

アスベストに関連する発がん機構と免疫学的影響

¹⁾大槻 剛巳・¹⁾三浦 由恵・¹⁾前田 恵・¹⁾林 宏明・¹⁾董 茂龍・
¹⁾西村 泰光・²⁾富田 正文・³⁾勝山 博信

¹⁾川崎医科大学衛生学・²⁾川崎医科大学医用中毒学・³⁾川崎医科大学公衆衛生学

Asbestos-Related Carcinogenesis and Immunological Effects

Takemi Otsuki¹⁾, Yoshie Miura¹⁾, Megumi Maeda¹⁾, Hiroaki Hayashi¹⁾, Maolong Dong¹⁾,
Yasumitsu Nishimura¹⁾, Masafumi Tomita²⁾ and Hironobu Katsuyama³⁾

¹⁾ Department of Hygiene, ²⁾ Department of Medical Toxicology, ³⁾ Department of Public Health,
Kawasaki Medical School, Okayama 701-0192, Japan

Abstract

With the increasing detection of patients with malignant mesothelioma among residents living near factories and facilities handling asbestos in the past, asbestos-related diseases have become a big medical, social and political issue in Japan. Therefore, we should seriously consider what we, as researchers into the biological effects of asbestos in the field of preventive medicine, can do to clarify the problem and which type of investigations may eliminate the anxiety of Japanese people. One answer is to establish biomarkers for asbestos exposure, since most people do not know for sure whether or not they were exposed to asbestos 30 to 40 years ago. In addition, we should develop markers to detect asbestos-induced malignancies such as lung cancer and malignant mesothelioma. Moreover, the establishment of the markers for molecular prevention of asbestos-induced carcinogenesis would be much appreciated news to persons feeling anxiety about the uncertainty of past exposure to asbestos.

Keywords : asbestos, carcinogenesis, apoptosis, silica, immunology

1. 緒言

多くの先進諸国では、既にアスベスト使用の全面禁止となっているが、発展途上国、中でもアジア領域の国々では、依然として多くの使用が報じられている。日本でも、1995年にアモサイト、クロシドライトの使用禁止、2004年には建材、摩擦材、接着剤へのクリソタイトの使用禁止が法規制されたが、全面禁止まではなお2年前後

の期間がある[1,2]。

2005年6月末に報じられた兵庫県尼崎市のクボタ問題に端を発して、現在、日本ではアスベストによる健康障害が大きく社会問題として取り上げられている。これは、その健康障害がこれまでの職業曝露者だけでなく、一般住民にも拡がっていた点が明白となったことによる。このような問題を受けて、これまでの労災補償に加えて、2006年3月27日より「石綿による健康被害の救済に関する法律」(いわゆるアスベスト新法)が施行された。特に中皮腫の場合には、確実な診断が得られた例は、アスベスト曝露の既往の詳細は問わずに救済の対象となっており、臨床現場やその審査の場で少なからず混乱も生じている現状のようである[3-6]。

本項では、アスベストの鉱物的特性を述べた後、発がん機構に関して総論的にまとめ、加えて、我々の教室が10年来アスベストや珪酸の免疫学的影響を検討してきた成果の一部を紹介することにする。

連絡先：大槻 剛巳

〒701-0192 倉敷市松島 577

川崎医科大学 衛生学

TEL : 086-462-1111

FAX : 086-464-1125

E-mail : takemi@med.kawasaki-m.ac.jp

受付日：平成 18 年 7 月 16 日

受理日：平成 18 年 10 月 9 日

2. アスベストの鉱物学的特性[7]

アスベストは無機材料で天然に産出される鉱物からの加工品である。鉱物の種類としては珪酸塩鉱物として分類され、コアの構造は珪酸(silicate, SiO_2)である。アスベストは鉱物学的に蛇紋石族と角閃石族の2種類に分類される。前者にはクリソタイル(chrysotile)のみが分類され、後者にはアモサイト(amosite)、クロシドライト(chrocidolite)、アンソフィライト(anthophyllite)、トレモライト(tremolite)、アクチノライト(actinolite)が分類される。こと繊維状物質という観点からは、角閃石族の中には繊維状を呈さないものもあるが、WHO等の公的機関の繊維状物質の定義では、顕微鏡レベルで長さとの幅の比が3以上のアスペクト比を有する繊維状のものを石綿としている。

これらの分類はアスベストの物理化学的特性によってなされている。Table 1に上記6種類のアスベストの化学組成を提示する。クリソタイルは珪酸の水酸化マグネシウム塩であり、唯一の蛇紋石族のアスベストである。物理構造的には円筒状の単繊維から成っている。角閃石族のアスベストは、その組成にマグネシウムやカルシウム、そして、鉄が含有されている。また、角閃石族は物理構造的には層構造を呈している[7-9]。

また、一般的にクリソタイルを白石綿、アモサイトを茶(褐)石綿、クロシドライトを青石綿と呼ぶが、これは鉱物の色調による別称である。

産業界で広くアスベストが使用されてきた理由は、その物理化学的特性による。アスベストが耐熱性、耐火性、断熱性、防音性、耐薬品性、耐磨耗性、電気絶縁性などに、非常に優れた材料であるためであり、加えて、安価であることも後押ししたようである[8-9]。

3. アスベストの発がん機序[10]

アスベストによる発がん機序の中で注目しなければならない点は、一つには、特に角閃石族では鉄を含有している点である。鉄は、フェントン反応に伴って $\cdot\text{OH}$ を産生し、それによって生ずるDNA障害は遺伝子毒性(genotoxicity)という観点からも重要である[10]。

一般的に遺伝子毒性をもたらすアスベストなどの発がん物質の場合、細胞のDNAに対して、一本鎖あるいは二本鎖DNAの障害や塩基への障害をもたらす。これら

を修復する機構が正常に作用すれば生理学的なDNAが受け継がれていくこととなり、発がん機序は起こらない。しかし、障害の度合いが強すぎる場合や、慢性的に持続して刺激が加わる場合などには、DNA障害が引き継がれていくことにより、遺伝子の突然変異、染色体の変化が誘導され、ひいては細胞の悪性化機構のスイッチが入ることになる。アポトーシスは、DNA障害を起こした細胞を炎症細胞などが中心となって除去する重要な機構である。アスベストの生体影響の発現機序を、DNA障害や発がんという観点で考察するにあたって、アスベスト曝露を受けた細胞、中でも肺胞上皮細胞や胸膜中皮細胞などのDNA障害の出現や、それら細胞への炎症性細胞によるアポトーシスの誘導については、今後も詳細に検討されなければならない課題である。

アスベストも含めて、酸化ストレスに曝露された細胞に生じる最初の変化として、DNA鎖の切断は重要である。アスベスト誘導DNA障害はラットやヒトの肺胞上皮細胞、あるいはラットの胸膜中皮細胞で観察されており、これらの細胞にアポトーシスが誘導されることが多く報告されている[11-13]。

またアスベスト起因性DNA障害とそれに伴うアポトーシスの機序についても多くの観察がされており、初めにアスベスト繊維と細胞の接触から始まる活性酸素種の産生、それによるDNA障害、ついでp53の活性化、アポトーシス誘導性分子であるBAXの誘導、ミトコンドリア系のアポトーシス経路の活性化などが起こることが、肺胞上皮細胞や胸膜中皮細胞を用いた実験系の結果として報告されている[14-16]。

図1はUpadhyay & Kampによるアスベストによる細胞障害と発がん機構の図を一部改変したものであるが[10]、これらの実験的な観察では、DNA障害を受けた細胞はアポトーシスで処理されてその障害が継続的に受け継がれない。然るに、現状のヒトへの曝露の場合、慢性低濃度の持続性曝露あるいは体内残留アスベストによる慢性的な刺激が加わることにより、その過程の中でDNA障害の修復機転あるいはアポトーシス誘導機構からの逸脱が起こり、そのような細胞が悪性細胞としての特質を獲得していく経緯が生ずると論じられている。

なお、近年、肺胞上皮細胞とアスベストの接着によりepidermal growth factor receptor(EGFR)の活性化とそれに引き続いておこるMAPキナーゼ系の活性化、中でもMEK1/2、ERK1/2の活性化が生じてくること、それとは別に接触に伴ってSrcファミリーの活性化もまたEGFRの活性化を介して、あるいは直接的にMEK5、ERK5などのシグナル伝達分子の活性化を誘導し、総じて細胞増殖に関連するAP-1ファミリーの転写因子への刺激が誘導されることをヒトの肺胞上皮細胞で示した報告がある[17]。さらに、アスベストに加えて何らかのマイトジェンの協調作用がERK1/2の活性化を誘導すると

Table 1 Chemical structure of various forms of asbestos

Chrysotile	$\text{Mg}_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$
Crocidolite	$\text{Na}_2\text{Fe}_3^{++}\text{Fe}_2^{+++}\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$
Amosite	$(\text{Fe}-\text{Mg})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$
Tremolite	$\text{Ca}_2\text{Mg}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$
Anthophyllite	$(\text{Mg}-\text{Fe})_7\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$
Actinolite	$\text{Ca}_2\text{MgFe}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$

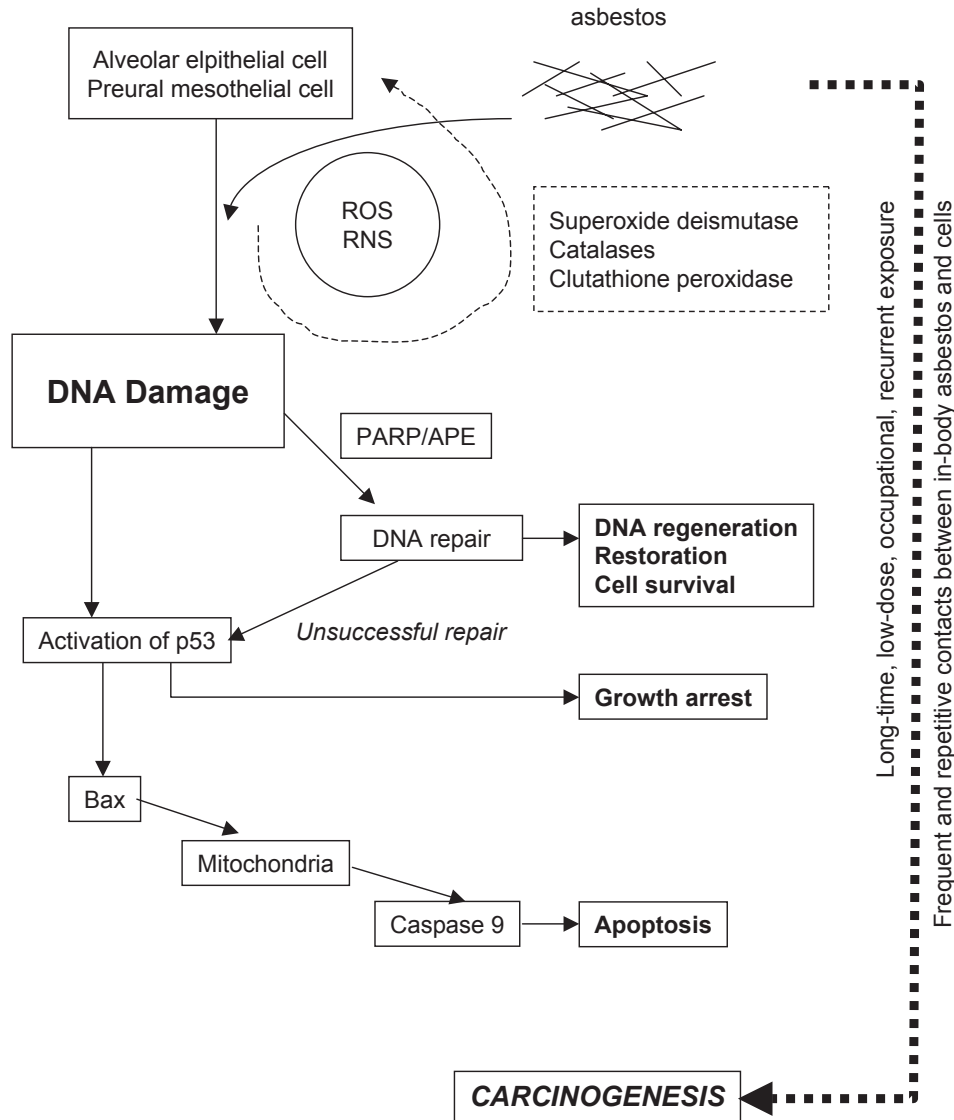


Fig. 1 The molecular mechanisms involved in asbestos-induced DNA damage and apoptosis. (modified from Upadhyay & Kamp, Exp Biol Med 228 : 650–659, 2003)

した報告[18]があり、発がんの標的細胞である肺胞上皮細胞や中皮細胞とアスベスト繊維の接触に端を発する細胞現象の解明が進んでいる。

4. 珪酸とアスベストのヒト免疫系への影響

我々は、珪肺症の合併症として自己免疫疾患、慢性関節リウマチ (Caplan 症候群) や強皮症が知られていることより、珪酸曝露がヒトの免疫系へ何等かの影響を及ぼしている可能性について実験的あるいは症例の検体を用いることにより検討してきた。リンパ球のアポトーシスに関与が強い Fas- Fas ligand 系のアポトーシス経路について珪肺症での変化を観察した。Fas 媒介アポトーシスが珪肺症例で種々の変化を受けており、リンパ球表面の Fas 受容体が媒介するアポトーシスを細胞外で競合的に阻害する可溶性 Fas 分子の過剰発現や産生、*dcr3* 遺伝子の珪

肺症例末梢血単核球での発現亢進、また、塩基配列の検討により可溶性 Fas と機能的に類似しているであろう *fas* 遺伝子の *splicing variants* の発現亢進を見出してきた。一方、珪肺症例では血清中に抗 Fas 自己抗体が検出され、それは Fas 受容体を介したアポトーシスを誘導するという観察結果が得られ、それを示唆するように珪肺症例末梢血単核球では健常人のそれに比して、細胞内の Fas 媒介アポトーシスの抑制性遺伝子の発現が亢進している結果も得られた。これらの結果を総合的に考察すると、珪肺症例では 2 群のリンパ球分画が存在し、1 群は Fas 媒介アポトーシスに抵抗性であるため長期生存する細胞群であり、他方は Fas 媒介アポトーシスが亢進しておりアポトーシスで死滅しながら骨髄からの新規産生が促されている群であろうと想定している。前者には、おそらく自己認識クローンが含まれ、それによる自己寛容

の破綻が生じるのではないかと考えている[19-21]。
 また、昨今話題となっている CD4+25+FoxP3 制御性 T 細胞についても検討した。珪肺症例での CD4+25+分画の細胞は、健常人の年齢相当の増減の度合いからすると若干減じている可能性があり、加えて、その機能においても反応性 T 細胞の混合リンパ球反応(mixed-lymphocyte reaction, MLR)の抑制の度合いが珪肺症で減弱していることを明らかとした。これについて、我々が以前に報告しているように珪酸/シリカが T 細胞自身の早期活性化指標である CD69 発現を緩徐ながらもたらず点を踏まえて考案すると[22]、珪肺症例の CD4+25+分画には珪酸曝露による慢性活性化 T 細胞(CD4+25+は、

活性化 T 細胞の指標でもある)が混入している可能性が考えられた。この可能性は、CD4+25+分画での *foxp3* や *ctla-4* のような CD4+25+制御性 T 細胞特有の遺伝子の特異的発現が珪肺症例で消失していることや、活性化 T 細胞特異的とされる *pd-1* 遺伝子の発現が珪肺症例で亢進している点からも示唆される[23]。
 では、珪酸/シリカの金属塩であるアスベストの場合はどうであろうか。我々は実験的免疫担当細胞へのアスベストの長期慢性曝露モデルの構築を図る目的で、ヒト HTLV-1 不死化多クローン性 T 細胞株 MT-2 を用いて種々の観察を行っている。

一つには、比較的高濃度、即ち 2~3 日というレベル

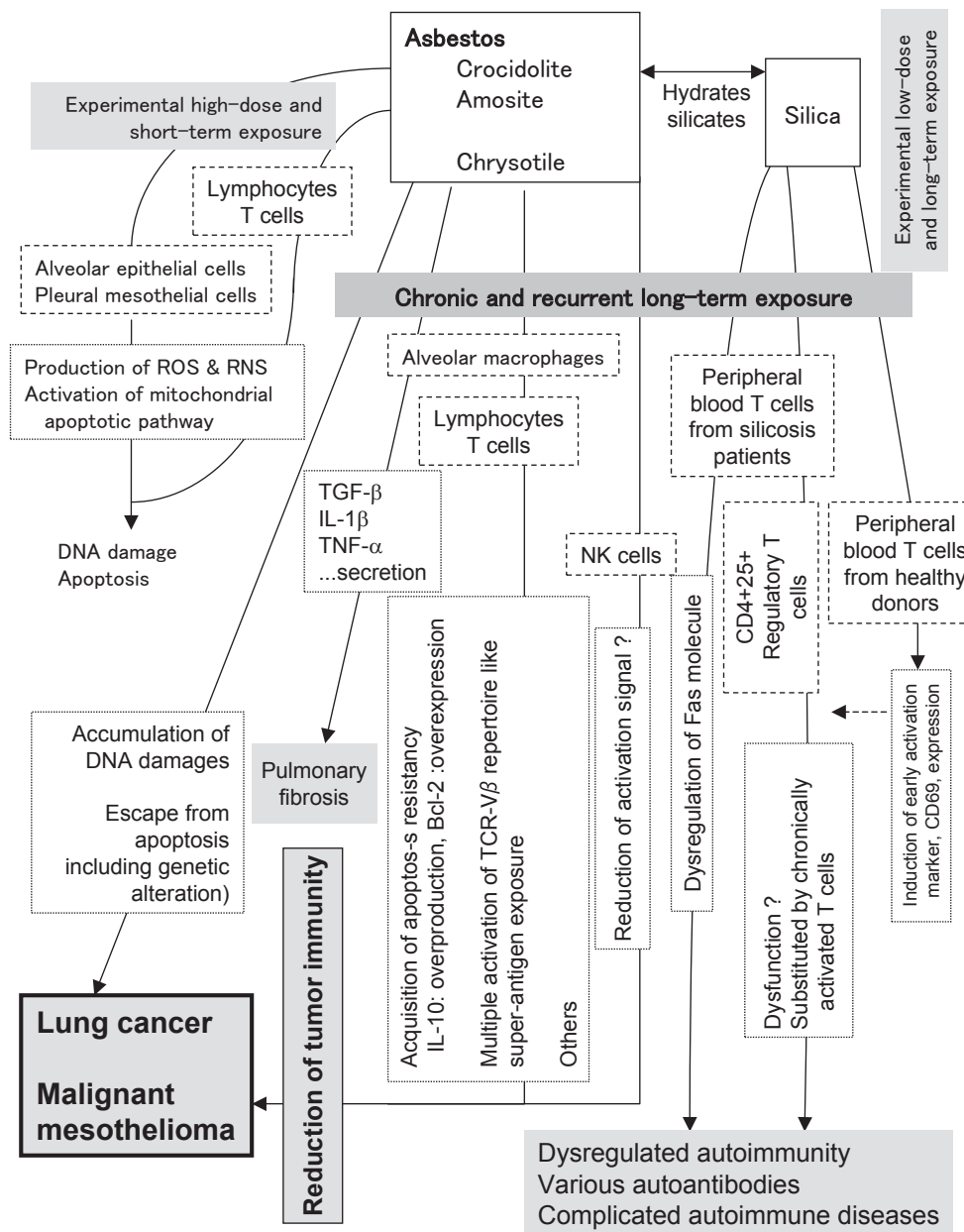


Fig. 2 Schematic presentation of effects of asbestos/silica on human immunocompetent cells

で殆どの細胞がアポトーシスに陥る濃度での曝露で、活性酸素種の産生、ミトコンドリア系のアポトーシス経路の活性化が生じていることが認められた[24]。一方、上記のアポトーシスの度合いが強度でない比較的低濃度の1年前後の長期曝露によって、アスベスト(我々はこのモデルではクリソタイルを用いているが)起因性アポトーシスに抵抗性を有する亜株の樹立に至った。その上で、この細胞株の特性を主にアポトーシスに着目して検討してみると、関連分子ではBCL-2の亢進とBAXの低下、その上流に存在するSTAT3の活性化、その誘導にはIL-10の産生亢進とオートクリンな作用、そしてIL-10の誘導にはSrcファミリーの活性化が生じていることが判明した[25]。これらのことは、アスベスト曝露が免疫担当細胞に何等かの影響をもたらすことを示唆するものである。また、アスベスト曝露によって生じる疾患としての悪性腫瘍を免疫学的な視点で捉え、そこには腫瘍免疫の減衰という状態が生じている可能性がある。MT-2細胞は、元来CD4+25+であることから、もし、この細胞が制御性T細胞としての特質を有しているとすると、アスベスト長期慢性低濃度曝露によってその機能が亢進されるような事態が認められる場合には、腫瘍免疫との関連も興味深いものとなり、また、珪酸とアスベストの免疫系への作用の比較という点でも今後、早急に検討を加えていかねばならないと考えている。

図2は、我々の検討してきた珪酸やアスベストのヒト免疫系への影響について、現在検討中の項目も含めて簡単に図示したものである。こうした機構を解明しアスベストの免疫系への影響による変化をとらえる事により、アスベスト既曝露症例における癌発症の指標を確立することや、あるいは、免疫学的な修飾を加える事により発がんやその進展過程を遅延させることを介して、既曝露であっても発がん前に天寿を全う出来るような方策の構築が叶わないかと考えている。

5. まとめ

石綿使用工場の周辺住民での悪性中皮腫症例が判明してきている現状、あるいはそれらの工場での作業者のアスベスト関連疾患の増加ということが、本邦では医学医療面のみならず社会的にも大きな問題となってきた。アスベストに関連する生物科学研究者として、あるいは予防医学の範疇で行動している者としても、我々は現在の国民が抱えている不安を排除すべき研究を早急に行わなければならないと考える。例えば、30~40年前に少量のアスベストの曝露を受けたかどうかを記憶していない多くの国民に対して、アスベスト曝露の生物学的な指標の確立が必要とされるであろう。また、アスベスト起因性癌の早期指標の確立も必須であろう。勿論、現在の悪性中皮腫の治療率が芳しいものとは云えない現状にあって、治療率向

上に向けた臨床的な取り組みも行っていかなければならない。更に、アスベスト関連疾患の発症予防という観点から何らかの生体影響の発現の予防に関する分子標的の確立もまた試みられるべき方向性ではないかと考える。

文 献

- 1) <http://www.mhlw.go.jp/topics/2005/07/tp0729-2.html>(厚生労働省ホームページ、アスベスト問題への当面の対応、平成17年7月29日アスベスト問題に関する関係閣僚による会合報告)
- 2) <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/01/h0118-2.html>(厚生労働省ホームページ、平成18年1月18日発表、石綿製品の全面禁止に向けた石綿代替化等検討会報告書について)
- 3) http://www.env.go.jp/air/asbestos/law_sekou.html(環境省ホームページ、石綿による健康被害の救済に関する法律の施行について)
- 4) http://www.shugiin.go.jp/itdb_gian.nsf/html/gian/honbun/houan/g16405002.htm
- 5) <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/03/h0307-1.html>(厚生労働省ホームページ、平成18年3月7日発表、「石綿による健康被害の救済に関する法律の施行期日を定める政令」及び「石綿による健康被害の救済に関する法律施行令」について)
- 6) <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/04/h0407-4.html>(厚生労働省ホームページ、平成18年4月7日発表、「石綿による健康被害の救済に関する法律」に基づく特別遺族給付金に係る請求及び相談状況について)
- 7) Roggli VL, Coin P: Mineralogy of asbestos. In Pathology of asbestos-associated diseases. 'Rogli VL, Ourl TD, Sporn TA eds) second edition, pp1-16, 2004 Springer-Verlag, New York
- 8) 神山宣彦.石綿の基礎(知識)In 産業保健ハンドブック石綿関連疾患-予防・診断・労災補償-(厚生労働省保障課監修)pp 11-38, 2004 財団法人産業医学振興財団東京
- 9) 神山宣彦.「奇跡の鉱物」と呼ばれた石綿.In なぜアスベストは危険なのか.(中央労働災害防止協会編)pp 60-89, 2006 中央労働災害防止協会東京
- 10) Upadhyay D, Kamp DW. Asbestos-induced pulmonary toxicity: role of DNA damage and apoptosis. Exp Biol Med (Maywood). 228: 650-659,2003
- 11) Mossman BT, Churg A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. Am J Respir Crit Care Med 157: 1666-1680, 1998
- 12) Jaurand MC. Mechanisms of fiber-induced genotoxicity. Environ Health Perspect 105: 1073-1084, 1997

- 13) Kamp DW, Panduri V, Weitzman SA, Chandel N. Asbestos-induced alveolar epithelial cell apoptosis : role of mitochondrial dysfunction caused by iron-derived free radicals. *Mol Cell Biochem* 234-235 : 153-160, 2002
- 14) Panduri V, Surapureddi S, Soberanes S, Weitzman SA, Chandel N, Kamp DW. P53 mediates amosite asbestos-induced alveolar epithelial cell mitochondria-regulated apoptosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34 : 443-452, 2006
- 15) Paakko P, Ramet M, Vahakangas K, Korpela N, Soini Y, Turunen S, Jaworska M, Gillissen A. Crocidolite asbestos causes an induction of p53 and apoptosis in cultured A-549 lung carcinoma cells. *Apoptosis* 3 : 203-212, 1998
- 16) Narasimhan SR, Yang L, Gerwin BI, Broaddus VC. Resistance of pleural mesothelioma cell lines to apoptosis : relation to expression of Bcl-2 and Bax. *Am J Physiol* 1275 : L165-171, 1998
- 17) Scapoli L, Ramos-Nino ME, Martinelli M, Mossman BT. Src-dependent ERK5 and Src/EGFR-dependent ERK1/2 activation is required for cell proliferation by asbestos. *Oncogene* 23 : 805-813, 2004
- 18) Yuan Z, Taatjes DJ, Mossman BT, Heintz NH. The duration of nuclear extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 signaling during cell cycle reentry distinguishes proliferation from apoptosis in response to asbestos. *Cancer Res* 64 : 6530-6536, 2004
- 19) Otsuki T, Miura Y, Nishimura Y, Hyodoh F, Takata A, Kusaka M, Katsuyama H, Tomita M, Ueki A, Kishimoto T. Alterations of Fas and Fas-related molecules in patients with silicosis. *Exp Biol Med (Maywood)* 231 : 522-533, 2006
- 20) 大槻剛巳、高田晶子、植木絢子、三浦由恵、西村泰光、草加勝康、勝山博信.珪肺症例T細胞における膜 Fas 発現.臨床環境医学 14 : 119-127, 2005
- 21) 高田晶子、三浦由恵、兵藤文則、勝山博信、植木絢子、大槻剛巳.珪肺症例に検出される Fas とその関連分子の異常.日本衛生学雑誌 60 : 30-37, 2005
- 22) Wu P, Hyodoh F, Hatayama T, Sakaguchi H, Hatada S, Miura Y, Takata-Tomokuni A, Katsuyama H, Otsuki T. Induction of CD69 antigen expression in peripheral blood mononuclear cells on exposure to silica, but not by asbestos/chrysotile-A. *Immunol Lett* 98 : 145-152, 2005
- 23) Wu P, Miura Y, Hyodoh F, Nishimura Y, Hatayama T, Hatada S, Sakaguchi H, Kusaka M, Katsuyama H, Tomita M, Otsuki T. Reduced function of CD4+25+ regulatory T cell fraction in silicosis patients. *Int J Immunopathol Pharmacol* 19 : 357-368, 2006
- 24) Hyodoh F, Takata-Tomokuni A, Miura Y, Sakaguchi H, Hatayama T, Hatada S, Katsuyama H, Matsuo Y, Otsuki T. Inhibitory effects of antioxidants on apoptosis of a human polyclonal T cell line, MT-2, induced by an asbestos, chrysotile-A. *Scand J Immunol* 61 : 442-448, 2005
- 25) Miura Y, Nishimura Y, Katsuyama H, Maeda M, Hayashi H, Dong M, Hyodoh F, Tomita M, Mastuo Y, Uesaka A, Kuribayashi K, Nakano T, Kishimoto T, Otsuki T. Involvement of IL-10 and Bcl-2 in resistance against an asbestos-induced apoptosis of T cells. *Apoptosis* 11 : 1825-1835, 2006