 第一内科学)の講演が行われ、アレルギー性に関連しては、「非RIによる皮膚感受性試験代替法(LLNA法)のバリデーション研究 -試験概要-」(小島 肇ら、国立医薬品食品衛生研究所)、「非RIによるLLNA法のバリデーション -データ解析-」(大森 崇ら、京都大学大学院 医学研究科他)、「ICCVAM LLNA peer review 報告」(吉田 貴彦 旭川医科大学)の講演が行われた。

また、例年のように、ランチョンセミナー2演題も行われた。

一般講演は、口頭発表15題、ポスター発表17題となった。

5名の審査員による一次審査及び二次審査の結果、一般演題の口頭発表の中より、年会賞及び奨励賞の選考がなされた。年会賞は、林奉権氏ら(放射線影響研究所 放射線生物学/分子疫学部)の「原爆被爆者における加齢に関連した炎症指標の上昇と放射線被曝の影響」が、奨励賞には、斎藤嘉朗氏ら(国立医薬品食品衛生研究所, SJS/TEN遺伝子多型研究班)による「日本人におけるスティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮壊死症と相関するHLAタイプの探索(第一報)」が選ばれた。学

術大会の最後の授与式で、年会長より、賞状と副賞が手渡された。なお、優れた発表が多く、選考に苦労されたと聞いている。

今回は、海外からの一般演題の応募が2件(O-06及びP-15)あった。O-06は、韓国からの演題であり、講演の最後に韓国における免疫毒性研究の動向紹介も行われた。

最後に、学術大会の開催に当たり、ご講演の快諾、数多くの一般演題の申し込み、学術大会運営へのアドバイス等、ご協力をいただきました多くの方々に深く感謝したい。

年 会 賞

原爆被爆者における加齢に関連した炎症指標の上昇と放射線被曝の影響

林奉権、楠洋一郎、森下ゆかり
長村浩子、牧真由美、久保美子
吉田健吾、中地敬
放射線影響研究所(放射研)
放射線生物学/分子疫学部
免疫学研究室

目的

60年以上経過した今日においても、原爆放射線による被曝は生存者の健康に長期的な影響を及ぼし、被曝線量の増加と関連してがんをはじめとする炎症性関連疾患のリスクを上昇させている^{1,2}。一方、事故や治療で高線量の放射線に被曝した患者に急性の炎症反応が被曝後数日間起こることが多くの報告によって知られているが³⁻⁶、炎症そのものに対する放射線の長期的な後影響についてはほとんど明らかにされていない。

我々は、1945年の原爆で被曝した広島と長崎の生存者について、寿命調査研究(LSS)とLSSから選ばれた部分集団を対象とした2年に1度の健康診断に基づく追跡調査である成人健康調査研究(AHS)の2つの主要なコーホート研究を長期にわたり行っている。本研究では、そのAHSから無作為に選ばれた広島原爆被爆者を対象に血漿中炎症性サイトカインやその関連物質、活性酸素代謝産物(total ROS)などの濃度を炎症指標として、末梢血リンパ球サブセットの割合、放射線被曝線量、さらに加齢との関連を検討した。

対象と方法

原爆被爆者と非被爆対象者からなる成人健康調査対象集団で1995年3月から1997年4月までに放射線影響研究所に来所され検診を受けられた対象者からがんまたは関節リウマチ、慢性気管支炎、心筋梗塞など炎症疾患の既往歴のある人を除いて、無作為に抽出した442名の血液試料を用いて炎症指標や抗体の血漿中濃度を測定した。

血漿中IL-6、TNF- α 、IFN- γ 、IL-10、CRP、IgsはELISA、赤血球沈降速度（ESR）はウエスターグレン法によって測定した。また、血漿中total ROS値はフェントン反応を用いた自動血漿ROS分析システムにより測定した⁷。炎症指標と被曝線量との関係は得られた測定結果の対数値を用いて年齢、性、喫煙及び肥満度指数の影響を調整し、重回帰分析により統計解析を行った。

結果

炎症指標の血漿中濃度に対する性差、年齢、被曝線量の影響について解析した結果をTable 1に示した。IFN- γ 以外の炎症性サイトカインとその他の炎症指標が年齢の上昇に伴い有意に上昇していた。被曝線量の増加に伴ってはIFN- γ を含むすべての炎症性サイトカインとその他

の炎症指標で有意に上昇していた。また、放射線量の増加に伴いCD4 T細胞、特にナイーブ CD4 T細胞の割合が減少し、その減少とこれら炎症指標の上昇は有意な関連を示した(data not shown)。さらに、非被爆者（点線）と1 Gy以上の被爆者（実線）の測定時年齢と各炎症指標であるIL-6、TNF- α 、CRPおよびIL-10 レベルの関係をFig. 1に示した。この結果から、非被爆者集団において、各炎症指標の血中レベルは年齢とともに上昇しているが、被爆者集団においては加齢に対する増加の程度が被爆していない集団と比較してより強くなっていることが明らかとなった。放射線被曝と加齢の両因子が本調査で調べたほとんどの炎症関連指標の上昇に関係していたので、放射線の影響を加齢の促進に換算して検討した。例えば、TNF- α では年齢10年あたり15%、被曝線量1Gyあたり7%の有意な増加が認められ、この増加から被曝線量1Gyあたり約5年の加齢の亢進に換算された。これらIL-6、TNF- α 、IL-10、CRP、total ROS、ESR、Igsの結果から判断すると、1 Gyの放射線の被曝は9年の加齢による炎症状態の亢進に相当することが判明した。これらの結果は、通常は加齢によって亢進される炎症状態が原爆放射線によってさらに促進していることを示唆している。

Table 1 Aging and atomic-bomb radiation elevated plasma levels of inflammatory cytokines and markers

(n=442)

Cytokine (Th type)	Effects		
	Sex	Age (10 years)	Radiation (Gy)
IL-6 (Th2)	NS*	Increase (23.7%)	Increase (12.5%)
IL-10 (Th2)	NS	Increase (8.2%)	Increase (5.9%)
IFN-γ (Th1)	NS	NS	Increase (12.2%)
TNF-α (Th1)	F > M (15.2%)	Increase (14.5%)	Increase (7.4%)
CRP *	NS	Increase (24.4%)	Increase (33.6%)
ESR ***	F > M (69.3%)	Increase (14.6%)	Increase (16.6%)
ROS	NS	Increase (2.7%)	Increase (5.3%)
Igs	NS	Increase (2.7%)	Increase (2.7%)

* Not significant. ***Erythrocyte sedimentation rate.

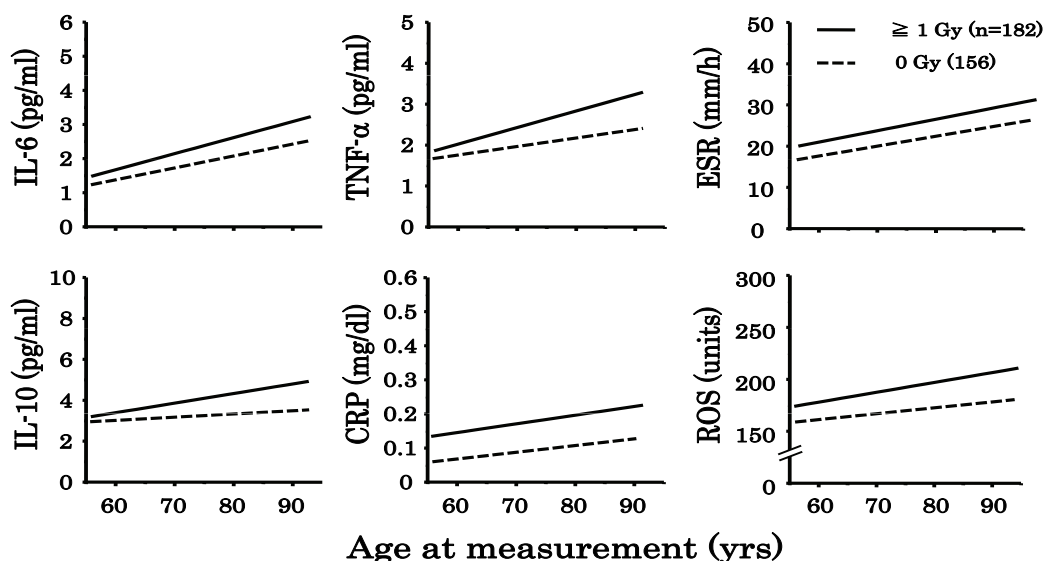


Fig. 1 Increase of inflammatory markers with aging is further enhanced by radiation exposure

考察

我々はこれまでに原爆被爆者について多くの免疫・炎症指標を測定することにより放射線被曝の後影響について研究を行ってきた。原爆被爆者ではマイトジェンに対する応答、IL-2産生細胞の頻度、アロ抗原に対する応答、およびスーパー抗原ブドウ球菌エンテロトキシンに対する応答などのT細胞機能が恒常的に低下していることがこれまでの研究で示唆されている。このような機能上の変化はリンパ系細胞構成の中のCD4ヘルパーT細胞集団、特にナイーブCD4 T細胞の減少とよく一致する。ナイーブCD4 T細胞集団における同様の細胞数の減少は、放射線療法を受けた患者に関する追跡調査など他の研究でも観察されている。

当初我々は、原爆放射線はTh1細胞が制御する細胞免疫応答を低下させ、一方でTh2細胞が制御する体液性免疫反応を増大させる誘因として作用したのではないかという仮説を提案した。Th1とTh2の比率の重要性は免疫学において根幹的な概念としてよく知られている。この仮説を検証するため、Th1細胞優位の状態かTh2細胞優位の状態のいずれかに関与する血漿中サイトカインの濃度を測定した。本研究によって得られた結果によれば、Th2関連サイトカインであるIL-6ばかりでなくTh1関連サイトカインであるIFN- γ およびTNF- α についても、その血漿中濃度は明らかに放射線量に依存して上昇しており、原爆被爆者に見られる炎症性サイトカインの産生亢進はTh1/Th2 バランスの不均衡とは関係がないことが示唆された^{8,9}。従って、原爆被爆者のT細胞のIL-2産生能に障害が認められる可能性が示唆されてはいるものの、

Th1細胞およびTh2細胞が制御する宿主免疫において原爆放射線が長期的変化を誘発したという結論には至らなかった。

本研究で確認された被曝線量に比例して上昇している炎症指標は、非被爆者においても加齢による有意な増加が認められることから、加齢に伴う自然の免疫学的変化の一つと考えられる。被爆者集団においては年齢に伴う炎症指標の増加が非被爆者に比べてより顕著であったことから、原爆放射線が加齢による炎症状態の亢進をさらに促進しているということが考えられた。これまでに報告してきた原爆放射線による免疫機能の低下と今回明らかになった炎症の亢進が被爆者に観察されるがん及びがん以外の疾患の発生に関連している可能性が示唆されることから、今後、被爆者において認められる免疫機能の低下と持続的炎症の亢進との関連について、炎症性疾患発症機構における放射線被曝の影響についての研究を含めて、さらに詳細に調べてゆく必要があると考えられる。

謝辞

本研究発表が第15回免疫毒性学会年会賞に選ばれましたことをたいへん名誉に思います。今回の賞は代表して私がいただきましたが、放射線影響研究所で長年にわたり原爆被爆者の免疫に及ぼす放射線被曝の影響に携わってこられた免疫学研究室の研究者・技術員の皆様のお力添えがあったからこそと感謝いたしております。心よりお礼申し上げます。今後も免疫学研究を進めるため努力したいと存じますので、皆様方のご指導ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。

文献

1. Preston DL, Shimizu Y, Pierce DA, Suyama A, Mabuchi K: Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950-1997. *Radiat Res* 160: 381-407, 2003
2. Shimizu Y, Pierce DA, Preston DL, Mabuchi K: Studies of the mortality of atomic bomb survivors. Report 12, part II. Noncancer mortality: 1950-1990. *Radiat Res* 152: 374-89, 1999
3. Barthelemy-Brichant N, Bosquee L, Cataldo D, Corhay JL, Gustin M, Seidel L, Thiry A, Ghaye B, Nizet M, Albert A, Deneufbourg JM, Bartsch P, Nussgens B: Increased IL-6 and TGF-beta1 concentrations in bronchoalveolar lavage fluid associated with thoracic radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 58: 758-67, 2004
4. Wichmann MW, Meyer G, Adam M, Hochtlen-Vollmar W, Angele MK, Schalhorn A, Wilkowski R, Muller C, Schildberg FW: Detrimental immunologic effects of preoperative chemoradiotherapy in advanced rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 46: 875-87, 2003
5. Wickremesekera JK, Chen W, Cannan RJ, Stubbs RS: Serum proinflammatory cytokine response in patients with advanced liver tumors following selective internal radiation therapy (SIRT) with (90)Yttrium microspheres. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 49: 1015-21, 2001
6. Endo A, Yamaguchi Y: Analysis of dose distribution for heavily exposed workers in the first criticality accident in Japan. *Radiat Res* 159: 535-42, 2003
7. Hayashi I, Morishita Y, Imai K, Nakamura M, Nakachi K, Hayashi T: High-throughput spectrophotometric assay of reactive oxygen species in serum. *Mutat Res* 631: 55-61, 2007
8. Hayashi T, Kusunoki Y, Hakoda M, Morishita Y, Kubo Y, Maki M, Kasagi F, Kodama K, Macphee DG, Kyoizumi S: Radiation dose-dependent increases in inflammatory response markers in A-bomb survivors. *Int J Radiat Biol* 79: 129-36, 2003
9. Hayashi T, Morishita Y, Kubo Y, Kusunoki Y, Hayashi I, Kasagi F, Hakoda M, Kyoizumi S, Nakachi K: Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb survivors. *Am J Med* 118: 83-6, 2005

奨励賞

日本人におけるスティーブンス・ジョンソン症候群及び中毒性表皮壊死症と関連するHLAタイプの探索 (第一報)

齋藤嘉朗、頭金正博、黒瀬光一、澤田純一、長谷川隆一、外園千恵、木下茂、高橋幸利、古谷博和、村松正明、松永佳世子、相原道子、池澤善郎、鹿庭なほ子
(国立医薬品食品衛生研究所、SJS/TEN遺伝子多型研究班)

皮膚・粘膜の障害を主症状とするスティーブンス・ジョンソン症候群(SJS)及び中毒性表皮壊死症(TEN)は、致死率も5~30%と高く、眼などに重い後遺症が残ることがあり、薬物による重篤な副作用のひとつである。SJS/TENは、発症率こそ年間約500人と低いものの、100種以上の医薬品が発症原因と成り得ることが知られており、現在のところ発症の予測は不可能である。医薬品の副作用被害救済の上位に毎年挙げられており、従ってSJS/TENを発症しやすい高リスク体質(特異体質)の患者を予め識別し、当該医薬品の投与を避けることにより未然に防ぐことが望ましい。

近年、SJS/TENと、HLA(ヒト主要組織適合性複合体)の特定のタイプ(遺伝子多型の組合せで規定される)との強い関連が明らかになってきた。すなわち、台湾の漢民族において、抗てんかん薬カルバマゼピン誘因性のSJS/TEN発症にはHLA-B*1502の関与(オッズ比1357)が、高尿酸血症治療薬アロプリノール誘因性の重症薬疹発症にはHLA-B*5801の関与(オッズ比580)が、それぞれ示唆された。しかし、この薬物特異的な強い相関は、民族にも依存していることが明らかになってきた。現在のところ、カルバマゼピン誘因性SJS/TENとHLA-B*1502との関連は漢民族とタイ人以外では確立されていない。また、アロプリノール誘因性SJS/TENとHLA-B*5801との関連も白人では弱いと報告されている。

そこで我々は、日本人においてSJS/TEN発症を予測しうる遺伝子マーカーを同定するため、探索研究を開始した。最も困難な点は、全国で(低頻度に)散発するSJS/TEN症例をいかに効率良く集積するかという点であるが、日本製薬団体連合会の協力を得て、本研究班へ任意で症例発生を報告するシステムを構築し、本システムと研究班員の所属する医療機関において症例を集積した。発表では確定診断された58例のHLAタイプを、シーケンシングにて解析した結果を報告した。原因医薬品に分類しない58例全体の解析では、HLA-DRB1*0901が多重性補

正後も有意なSJS/TEN発症との相関 ($P_c < 0.01$) を示したが、オッズ比は2倍強と比較的低く、直接の要因というよりも背景因子的な効果を有していると推定された。一方、医薬品別での解析では、アロプリノールを服用したSJS/TEN患者10例から、4例のHLA-B*5801保有者が見いだされ、その相関は $P_c = 0.003$ (オッズ比40.8) と有意であった。従って、日本人においても、HLA-B*5801はリスク因子であることが示唆された。しかし相関の強度は白人と同程度であり、漢民族ほど強いものではなかった。一方、漢民族で、カルバマゼピン (及び芳香族系抗てんかん薬) によるSJS/TEN発症との相関が報告されたHLA-B*1502は、7例のカルバマゼピン及び11例のその他の芳香族系抗てんかん薬によるものを含め、全58症例で検出されなかった。これはもともと日本人におけるHLA-B*1502の頻度が非常に低いと推定され、日本人では、他のHLAタイプ等の遺伝的要因がカルバマゼピンによる発症に関与していると考えられる。

漢民族やタイ人で報告されたカルバマゼピンによるSJS/TEN発症とHLA-B*1502との強い相関に関しては、米国及び日本の添付文書にも既に記載されており、また米国と台湾では規制当局により、HLA-B*1502を対象としたカルバマゼピン治療開始前のスクリーニング試験が導入された。SJS/TEN発症を防ぐために、遺伝子マーカーを用いる個別化医療が既に始まっている。

(奨励賞受賞に対するコメント)

この度は奨励賞にお選び頂き、心より御礼申し上げます。医薬品の副作用には、過度の薬効に基づくものと、その薬効に関連のないidiosyncraticなものがありますが、後者は免疫系が関与するアレルギー機序に基づくものが多いとされており、SJS/TENもこれに属すると考えられています。SJS/TENを含めアレルギー性のidiosyncraticな副作用に関して、その発症メカニズムを解明することは、発症回避や早期診断のために特に重要であると考えられます。今回、発表させて頂いた遺伝子マーカーとの相関解析に留まらず、得られた結果から発症メカニズムを推定し、これを実証する研究を行っていきたいと考えております。今後ともご指導、ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。最後に本研究へご協力頂きました全国の患者の皆様、またその主治医の先生方に、この場をお借り致しまして深く感謝申し上げます。

免疫毒性学を志す若き研究者へ

清水 英佑

日本産業衛生学会理事長
東京慈恵会医科大学名誉教授

「日本免疫毒性学会」は、大学、企業、行政機関にまたがって、医学・薬学・理学・農学等の専門家をとり込んだ学際的な研究者により1994年に免疫毒性研究会として創設され、2001年に学会へと発展したとのことである。

免疫学と毒性学を基盤として、生体の免疫系が標的となる毒性に関して、メカニズムや発現様式を研究する学問であると理解している。薬物や化学物質が有害作用として働くことによるとされてきたが、近年、物理的因子や心理的因子も含まれ、今話題となっている精神的ストレスもその要因として考えられるようになってきている。まだ、詳細な機序は未解明のものが多いが、研究手法の発達と分野の異なる研究者が学際的に情報の交換をすることにより、研究の輪が広がり、内容的な深さを増していくものと思える。若い研究者の積極的な参加が望まれるところである。

日本産業衛生学会の中の30研究会の一つに、かつて「職業性アレルギー研究会」と称して1978年に発足した研究会が、今日では「アレルギー・免疫毒性研究会」と改称したのは時代の要求に応えるものであろう。協同で研究を発展されることを願いたい。

免疫毒性学の領域はまだ発展途上で、適切な試験方法もまだ開発されていない学問的に興味ある分野である。専門を異にするいろいろな分野の研究者が集い、さらに若い研究者がここに参画し、魅力ある免疫毒性学を発展させていただくことを願う。

シリーズ「免疫毒性研究の若い力」5

有機リン農薬による免疫毒性のメカニズム
日本医科大学衛生学公衆衛生学

李卿

【はじめに】

世界各国では今でも毎年大量の有機リン農薬が販売・使用されている。有機リン農薬は、アセチルコリンエステラーゼの活性阻害による急性中毒を起こすことが良く知られているが、近年、毒性の比較的低い有機リン農薬に変わってきたため急性有機リン中毒は急激に減少している。一方で、低毒性の有機リン農薬による生体への慢性的な影響、特に腫瘍監視機構の機能低下による発癌、化学物質過敏症、アレルギー等の免疫関連疾患のリスクの増大が懸念されている。化学物質過敏症などには、有機リン農薬の関与が示唆されているが、有機リン農薬の免疫系に対する影響は明らかになっていない。従って、有機リン農薬の免疫系に対する影響を明らかにすることは、予防医学・社会医学上極めて重要であると考えられる。

【有機リン農薬の免疫毒性】

以上の背景を踏まえて著者は約10年前より産業・環境化学物質の免疫毒性に着目し、NK (natural killer)、CTL (cytotoxic T lymphocyte)、LAK (lymphokine-activated killer)活性及びリンパ球表面マーカーなどの最新の免疫学的指標を使って、まず染料の中間体*p*-nitrochlorobenzeneの免疫毒性について検討し、その免疫毒性機序を明らかにした上で化学物質の免疫毒性評価法を確立した(1,2)。1995年3月に東京地下鉄サリン事件が発生し、社会医学的立場からサリン被曝が被災者の遺伝的、免疫的機能に及ぼす影響を究明する必要があると考え、被災者の末梢血リンパ球染色体異常、NK活性等について調べた。その結果、被災者のリンパ球染色体異常率が有意に上昇したことを明らかにした(3,4)。当時朝日新聞もこの結果を大きく報道した。その後、サリン事件ではサリン以外にサリン合成時の副生成物質である有機リン化合物diisopropyl methylphosphonate (DIMP)、diethylmethylphosphonate (DEMP)およびサリン合成時の反応促進剤と安定剤としての*N,N*-diethylaniline (DEA)にも被曝したことが明らかとなった。サリン被災者におけるリンパ球染色体異常の原因を究明するために、より多くの被曝物質について調べる必要があると考え、副生成物質DIMPとDEMP及び安定剤DEAの遺伝毒性を検討した。その結果、DIMPとDEMP及びDEAが強い遺伝毒性を有することを初めて発

見し報告した(3,5)。これらの物質はリンパ球の染色体を傷害することから、リンパ球の機能にも影響を与えるのではないかという仮説を立て、平成10と11年度の科研費助成を得て、「DIMPとDEMP及びDEAによるリンパ球の染色体異常はそのリンパ球の機能に影響を与えるのか」という研究を行い、これらの物質による遺伝毒性はその免疫毒性とも関連があることを明らかにした(3-7)。DIMPとDEMPが有機リン化合物であることから有機リン農薬も同様な毒性を持っているだろうという仮説を立て、まず有機リン農薬DDVP、ESP、DMTA、DEP、アセフェートによる人NK (natural killer)活性への影響について検討した。その結果、5種類の有機リン農薬が全て顕著にNK活性を抑制し、その抑制の強さは、DDVP, DMTA, DEP, ESP, アセフェートの順であることを明らかにした。さらに、有機リン農薬DDVPがヒトLAK (lymphokine-activated killer)活性及びマウスNK、CTL (cytotoxic T lymphocyte)、LAK活性も顕著に抑制することを明らかにした。またDDVPに対する感受性は細胞によって異なり、その順位はヒトNK>マウスNK>マウスCTL>マウスLAK>ヒトLAKの順であることも明らかとなった (8)。

【有機リン農薬による免疫毒性の機序】

NK細胞は主に二つの機序で標的細胞のアポトーシスを誘導する。その1はNK細胞内顆粒中に存在するPerforin、Granzyme及びGranulysinの放出による標的細胞のアポトーシスであり、これはPerforin/Granzyme/Granulysin pathwayという。その2はFas ligand/Fas pathwayを介した標的細胞の傷害である(8-15)。

有機リン農薬によるNK活性抑制の機序を解明するために、有機リン農薬DDVPによるこの二つのpathwayへの影響について検討した。

著者はまず、有機リン農薬DDVPが顕著にGranzymes A, 3, H, Mの酵素活性を阻害することを明らかにした (8)。次に、有機リン農薬DDVPがヒトNK細胞内のPerforin、Granzyme A, B, 3/KおよびGranulysinの量を量依存的に減少させることを明らかにした(10-12)。さらに、RT-PCR法を用いて有機リン農薬DDVPが量依存的にNK細胞内のPerforin、Granzyme AおよびGranulysinのmRNAの発現量も減少させることを明らかにした(13,14)。蛍光顕微鏡を用いてDDVPが量依存的にNK細胞内のPerforinおよびGranulysinのたんぱく質量も減少させ、この減少は細胞内の脱顆粒であることを明らかにした(10)。以上より、有機リン農薬がNK細胞内のGranzymeの活性阻害及びPerforin、GranzymeおよびGranulysinの量の減少を介してNK、LAKとCTL活性を抑制することを明らかに

し、初めて有機リン農薬による免疫毒性発現とPerforin, GranzymeおよびGranulysinとの関連性を突き止め、有機リン農薬の免疫毒性の評価について新しい知見を得た(8,10-14)。

Perforin Knockout (PKO)マウスでは、Perforinがないので、Granzymeは標的細胞内に入れない。またマウスではGranulysinが発現しない。従って、PKOマウスでは、Perforin/Granzyme/Granulysin pathwayは全く機能しなくなり、Fas ligand/Fas pathwayのみを介して標的細胞を傷害することになる。そこで、著者は、PKOマウスを用いて有機リン農薬によるFas ligand/Fas pathwayへの影響を検討した。その結果、DDVPがFasL/Fas pathwayへの傷害を介してPKOマウスのNK,CTL及びLAK活性を抑制することを明らかにした(15)。

しかし、これだけでは有機リン農薬による免疫抑制を十分に説明しきれず、他の機序も関与していることが示唆されている。そこで、著者は有機リン農薬による免疫細胞のアポトーシスに着目し、まずは有機リン農薬Chlorpyrifosによるヒト単球様細胞株U937細胞のアポトーシスを明らかにした(16)。この結果を踏まえて平成19年~21年までの科研費助成を得て有機リン農薬Chlorpyrifos及びDDVPがヒトNK細胞のアポトーシスを誘導することによってNK活性を抑制することを明らかにした(17)。最近では有機リン農薬がヒトT細胞のアポトーシスを誘導することも明らかにし、有機リン農薬がT細胞のアポトーシスを介してCTL活性を抑制することが示唆された(18)。

【まとめ】

有機リン農薬は、以下の機序でNK、LAK及びCTL活性を抑制する。

1) 有機リン農薬は、NK、LAK及びCTLのPerforin/granzyme/granulysin pathwayへの影響を介してNK、LAK及びCTL活性を抑制する。

2) 有機リン農薬は、NK、LAK及びCTLのFas ligand/Fas pathwayにも影響を与えてNK、LAK及びCTL活性を抑制する。

3) 有機リン農薬は、免疫細胞のアポトーシスを誘導することによってNK、LAK及びCTL活性を抑制する。

引用文献

1. Li Q. et al. Toxicology 127: 223-232, 1998.
2. Li Q. et al. Toxicology 137: 35-45, 1999.
3. Li Q. et al. Toxicol. Letters 98: 95-103, 1998.
4. Li Q. et al. Toxicology 201: 209-217, 2004.
5. Li Q. et al. Mutation Research 395: 151-157, 1997.
6. Li Q. et al. Toxicology 146: 209-220, 2000.
7. Li Q. et al. Toxicology 150: 181-191, 2000.
8. Li Q. et al. Toxicology 172: 181-190, 2002.
9. Okada S, Li Q. (co-first author), et al. J Immunol. 171: 2556-2562, 2003.
10. Li Q., et al. Toxicology 213(1-2): 107-16, 2005.
11. Li Q. et al. Immunopharmacol Immunotoxicol. 28(2):319-33, 2006.
12. Li Q. et al. Toxicology 243(3): 294-302, 2008.
13. Li Q. and Kawada T. Cell Mol Immunol. 3(3):171-8, 2006.
14. Li Q. J Nippon Med Sch. 74(2):92-105, 2007.
15. Li Q. et al. Toxicology 204: 41-50, 2004.
16. Nakadai A, Li Q. (co-first author) and Kawada T. Toxicology 224(3):202-9, 2006.
17. Li Q. et al. Toxicology 239: 89-95, 2007.
18. Li Q. et al. Toxicology 2008, doi: 10.1016/j.tox.2008.10.03 (in press).



海外からの参加者の 免疫毒性学会学術大会参加記

東京で開催された第15回学術大会では、米国から Dr. Pruett と Dr. Peska を迎え、それぞれ招聘講演とシンポジウム講演をしていただきました。また韓国で免疫毒性学会の発足を検討されている Dr. Heo が当学会の視察も兼ねて参加され、研究発表と懇親会でのスピーチをしていただきました。

これら3名の参加者に学会参加や来日の感想を寄稿していただきましたので、英文ページをご参照ください。



編集後記

例年通り9月開催されました学術大会は、江戸川区のタワーホール船堀を会場に行われました。ミシシッピ州立大学の Pruett 教授の特別講演、ミシガン州立大学の Pestka 教授のシンポジストとしての参加など、国際色も豊かな学会となりました。個人的には5年ほど前にミシシッピ州立大学へ共同研究で滞在したことがあり、Pruett 教授とは初対面でありましたが、お話できて貴重な時間となりました。タワーホール船堀は、その名の通り、展望タワーが附属しており、展望室からの眺望は素晴らしく、ディズニールゾートの人工山などが近くに見え、学会参加者の方々も楽しまれたのではないかと思います。

今回のニュースレターでは日本産業衛生学会の理事長、清水英佑先生に、特に若手研究者に期待する立場から、ご寄稿戴きました。産業衛生学会にもアレルギー・免疫毒性研究会があり、共同研究の広がりが期待される所です。シリーズ「免疫毒性研究の若い力」は連載5回目となり、今回は日本医科大学衛生学公衆衛生学、李卿先生の「有機リン農薬による免疫毒性のメカニズム」です。

ニュースレターが全体を通じて会員の皆様の研究の発展に何らかの契機となることを願いつつ (MT 記)。

編集・発行：日本免疫毒性学会

発行日：平成20年12月

編集発行責任者：澤田 純一

編集委員会：角田 正史、筒井 尚久、
手島 玲子、野原 恵子、
藤巻 秀和

原稿送付先：fujimaki@nies.go.jp