

ImmunoTox Letter

免疫毒性研究会：The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 5 No. 1 (通巻 9 号)2000

目次

第 6 回免疫毒性研究会の報告

東北大学大学院医学系研究科病理学講座 名倉 宏

第 7 回免疫毒性研究会予告 (2)

免疫毒性学という学問体系の構築を目指して

静岡県立大学 食品栄養科学部 公衆衛生学研究室
大学院 生活健康科学研究科 生体衛生学研究室 荒川 泰昭

珪肺症患者にみられる自己抗体

— アポトーシスの抑制と T cell 活性化の役割

川崎医科大学 衛生学 植木 絢子
急性薬物性肝障害モデルの免疫毒性学的再検証—
サイトカイン介在性について

昭和薬科大学衛生化学研究室 北條博史

「免疫毒性試験プロトコール」第 3 回

モルモット Maximization Test

(財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 安全性試験室 金澤 由基子

Local Lymph Node Assay

株式会社資生堂 基盤研究センター 薬剤開発研究所 畑尾 正人
マウスを用いる Popliteal Lymph Node Assay
(PLNA)

三共株式会社 安全性研究所 間 哲生, 木村 努

第 7 回免疫毒性研究会予告 (2)

日時：平成12年9月25日 (月)、26日 (火)

会場：千葉大学構内 けやき会館大ホール他
千葉市稲毛区弥生町1-33

主催：免疫毒性研究会

協賛：日本トキシコロジー学会

実行委員長：上田志朗

(千葉大学大学院薬学研究科医薬品情報学教授)

主要テーマ：『免疫毒性の基礎から臨床へ』

招待講演：Steven Holladay, Associate Professor,
Anatomy and Toxicology
College of Veterinary Medicine, Virginia
Polytechnic Institute

シンポジウム：「臨床例における薬剤・化学物質
による免疫毒性」
(症例を中心に)

皮膚、肝臓、血液、腎臓、呼吸器等

その他特別講演、ワークショップ、一般演題

<一般演題>

一般演題申し込み：

申し込み締め切りは7月15日 (土曜日)

抄録用紙等は会員の方には5月中旬に発送
いたします。

また、非会員の方は下記事務局に
FAX, TEL等にて御請求ください。

参加費

会員：事前登録 3,000円 (当日 4,000円)

非会員：事前登録 6,000円 (当日 7,000円)

懇親会：事前登録 5,000円 (当日 6,000円)

予約参加申し込み方法 (申込期限は8月31日 (木))
ですが送金先等は事務局にお問い合わせください。

問い合わせ先：事務局

〒263-8522 千葉市稲毛区弥生町1-33

千葉大学大学院薬学研究科医薬品情報学教室内

佐藤紀子、大谷まど香、渡部さえ子、上田志朗

TEL：043-290-2996 または 3022 (ダイヤルイン)

FAX：043-290-2996 または 3022

振込み先：千葉緑町郵便局 No. 00190-6-196066

第 7 回免疫毒性研究会

第 6 回 免疫毒性研究会の報告

名倉 宏

東北大学大学院医学系研究科病理学講座

第 6 回免疫毒性研究会を、『免疫毒性と内分泌』
を主要テーマとして、1999年 9 月 20、21 日に仙台
市で開催した。仙台という地理的条件にもかかわらず、
120人以上の参加者と21題の一般演題が寄せ
られ、当初の目的が達せられた。

主要テーマにあわせ、招待講演に英国Edinburgh
大学の J. Ian Mason 教授による “The role of the
cytochrome P450 and steroid dehydrogenase gene
families in steroid metabolism and action”, 特別講
演に東北大学の 笹野公伸 教授による
“Endocrinology から Intracrinology へ” が行われ、
この分野における最新の情報が紹介された。免疫
機能の攪乱を起こす毒性物質群の多くがステロイ

ト作用を有する事から、会員に今後の研究に重要な指針を提供するとともに、大きな感銘を与えた。

国立環境研究所の藤巻秀和先生と帝京大学の大沢基保先生によるシンポジウム『Th1/Th2パラダイム』、国立医薬品食品衛生研究所の澤田純一先生とヤンセン協和(株)の牧 栄二先生によるワークショップ『アレルギー性の予知試験』では、免疫毒性の分野でのこれらの今日的課題について、それぞれの分野での第一線で活躍している研究者を中心に最先端の研究成果と技術の進歩が話され、活発な討論が行われた。

免疫毒性学は、さまざまな化学物質がヒトや動物の免疫系を介しその諸機能や形態に障害作用を示す機序を解明する学問領域であるが、それはいうまでもなく、医薬品や食品の安全性の検証のために最も重要な領域である。さらに今日では、我々を取り巻く環境汚染物質と健康問題とも密接な係わりを有する事が注目されている。しかも、その免疫系への直接作用ばかりでなく、神経内分泌系を介しての免疫系への作用機序も解明されつつあり、『免疫系の神経内分泌制御』も免疫毒性研究の重要なキーワードであることを、仙台の研究会で十分理解していただけたものと思う。

最後に、この第6回研究会開催に当たり、全面的に御支援頂きました免疫毒性研究会運営委員会の先生方、及び当日研究会運営に従事してくれました笹野公伸教授はじめ東北大学病理学講座のメンバーに心から感謝申し上げたい。

免疫毒性学という学問体系の構築を目指して 荒川 泰昭

静岡県立大学 食品栄養科学部 公衆衛生学研究室
大学院 生活健康科学研究科 生体衛生学研究室

今から25年ほど前になるだろうか、東京大学医学部衛生学教室に在任し始めた頃より、これからの予防医学は後追対策ではなく前向き対策が必要であり、健康阻害要因を検索、評価する手法としての毒性学も従来からの大量・短期暴露でのLD₅₀レベルの一般急性毒性学的評価ではなく、微量・長期暴露での慢性毒性学的評価が必要であることを感じ始めた。とくに免疫系では化学物質過敏症、花粉症、アトピー性皮膚炎などの発症要因が、また脳神経系ではパーキンソン氏病、アルツハイマ

ー病などの発症要因が環境化学物質の微量・長期暴露(潜行型環境汚染)によるものではないかと疑われた。そこで、毒性学の領域に免疫学的評価や脳神経学的評価を取り入れた免疫毒性学や脳神経毒性学なる学問体系を構築出来ないかと考え始めた。当時、社会医学領域ではメチル水銀の水俣病、カドミウムのイタイイタイ病、ガソリン・アンチノック剤の四エチル鉛障害、それに森永砒素ミルク事件など、金属による環境汚染問題が主流であったため、とりあえず時流に合わせて微量元素あるいは金属の免疫毒性の研究から始めた。

猿まねが大嫌いな私は5-10年先に問題化する環境化学物質は何かと先取りを考え、自然界や食物連鎖を通して安定に残存し得る物質として酸素、炭酸ガス、水などに対して安定な物質をポーリングの電気陰性度などを駆使して選出し、さらに産業界において水銀、鉛に替わって頻用され得る物質を重ね合わせて、有機錫を取り挙げた。海外から2年がかりで標準化合物を集め、ガスクロ、液クロで分析法を作り、有機錫の研究をスタートさせた。やがてその3年後には、この研究が有機錫の食品衛生上の問題点を懸念するWHO特別委員会や海洋汚染を問題視する米国商務省標準局(NBS)、米国海軍研究所、ロックフェラー大学などからの招聘、講演、研究協力依頼などへと発展し、国際的規模の有機錫海洋汚染に関する研究の発端となった。そして、これがさらに国際海洋会議、国際有機錫シンポジウムなど種々の国際会議開催へと発展し、現在、この有機錫による海洋汚染は生態系の破壊からさらに環境ホルモン(内分泌攪乱化学物質)の問題へと発展(?)している。

また、時を同じくして手掛けた台湾政府要請のPCB中毒事件は現在のダイオキシンの問題へと発展し、5年間にわたる東京都(美濃部都知事)委託のプラスチック添加剤の安全性評価の研究は可塑剤、安定剤などにおいて、20年後の現在問題視されている環境ホルモンの全てを包含する結果となっている。

ここでは紙面の都合で、これまでの研究の中から微量元素あるいは金属の欠乏や過剰による免疫毒性や脳神経毒性の一端を紹介させていただく。すなわち、微量元素の欠乏症としては最も顕著な免疫不全や脳機能障害を誘発する亜鉛欠乏症を、また過剰症としては免疫毒性、中枢神経障害、そして最近では環境ホルモンとして内分泌攪乱など、

最も顕著で多彩な症状を誘発する有機錫中毒症を選び、亜鉛欠乏と有機錫暴露の免疫毒性ならびに脳神経毒性における症状発現が非常に類似していることに着目し、その類似症状発現の接点を考察する。

免疫系においては、亜鉛欠乏は主としてT細胞の数の減少や機能の抑制を誘発し、T細胞依存性の免疫能を低下させる。しかも、この亜鉛欠乏による免疫不全の特徴は胸腺ならびに胸腺依存性リンパ組織の選択的萎縮とそれに伴う細胞性免疫の不全である。一方、ジブチル錫、ジオクチル錫などのジアルキル錫や、トリブチル錫、トリフェニル錫、トリシクロヘキシル錫などのトリアルキル錫も重篤な免疫障害を誘発する。とくにジブチル錫やジオクチル錫は胸腺ならびに胸腺依存性部位を選択的に萎縮させ、T細胞依存性の免疫機能を抑制する。この抑制作用の強さはジブチル錫、ジオクチル錫>トリブチル錫>トリフェニル錫の順であり、かつこの作用はこれら物質がもつ他の酸化的リン酸化反応の抑制や脳浮腫よりも鋭敏である。両者の類似症状発現の接点はその発症要因の共通点から推察して、胸腺萎縮に関してはT-リンパ球の(1)リン脂質代謝系の阻害(有機錫の場合は核ではなく、ゴルジ体や小胞体領域への集積による)、(2)DNA合成阻害、(3)細胞増殖抑制、(4)細胞死による萎縮などが考えられ、また免疫機能の低下に関しては胸腺萎縮というT-リンパ球の量的異常と(5)亜鉛を活性中心とする胸腺ホルモンの活性低下などによる胸腺におけるT-リンパ球の分化、成熟過程の異常(質的異常)による免疫応答系の混乱が考えられる。

脳神経系においては、亜鉛欠乏は記憶学習障害や嗅覚障害などを誘発する。また、トリメチル錫、トリエチル錫、トリブチル錫などのトリアルキル錫暴露においても同様に記憶学習障害や嗅覚障害などを誘発する。これらの症状の併発はまさにアルツハイマー病の併発症状そのものであるが、亜鉛欠乏と有機錫暴露の両者の類似症状発現の接点はその発症要因の共通点から推察して、記憶学習障害に関しては海馬亜鉛の消失にある。すなわち、亜鉛欠乏あるいは有機錫暴露による(1)海馬のCA3, CA4領域の苔状線維(mossy fiber)・シナプス終末に多量に局在する亜鉛の欠乏あるいは消失、(2)亜鉛の消失によるカルシウムチャンネルの調節異常とそれに伴うカルシウムホメオス

タシスの崩壊(亜鉛はカルシウムチャンネルのモジュレーター)、(3)記憶学習システムの崩壊、(4)神経細胞死などが考えられる。また、嗅覚障害に関しては、嗅球、嗅上皮など嗅覚系における(1)副甲状腺ホルモン(PTH)の著増によるアデニルシクラーゼの活性化とそれに伴うcAMP過剰産生、(2)cAMPの過剰増大によるcAMP依存性カルシウムチャンネルの調節異常、(3)カルシウムチャンネルの調節異常に伴うカルシウムの過剰集積と、(4)それに伴う神経細胞(顆粒ニューロン)の死が共通要因として挙げられる。

また、胸腺が免疫系-内分泌系-神経系に相互に関与していることが考えられることから、有機錫招来の胸腺萎縮にみられる化学的胸腺摘出(chemical thymectomy)あるいは不全状態が免疫機能の障害ばかりでなく、神経、内分泌系に作用し、学習・記憶などの脳機能の障害の誘発や加齢促進、さらには個体老化の促進などを誘発することが示唆される。現在、この観点からも検討を加えているが、神経内分泌系への影響を示唆するいくつかの興味ある知見を得ている。

以上の例でも解かるように、元来、免疫毒性という概念は化学物質による免疫系への有害影響を研究する分野として構築されるべきものであろうが、これからの免疫毒性学は免疫領域だけからの把握では到底不十分であり、脳機能や内分泌の領域をも抱き込んで把握し、構築してゆかねばならないことを痛感する。そして、免疫修飾物質(immunomodulators)あるいは免疫関連反応物質(immune-interacting compounds)の免疫系への修飾を出来るだけ正確に把握するためには、それぞれの反応進行状態に合った、より特異的な検出法の選択が要求される。現在、ヒトならびに実験動物において種々の免疫能パラメーターが使用されているが、現在のところヒトにおいてそれぞれの免疫応答における進行状態を的確に、しかも特異的に把握できる試験法は未だ十分には確立されていない。従って、現状ではいくつかのパラメーターを組み合わせることでゆることが必要であろう。そして、あくまでも免疫毒性(広義には免疫応答の修飾)評価は最終的にはヒトにおいて成されなければならないものであるから、動物からのデータは常にヒトへの外挿を念頭において評価されなければならない。そして、今後の課題として最も要求されることは新しい、より特異的な免疫

能パラメーターの開発とその確立である。そして、さらにそれぞれのパラメーターから産出されるデータを蓄積すると共に、これらのデータを解釈できる学問体系を確立してゆかねばならない。

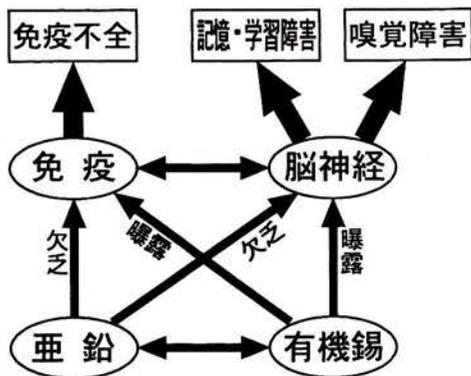


図 免疫ならびに脳神経の毒性発現にみる亜鉛欠乏と有機錫曝露の類似症状発現の接点

珪肺症患者にみられる自己抗体

— アポトーシスの抑制とT cell活性化の役割

植木 絢子

川崎医科大学 衛生学

1. はじめに

最近、Fas-Fas リガンド系を介するapoptosisの異常が自己免疫成立と深く結びついていることが判明した。私共は、珪酸および珪酸塩化合物曝露によって生じる自己免疫の成立機序について検討してきたが、珪肺症患者Fas-Fasリガンド系を介するアポトーシスが低下している可能性があること、珪酸および珪酸塩化合物が体内でリンパ球の活性化を反復している可能性が示唆されるので、これらについてまとめてみたい。

2. FasとFasリガンド

多細胞生物が個有の制御機構の中に持っているプログラムが働いて起る死がapoptosisであり、Kerr & Wyllie らが、necrosisと異なる細胞死の概念として提唱したこと、apoptosisを誘導するシグナルの1つにFas-Fas リガンド系があることは周知の通りである。1989年米原らはヒトの線維芽細胞FS7の表面抗原を認識してFS7をはじめヒト細胞に細胞死を起すモノクローナル抗体を作り、抗Fas抗体と命名し、1991年長田らが Fas抗原のcDNAクロー

ニングに成功した。一方、ドイツのTrauthらは、ヒト細胞にapoptosisを起す抗APO-1抗体を1989年に報告していたが、このAPO-1抗原がヒトFas抗原と同一であることが後に確認された。FasがTNF受容体ファミリーに属する分子であることから、特異的なリガンドの存在が予想されたが、1994年須田らが細胞障害性T細胞 (CTL)の細胞融解物からFasリガンド (FasL)の精製に成功した。FasLの細胞外領域は、TNFファミリーと相同性を示し、Fasに反応してapoptosisを誘導し、細胞内領域にはTNFファミリーとの相同性がなく機能が不明であったが、1999年 Bossi & Griffithsが、新しく合成されたFasLは細胞内ライソゾームの中に貯えられてから細胞膜表面に運ばれ、この際にFasLの細胞内領域が不可欠であることを報告している。

Fasが広範囲の細胞に分布しているのに対し、FasLは胸腺、脾臓、リンパ節などのリンパ組織および精巣と角膜で強く発現しており、後2者では、CTLによる破壊から自身の細胞を守るために働くと考えられている。Fas 遺伝子に変異があってFasの mRNAが発現しない特殊なマウスである lprマウスでは、生後数ヶ月してからCD4, CD8 ダブルネガティブ T細胞が多数出現して自己抗体の産生が起り、Systemic lupus erythematosus (SLE)様の自己免疫疾患が発症する。一方、Fas リガンド遺伝子の変異によりFasL分子が機能を発揮できない gld マウスでもlpr マウスと同様の異常を表すことが明らかとなった。

Fas-FasLシステムの生理的役割は、少なくとも2つ考えられ、1つは自己反応性T細胞の除去であり、もう一つは、細胞障害性T細胞によるウイルス感染細胞や移植片等の標的細胞にapoptosisを誘導することである。Fas分子には未だ不明の機序によって、膜貫通部位を欠く可溶性 Fas (sFas)が産生され、このsFasはFasLとの結合能を持つために、細胞膜上でのFasとFasLの結合を妨げ、apoptosisに抑制的に働くと考えられている。この説を証明するものとして、SLE患者血清中にはsFas濃度が健康人に比して高いことが確認されていて、SLE患者では自己反応性クローンの除去に支障があることが推測される。

3. 珪肺症患者におけるFas, Fasリガンド

Informed consent の得られた珪肺症、SLE、PSS患者および健康人ボランティアから提供された血