

アスベスト繊維（石綿）による発がんメカニズムの解明
 ～アスベスト繊維は2価鉄に依存するゲノム情報を改変する環境を間質に創り出し、
 中皮細胞にβ-カテニン発現を誘導することにより悪性中皮腫を発生させる～

名古屋大学大学院医学系研究科生体反応病理学の伊藤文哉（いとう ふみや）研究員と豊國 伸哉（とよくに しんや）教授による研究グループは、アスベスト繊維による悪性中皮腫発がんメカニズムの一端を明らかにしました。

アスベスト^{*1}は先進国ではすでに使用が禁じられていますが、世界の多くの国ではいまだに使用されており、悪性中皮腫^{*2}発生の原因となる発がん物質として広く問題視されています。また、この発がんは、曝露から発症までは30～40年の長きを要するため、日本においても今後悪性中皮腫の罹患者が増えることが予想されています。本研究グループは、アスベストによる発がんには過剰鉄が深く関与しており、局所の鉄を減らすことが発がんの予防となるという報告をしましたが、過剰鉄を取り巻く細胞や分子機構の詳細なメカニズムはよくわかっていませんでした。今回、発がんリスクの高いアスベスト繊維と低いアスベスト繊維の生体影響を比較することにより、中皮細胞の発がんに関係深い変異環境を初めて分子細胞レベルで同定しました。発がんリスクの高いアスベスト繊維のみが、貪食細胞マクロファージにフェロトーシス^{*3}などの細胞死を繰り返して引き起こし、間質^{*4}の鉄過剰の原因となっていることを明らかにしました。また、アスベスト曝露後の中皮細胞再生時には、β-カテニン^{*5}の高発現とDNA傷害が同時に認められました。β-カテニンを中皮細胞において強制発現させると、細胞周期のG2/M期^{*6}の割合が増え、この時期にはとくに中皮細胞内の触媒性Fe(II)^{*7}が増大していました。また、この条件ではアスベスト発がんの最大の標的遺伝子であるp16^{INK4a}^{*8}がん抑制遺伝子が核膜近傍に局在するようになることから、細胞外からの鉄を触媒とする酸化ストレスに対してDNA傷害を受けやすい位置にあることがわかりました。実際に、過酸化水素曝露後の中皮細胞では遺伝子の欠失を伴いながらp16タンパク質が低下していました。これらの結果は、アスベスト繊維が継続的なマクロファージの細胞死を起こすことにより、触媒性Fe(II)過剰による変異環境を形成していることを意味しています。

今回の成果は、アスベストに曝露されたが、まだ悪性中皮腫を発症していないひとのがん予防に関して、有益な知見となります。本研究結果は科学誌である「Redox Biology」（2020年6月24日電子版）に掲載されました。

ポイント

- アスベスト曝露と悪性中皮腫発症との関係は 1960 年代から知られている。
- 発がん機構に関して諸説があるが、不明な点が多かった。今回はその一端を明らかにした。
- アスベスト繊維により継続的に引き起こされるマクロファージの細胞死により間質の鉄過剰が生じる。
- 間質鉄過剰の条件で中皮細胞が再生すると β -カテニン発現増加が起こる。
- β -カテニン発現増加に伴い、中皮細胞では触媒性 2 価鉄が増え、細胞周期の G2/M 期の割合が増し、がん抑制遺伝子 p16^{Ink4a} 遺伝子座の核内位置が核膜に近くなることが判明した。
- 以上の機構により、中皮細胞では最大の標的遺伝子であるがん抑制遺伝子 p16^{Ink4a} の欠損が起こりやすくなることを明らかにした。

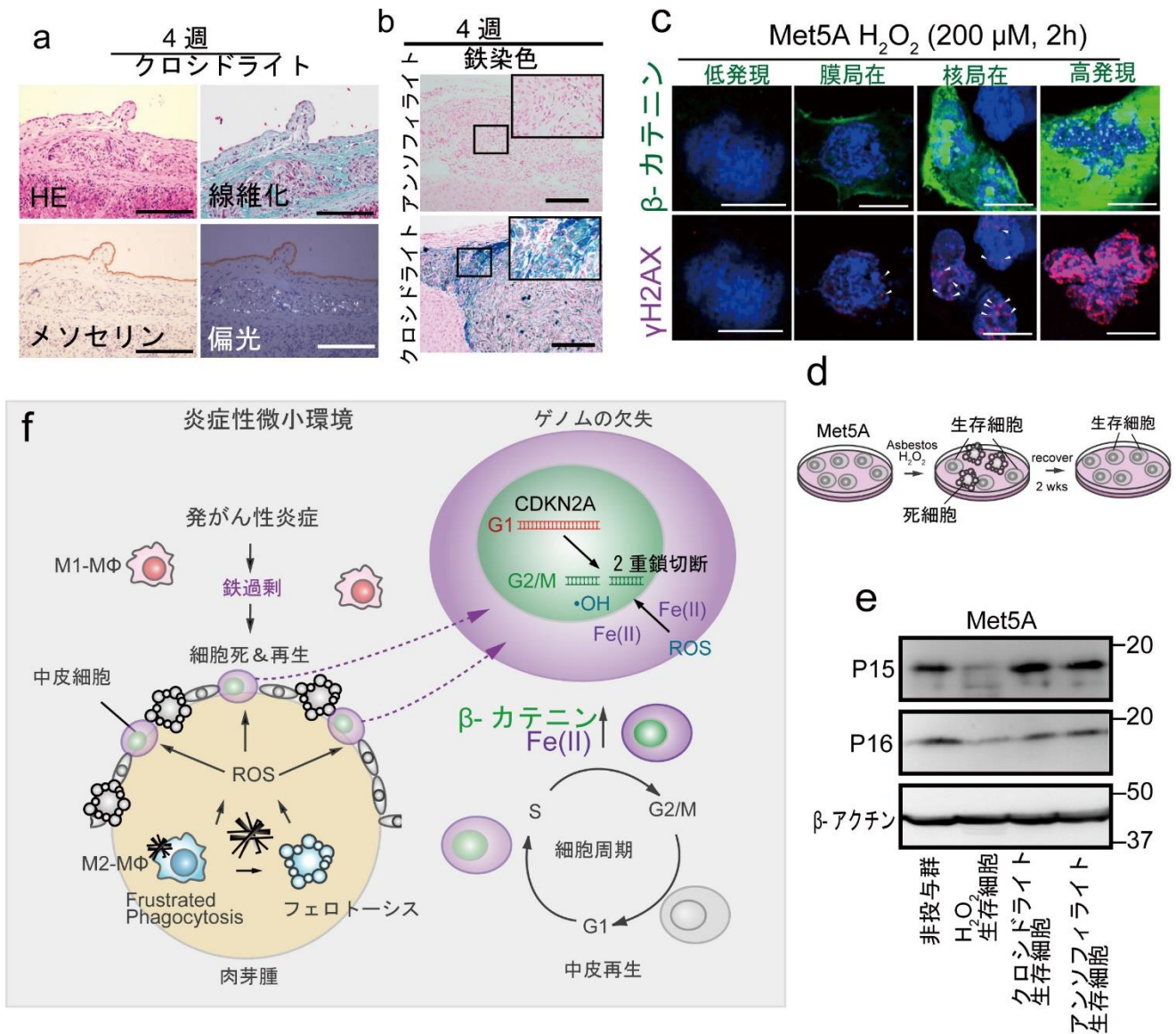
1. 背景

アスベストはいまだに世界中で使用されており、悪性中皮腫を発生する発がん物質として広く問題視されています。アスベスト繊維の発がん機構の研究は2つの観点から進められてきました。すなわち、アスベスト繊維が中皮細胞に取り込まれ、核内へも直接作用することで発がんが起こるという見方と、アスベストが引き起こす炎症を介して間接的に中皮細胞をがん化させるという見方です。この議論は未だ決着がついていません。アスベストは鉄との関連が強く、研究グループは鉄を含むタンパク質のアスベストによる吸着、瀉血による除鉄でラット悪性中皮腫発症を遅延できること、などを報告してきました。しかし、悪性中皮腫の 70% 以上においてがん抑制遺伝子 p16^{Ink4a} の欠失を認めるにも関わらず、なぜアスベスト繊維曝露がこの遺伝子領域の欠失にいたるのか、という疑問は解決されていません。そこで、本研究では、鉄代謝異常という環境変化を伴うアスベスト発がん機構を解明するため、発がん性の強いクロシドライト（青石綿）と発がん性の低いアンソフィライト（直閃石）の影響を比較しながら、培養細胞および実験動物を使用した実験を行いました。

2. 研究成果

アスベスト繊維の生体内における局在を確認するために、ラット腹腔内にクロシドライトおよびアンソフィライトを投与したところ、投与後数日はアスベスト繊維が中皮細胞に接触していたものの、投与後 2 週間以降には生体防御反応により炎症細胞や線維芽細胞が直接アスベストに接し（肉芽腫^{にくげしゅ}*9）、多くは肉芽腫内のマクロファージに貪食されていることが判明しました。また、中皮細胞は、肉芽腫の表面の一部を覆い、アスベスト繊維とは離れて存在していました (a)。

とくに、クロシドライト投与後の間質では、貪食細胞マクロファージの継続的細胞死を伴いながら鉄過剰状態となり、中皮細胞が常に鉄に曝露される環境にあることを見出しました (b)。一方、中皮細胞がアスベスト繊維曝露による細胞死後、残存中皮細胞の再生に β -カテニンを高発現することを見出しました。 β -カテニン高発現の中皮細胞集団において優位に DNA の 2 本鎖切断が発生することが明らかとなりました (c)。さらに、アスベスト繊維を直接作用させた中皮細胞と比較して、H₂O₂ による酸化ストレスを負荷した中皮細胞はがん抑制遺伝子である p16 タンパク質、および遺伝子の位置がその近傍にある p15 のタンパク質発現が低下していました (d, e)。



- (a) 偏光顕微鏡にて中皮細胞（メソセリン）とアスベスト繊維の位置が確認できます。
- (b) 鉄染色（青）。
- (c) β-カテニン（GFP・緑蛍光）と DNA2 本鎖切断（γH2AX^{*10}・赤蛍光）のイメージング像。
- (d) 中皮細胞に対し、アスベスト繊維および H₂O₂ を 24 時間曝露後、2 週間生存した細胞実験の模式図。
- (e) において生存した中皮細胞におけるがん抑制遺伝子 p16 およびゲノム領域が近傍にある p15 のウェスタンブロット^{*11}。
- (f) アスベスト繊維は肉芽腫内のマクロファージに貪食され存在しており、中皮細胞を両側から挟みながら腹腔内、肉芽腫内はいずれも鉄過剰状態になっています。中皮細胞はこの鉄過剰環境において死ぬものもありますが、再生中皮細胞はβ-カテニン高発現に伴い鉄を取り込みます。触媒性 Fe(II) の増大は酸化ストレスに対して弱くなり、p16^{INK4a} 遺伝子領域が核膜近傍に位置しやすい G2/M 期に DNA 切断を生じ、欠損が起こりやすくなります。

3. 今後の展開

本研究成果により、触媒性 Fe(II) 依存的な中皮腫発がん機構の一端が解明されました。また、中皮細胞再生時における β -カテニンの高発現は $p16^{INK4a}$ がん抑制遺伝子欠失に複数のメカニズムを介して寄与することが明らかとなりました。今後、すでにアスベストに曝露された方の悪性中皮腫発症を予防する戦略の基盤となる知見が得られたと考えています。既に報告されている除鉄や抗炎症などに加え、 β -カテニン経路も悪性中皮腫予防のための分子標的として期待されます。

4. 用語説明

1. アスベスト：天然の繊維状鉱物。耐久性、耐熱性、電気絶縁性に優れ、安価であったため、前世紀においては全世界で多量に使用された。建築材料、電気製品、衣料などに用いられていた。長期間の吸入により、肺がん、悪性中皮腫、石綿肺などの発生原因となる。発展途上国では今でも多量に使用されている。
2. 悪性中皮腫：私たちのからだには、胸腔・腹腔・心嚢腔とよばれる3つの空間があり、その中にいろいろな臓器が入っている。その表面を覆っている扁平な1層の細胞である中皮細胞由来の悪性腫瘍。アスベスト曝露との強い関連が示されている。
3. フェロトーシス：2012年に提唱された細胞死形態の1つ。触媒性2価鉄依存性の制御性壊死（ネクローシス）であり、脂質過酸化を伴うのが特徴である。
4. 間質：お互いの細胞接着性が強い上皮細胞や中皮細胞以外の部分を間質と総称している。膠原線維などの結合組織や、脂肪組織・血管などが存在する。
5. β -カテニン：細胞接着と遺伝子転写に関わるタンパク質である。 β -カテニンの変異および過剰発現は様々ながんで報告があるほか、発生や幹細胞の多能性維持などに関与している。
6. G2/M：細胞周期において、ゲノムを正確に2倍になるように複製したあと、細胞分裂にいたるまでの期間。
7. 触媒性 Fe(II)：フェントン反応 ($\text{Fe(II)} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe(III)} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$) は、生体内で最も反応性の高い化学種である $\cdot\text{OH}$ (ヒドロキシルラジカル) を生じる化学反応であり、Fe(II)はこの反応を触媒する。
8. $p16^{INK4a}$ ： $p16$ はがん抑制タンパク質であり、CDK4 キナーゼを阻害することで細胞周期にブレーキをかけることでゲノム修復を可能にしている。さらに、同じ遺伝子から異なるエクソンを使用して翻訳される $p14^{\text{ARF}}$ タンパク質もがん抑制タンパク質でアポトーシスを誘導する $p53$ を安定化するために重要であり、 $p16$ 遺伝子領域はゲノムの守護神ともいわれる。
9. 肉芽腫：生体内に異物や結核菌などすぐには排除できないものが存在するとき、貪食細胞であるマクロファージが多数集合してできる病変。
10. γH2AX ：DNA2 本鎖切断部位にその修復のために集まるタンパク質。そのため、DNA2 本鎖切断が起こっていることの指標として使用される。
11. ウェスタンブロット：分子の大きさをふるいにかける電気泳動法と特異的な抗体を併用して、ある決まったタンパク質の量を評価する方法。

5. 掲載雑誌

掲雑誌名 : Redox Biology

論文タイトル : Asbestos conceives Fe(II)-dependent mutagenic stromal milieu through ceaseless macrophage ferroptosis and β -catenin induction in mesothelium

著者 : Fumiya Ito¹, Izumi Yanatori¹, Yuki Maeda¹, Kenta Nimura¹, Satoki Ito¹, Tasuku Hirayama², Hideko Nagasawa², Norihiko Kohyama^{3,4}, Yasumasa Okazaki¹, Shinya Akatsuka¹ and Shinya Toyokuni*^{1,5,6}

所属 :

¹Department of Pathology and Biological Responses, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya 466-8550, Japan

²Laboratory of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Gifu Pharmaceutical University, Gifu 501-1196, Japan

³Faculty of Economics, Toyo University Graduate School of Economics, Tokyo 112-0001, Japan

⁴National Institute of Occupational Safety and Health, Kawasaki 214-8585, Japan

⁵Center for Low-temperature Plasma Sciences, Nagoya University, Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8603, Japan

⁶Sydney Medical School, The University of Sydney, NSW 2006, Australia

DOI : doi.org/10.1016/j.redox.2020.101616

6. 研究支援

本研究は、科学技術振興機構（JST） 戦略的創造研究推進事業 CREST「細胞外微粒子に起因する生命現象の解明とその制御に向けた基盤技術の創出」研究領域（研究総括：馬場嘉信 名古屋大学教授）における研究課題名「細胞外微粒子への生体応答と発がん・動脈硬化症との関連の解析」（研究代表者：豊國伸哉 名古屋大学教授）（JPMJCR19H4）の支援を受けたものです。

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Re_Bi_200624en.pdf