

---

# 中皮腫の発癌機構の解明と新規治療法開発

---

平成24年度～平成28年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
研 究 成 果 報 告 書

平成29年3月

学校法人名	川崎学園
大 学 名	川崎医科大学
研究組織名	川崎医科大学
研究代表者	猶本良夫 (川崎医科大学総合外科学教授)

はじめに

本報告書は、平成 24 年度から平成 28 年度私立大学私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「中皮腫の発癌機構の解明と新規治療法開発」の研究成果報告である。

中皮腫とくに胸膜中皮腫は、悪性胸膜中皮腫は現在、アスベスト公害病として社会問題化している予後不良疾患であり、治療法として胸膜肺全摘術などの外科手術や放射線・化学療法が試みられてきているが、その効果は未だに限られている。また本邦における当該疾患患者は今後増加することが確実であり、病態解明と治療法の開発は急務といえる。

本研究プロジェクトでは、1) 中皮腫発症に関連するアスベスト誘発慢性炎症とミッドカインによる修飾、2) 悪性中皮腫におけるシグナル伝達と免疫機構の解析、3) 悪性中皮腫におけるシグナル伝達と免疫機構の解析、4) 宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発の 4 つの研究分野を設定した。各研究分野を個別に形成するのではなく、結果を相互に関連付けながら、成果を継続的に達成することを試みることで、アスベスト繊維のヒト免疫系への関与に関する、さらに新規治療開発に必要な多くの知見を得られたと自負している。

今後、本研究をさらに発展させ、WHO の「Asbestos: elimination of asbestos-related diseases」宣言に則ったアスベスト関連疾患への予防・診断・治療の包括的戦略拠点の形成を行いつつ、これらの疾患へ対峙していきたい。

最後に、本プロジェクトに参加していただき、多大な尽力をいただきました関係各位に深甚なる謝意を表します。

平成 29 年 3 月  
川崎医科大学  
総合外科学 教授  
猶本良夫

# 目 次

はじめに

1. 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要	1
2. 研究組織	3
3. 研究施設・設備等	4
4. 研究成果の概要	
1) 中皮腫発症に関連するアスベスト誘発慢性炎症とミッド カインによる修飾	5
2) 悪性中皮腫におけるシグナル伝達と免疫機構の解析	44
3) 胸膜中皮腫に対するミッドカインの発現解析ならびに新規 標的療法の開発	48
4) 宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発	53
5. 研究発表の状況	
1) 雑誌論文	56
2) 図書	69
3) 学会発表	70
6. その他の研究成果: シンポジウム・学会等の実施状況, インター ネットでの公開状況等	77

## 1. 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

本研究は、中皮腫発症機序の解明に基づく予防法の樹立、また中皮腫の増殖、浸潤、転移に関する細胞特性に基づく治療法の確立を目指す独創的研究である。中皮腫の予防法開発に関して、本学衛生学 大槻剛巳らはこれまで看過されがちであったアスベストによる免疫影響の視点から、腫瘍免疫の減衰などが、長期の潜伏期の後に旺盛な増殖形態をとる悪性中皮腫の発症・進展に関連しているのではないかという仮説に注目し、免疫系の修飾によって、アスベスト発がんの予防に至る道筋を同定できることを目標としている。

アスベスト繊維による免疫担当細胞への影響を実験的に検討する方法に関しては特に先駆的であり、症例モデルに対応した実験系のモデル構築とともに、アスベスト長期曝露に伴う免疫担当細胞の変化を捉え、これまでに多くの中皮腫発症と免疫の関わりに関する知見を報告してきている。中皮腫の細胞特性の解析から治療法開発を目指す総合内科学 4 瀧川らは、肺癌における分子標的療法の基礎的、臨床的有効性の解析を行ってきており、本研究では、悪性中皮腫細胞株を用いた細胞レベルでの分子細胞生物学的解析を、肺癌細胞株と比較することにより検討する。また Okada らの報告 (Okada S, et al. Br J Cancer 60: 1989) に基づき、ラット腹腔内に鉄およびキレート剤を反復投与して発症させる中皮腫モデルの作製手技を習得しており、*in vitro* でのシグナルがラット中皮腫でも同様の現象が生じているかを検討できる実験系を確立できている。また総合外科学 猶本、呼吸器外科学 中田らは、米国 Cincinnati Children's Medical Center の Whitsett A. Jeffrey 教授らと共同研究を行い、ミッドカインプロモータを用いたセルベース・アッセイ法により 44000 種の化合物ライブラリーよりミッドカイン特異的阻害剤を選定し、現在ミッドカイン発

現型非小細胞肺癌での抗腫瘍性を確認している。ミッドカインは正常細胞、組織での発現は低値であるため、当該プロモータにより選定阻害剤は低正常細胞障害性であることが期待できる。さらに本研究において、瀧川らが検討する既存抗癌剤とその下流シグナル解析から得られたデータに基づき、有効な併用療法の開発を行う。さらに本研究計画ではミッドカインの免疫担当細胞（大槻）、また Wnt シグナルに与える効果（瀧川）を解析する。

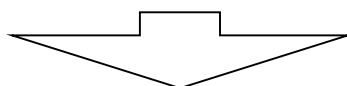
## 2. 研究組織

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
猶本良夫	総合外科学・教授	胸膜中皮腫に対するミッドカインの発現解析ならびに新規標的療法の開発	全体統括
深澤拓也	総合外科学・准教授	胸膜中皮腫に対するミッドカインの発現解析ならびに新規標的療法の開発	課題における実務実験と成果の解析
大槻剛巳	衛生学・教授	中皮腫発症に関連するアスベスト誘発慢性炎症とミッドカインによる修飾	課題における研究成果の総括
瀧川奈義夫	総合内科学4・教授	悪性中皮腫における細胞シグナル伝達と免疫機構の解明	課題における研究成果の総括・TBXAS1 およびROR1 解析
山根弘路	総合内科学4・准教授	悪性中皮腫における細胞シグナル伝達と免疫機構の解明	免疫チェックポイントシグナル解析
中田昌男	呼吸器外科学・教授	胸膜中皮腫に対するミッドカインの発現解析ならびに新規標的療法の開発・宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発	課題における研究成果の総括
沖田理貴	呼吸器外科学・講師	宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発	課題における実務実験と成果の解析

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
胸膜中皮腫に対するミッドカインの発現解析ならびに新規標的療法の開発	呼吸器外科学・教授	中田昌男	課題における研究成果の総括

(変更の時期：平成26年6月1日)



新

変更前の所属・職名	変更（就任）後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
呼吸器外科学・教授	呼吸器外科学・教授	中田昌男	課題における研究成果の総括

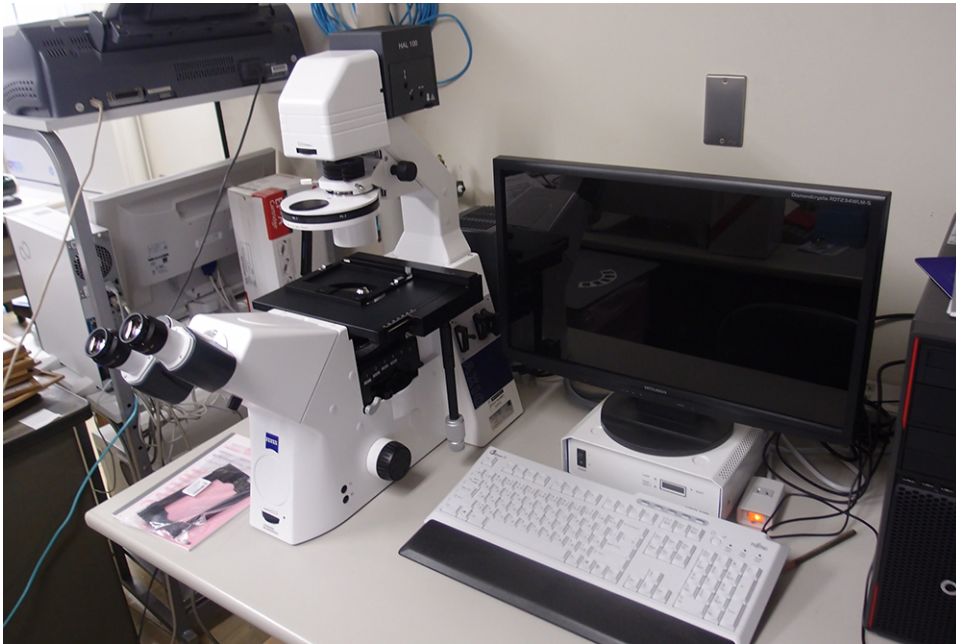
呼吸器外科学・講師	呼吸器外科学・講師	沖田理貴	宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発
-----------	-----------	------	-----------------------

本研究は、川崎医科大学、総合内科学4、呼吸器外科学、総合外科学の四教室にて遂行する。アスベストによる中皮腫発症機序の解明を衛生学 大槻剛巳（環境免疫学）以下5名にて、また腫瘍進展に関与する中皮腫の細胞特性に関する研究を総合内科学4 瀧川奈義夫（呼吸器内科学）以下3名にて、さらに中皮腫におけるミッドカイン発現解析と標的療法開発および宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発を呼吸器外科学 中田昌男、総合外科学 猶本良夫（胸部外科学）以下6名にて行った。また研究の統括・指揮は、総合外科学 猶本良夫が行った。各研究グループ連携のため、平成25年1月、平成26年2月、平成27年3月、平成28年3月に定期報告会および外部有識者との意見交換会を、また平成29年3月には最終報告会を開催した。本研究遂行のため実験補助員を雇用、さらに大学院生1名が研究を分担した。

### 3. 研究施設・設備等

川崎医科大学中央研究センターのうち、分子細胞生物ユニット・総合医療センター研究ユニットに設置してある設備機器にて研究を実施。新たにフローサイトメーター（FACSVerse BD Bioscience社、蛍光顕微鏡（ZEISS社：AxioObserver A1）およびカメラ（ZEISS社：AxioMRc5）を設備申請した。





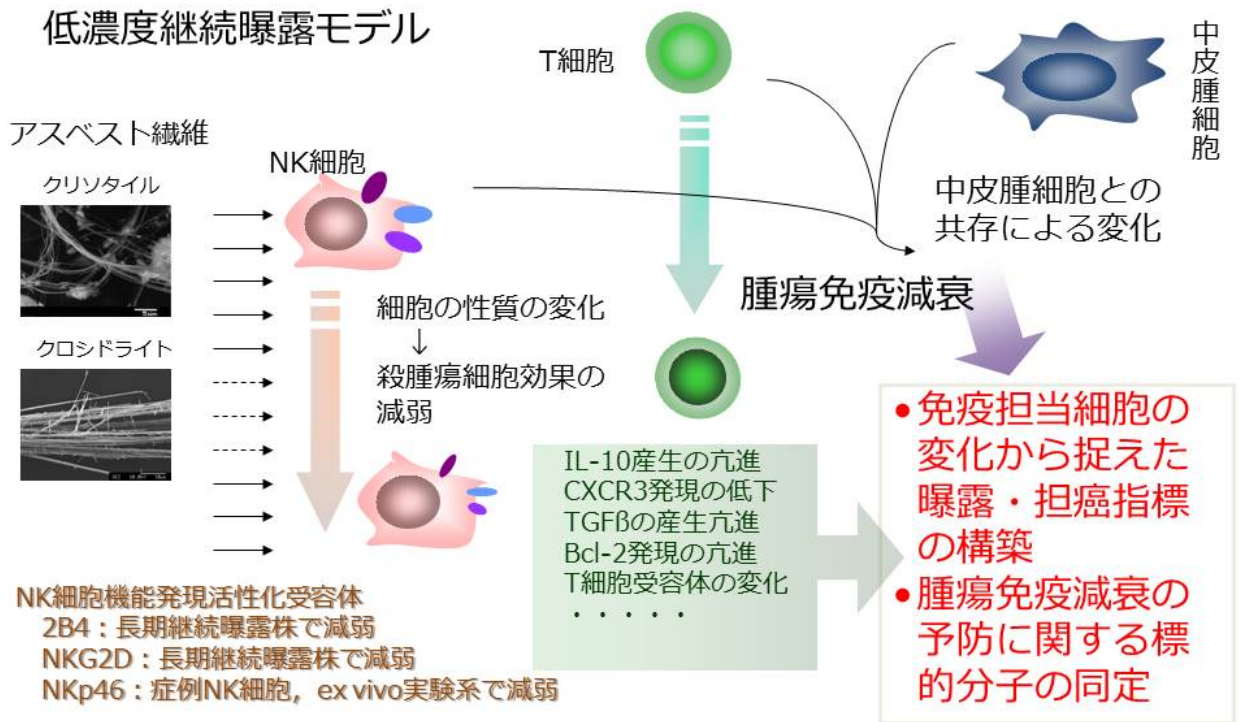
#### 4. 研究成果の概要

##### 1) 中皮腫発症に関連するアスベスト誘発慢性炎症とミッドカインによる修飾

これまで川崎医科大学衛生学では、アスベストの免疫影響を検討する研究を継続的にすすめていた。従来、実験系では肺胞上皮細胞や胸膜中皮細胞に対して一過性高濃度曝露を行い、細胞生物学的な変化を検討する報告が多かった。しかし、実際の被曝症例では、体内のアスベスト繊維も含めて、慢性継続的な低濃度曝露が生じると考えられるため、ナチュラルキラー(NK)細胞やT細胞を標的として、細胞株あるいは健常人より得た新鮮末梢血循環免疫担当細胞の *in vitro* での活性化の系の中にアスベスト繊維を低濃度長期曝露することによって、免疫担当細胞株の変化を観察するように試みてきた。



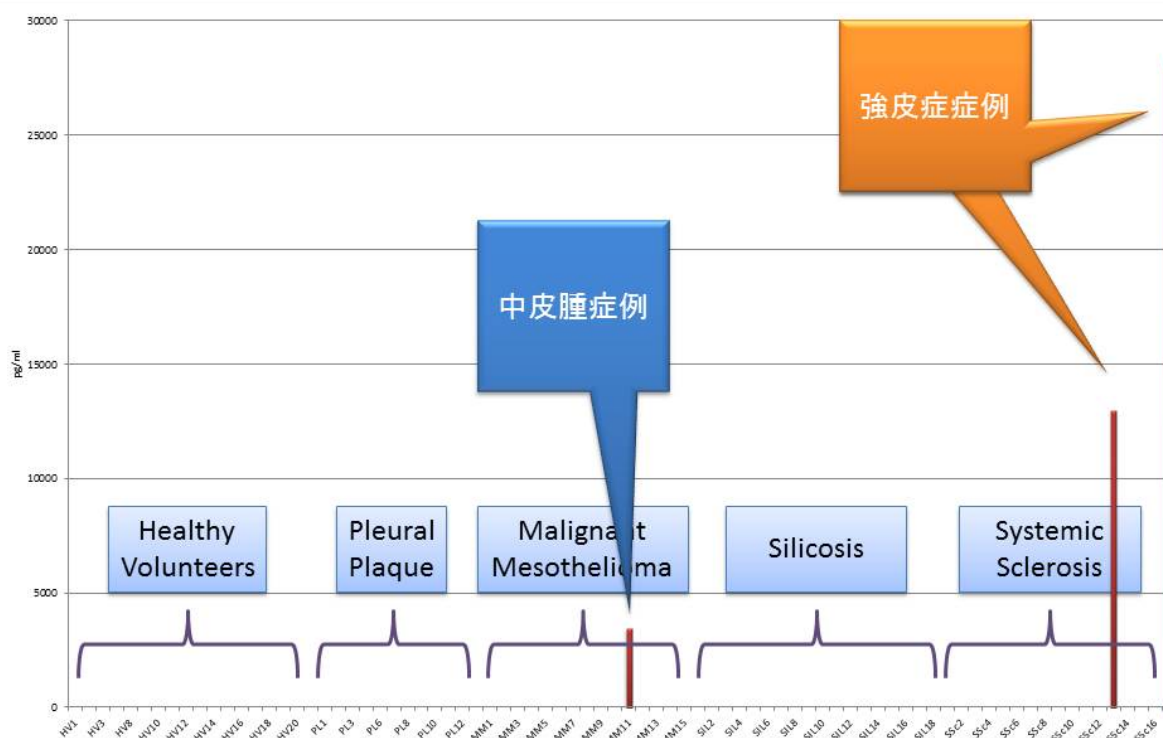
# アスベストの免疫系への影響と腫瘍免疫減衰



本研究班が開始されるまでに、アスベスト曝露によって、NK細胞での細胞株や新鮮末梢血細胞の活性化の系の中で、NK細胞の活性化受容体の発現減弱と殺細胞効果の減弱、さらにT細胞においても継続低濃度曝露によって、IL-10、TGF-βの過剰産生、ケモカイン受容体CXCR3の発現減弱、Bcl-2の発現亢進などの知見を得てきていた。これらはアスベスト曝露が免疫担当細胞に対して、抗腫瘍免疫の減弱、免疫監視機能の減衰を惹起することを示唆していた。

そのような中で、本研究班に参画し、健常人、胸膜プラーク（PP）症例（アスベスト曝露はあるも発がんには至っていない）、胸膜中皮腫（MM）症例（アスベスト曝露によって担癌となった）、さらにアスベストが珪酸の金属塩であることから珪酸曝露症例である珪肺症、免疫学的に珪肺症例で自己免疫疾患の合併が知られていることから対照としての強皮症症例において、ミッドカインの血漿レベルを測定した。

# Plasma midkine level



1例の中皮腫症例で高値が認められたが、腫瘍マーカーあるいは早期診断指標として十分に有用であるかどうかは疑問が残った（ちなみに、強皮症例で2例、高値の症例が認められ、ミッドカインの生体内での役割として発がんもさることながら、慢性炎症や線維化などの観点でも今後着目して症例での検討を進める示唆とはなったかと考えている）。

そこで、研究班の活動として、アスベスト繊維が免疫担当細胞にどのように作用するか、さらにそれが前述のように抗腫瘍免疫の減衰につながる方向性を有するのかどうかについて種々の検討を加えた。研究班在籍中（2012～2016年度の業績について以下の図に示す（Th細胞の最上段、およびNK細胞の業績については前述の研究班参画前の報告である））。

## □ Th細胞 (CD4+ T細胞)

- 石綿曝露下培養時と中皮腫患者における**CXCR3**発現量低下
  - ✓ Maeda M, et al. Reduction of CXCR3 in an in vitro model of continuous asbestos exposure on a human T-cell line, MT-2. Am J Respir Cell Mol Biol 2011; 45(3):470-9.
  - ✓ Maeda M, et al. Decreased CXCR3 expression in CD4+ T cells exposed to asbestos or derived from asbestos-exposed patients. Am J Respir Cell Mol Biol 2011; 45(4):795-803.
- クリソタイルとクロシドライト・長期曝露亜株の細胞生物学的差異
  - ✓ Meada M, et al. Resistance to asbestos-induced apoptosis with continuous exposure to crocidolite on a human T cell. Sci Total Environ. **2012**;429:174-82.
- アスベスト長期曝露亜株におけるタンパク発現の変化とβアクチニン酸化の亢進
  - ✓ Maeda M, et al. Alteration of cytoskeletal molecules in a human T cell line caused by continuous exposure to chrysotile asbestos. Immunobiology. **2013**;218(9):1184-91.
- アスベスト長期曝露亜株におけるTGFβ高産生の細胞生物学的意義
  - ✓ Maeda M, et al. Chronic exposure to asbestos enhances TGF-β1 production in the human adult T cell leukemia virus-immortalized T cell line MT-2. Int J Oncol **2014** Dec;45(6):2522-32.
- アスベスト長期曝露亜株におけるTreg機能の亢進
  - ✓ Ying C, et al. Enhancement of regulatory T cell-like suppressive function in MT-2 by long-term and low-dose exposure to asbestos. Toxicology 338, **2015**, 86-94
- アスベスト長期曝露亜株で減弱している転写因子FoxO1 のアポトーシスへの関与
  - ✓ Matsuzaki H, et al. FoxO1 Regulates Apoptosis Induced by Asbestos in the MT-2 Human T-Cell Line. J Immunotoxicol. **2016**; 13(5):1-8
- アスベスト長期曝露 (Treg機能亢進) 亜株におけるFoxO1発現減弱と細胞周期加速化との関連
  - ✓ Lee S, et al. Accelerated cell-cycle progression of human regulatory T cell-like cell line caused by continuous exposure to asbestos fibers. Int J Oncol 50: 66-74, **2017**

## □ NK細胞

### ● 石綿曝露下培養時と中皮腫患者におけるNKp46発現量低下

- ✓ Nishimura Y, et al. Decrease in phosphorylation of ERK following decreased expression of NK-cell activating receptors in human NK cell line exposed to asbestos. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; 22(3):579-90.
- ✓ Nishimura Y, et al. Impairment in cytotoxicity and expression of NK-cell activating receptors on human NK cells following exposure to asbestos fibers. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; 22(4):879-88.

## □ CTL (細胞傷害性Tリンパ球, CD8+ T細胞)

### ● 胸膜プラーク陽性者における細胞内パーフォリン増加・中皮腫症例での低下・IL-2の乏しい関連

- ✓ Kumagai-takei N, Nishimura Y, Maeda M, Hayashi H, Matsuzaki H, Lee S, Hiratsuka J, Otsuki T. Effect of asbestos exposure on differentiation of cytotoxic T lymphocytes in MLR of human PBMCs. *Am J Respir Cell Mol Biol*. **2013** Jul;49(1):28-36.
- ✓ Kumagai-Takei N, et al. Functional properties of CD8+ lymphocytes in patients with pleural plaque and malignant mesothelioma. *J Immunol Res* Volume **2014** (2014), Article ID 670140, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/670140>
- ✓ Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Otsuki T. The suppressed induction of human mature cytotoxic T lymphocytes caused by asbestos is not due to Interleukin-2 insufficiency. *J Immunol Res*. vol. 2016, Article ID 7484872, **2016**. doi:10.1155/2016/7484872

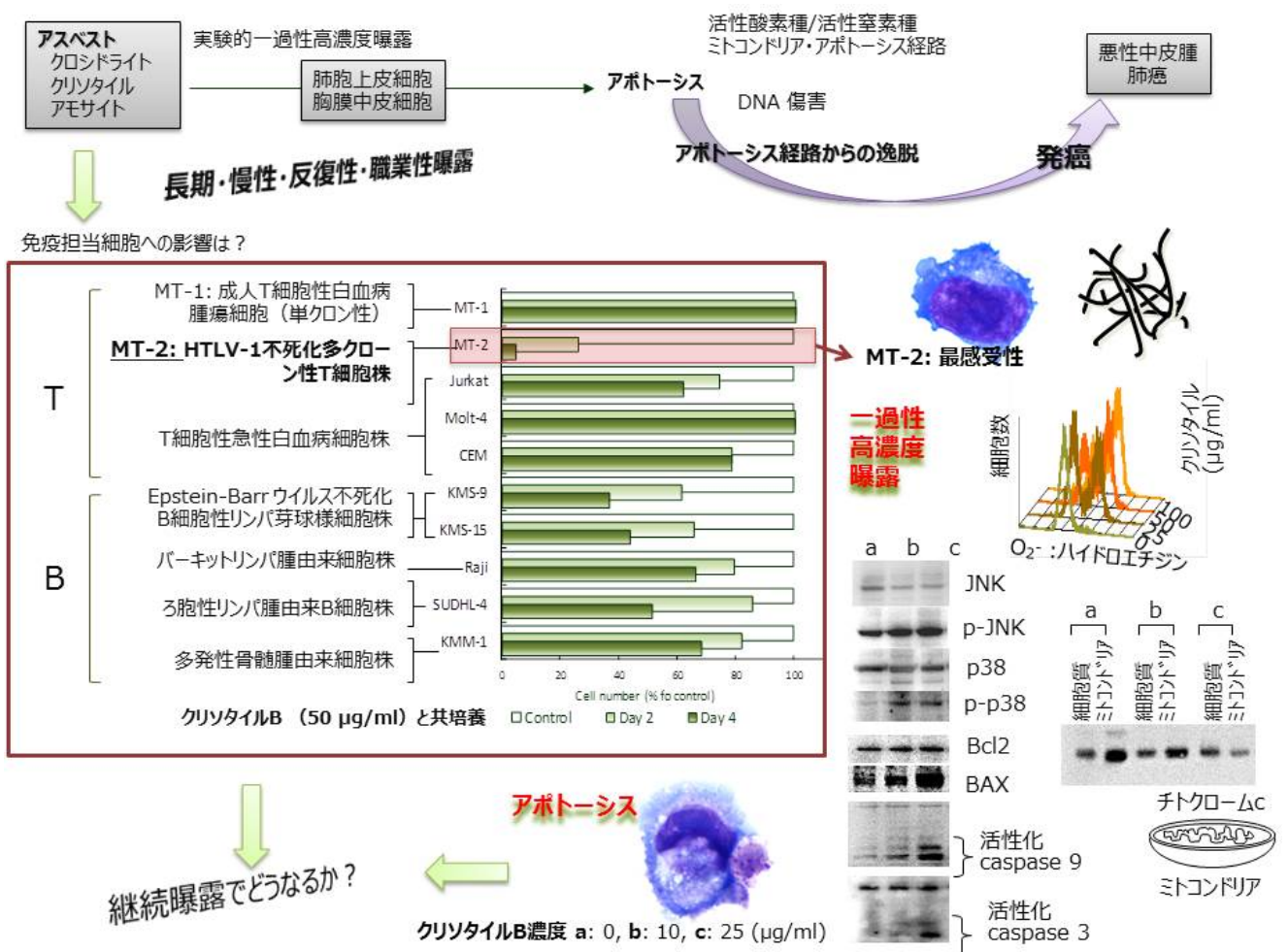
## □ 免疫担当細胞と中皮細胞との関連

### ● 中皮細胞に対するアスベスト曝露末梢血単核球の増殖促進効果

- ✓ Maki Y, Nishimura Y, Miyoshi S, et al. The proliferative effects of asbestos-exposed peripheral blood mononuclear cells on mesothelial cells. *Oncol Lett*. **2016** May;11(5):3308-3316.

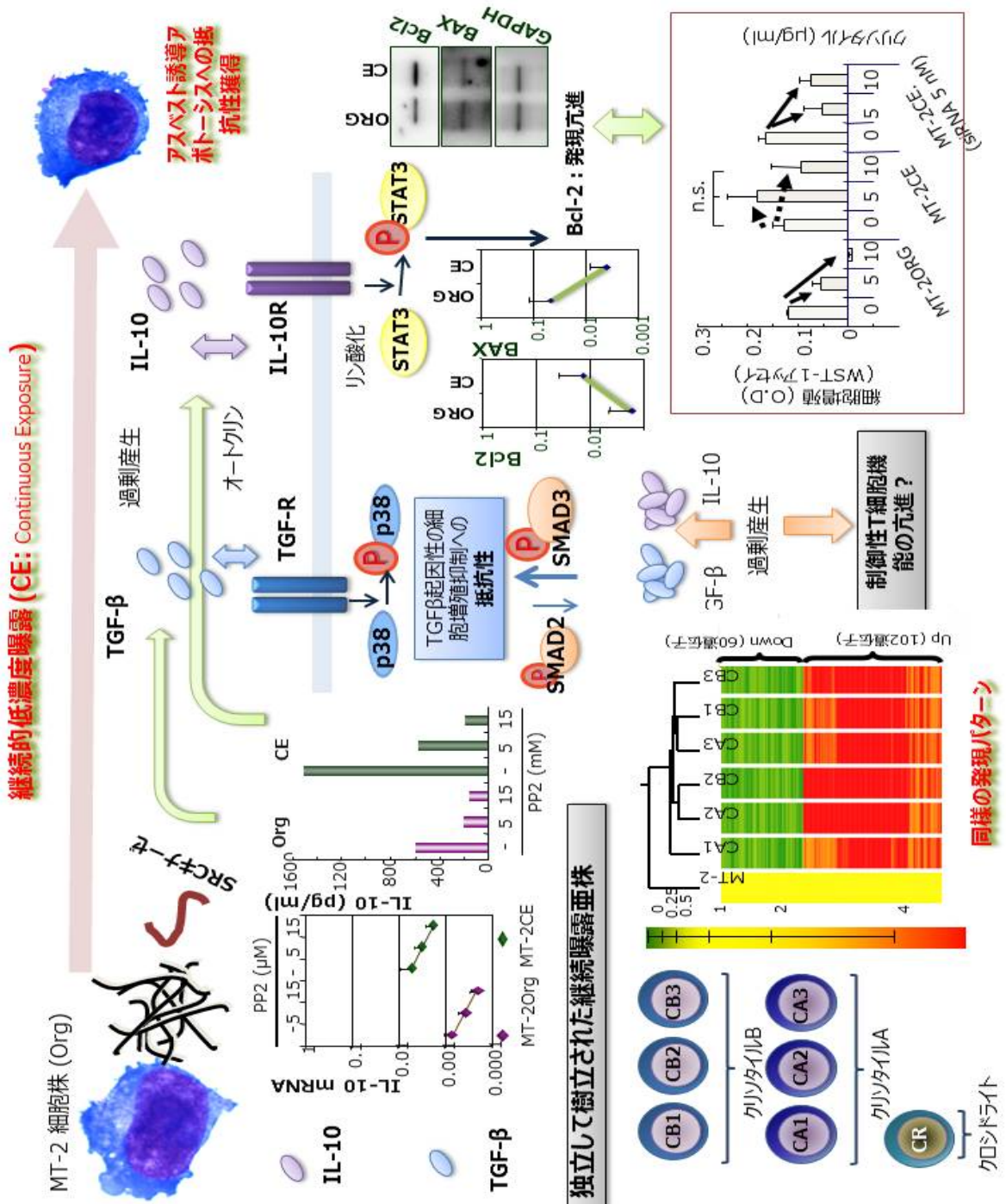
これらの実験系の参画以前からの研究の構築からの経緯を報告する。

まず免疫担当細胞についてどのような細胞株を用いるかについては、T細胞やB細胞由来の腫瘍あるいはウイルス不死化細胞でのクリソタイル（白石綿）の一過性高濃度曝露を行った。その結果、MT-2という HTLV-1 不死化ヒト多クローン性細胞株が最も感受性が高く（細胞死が誘導されやすく）、その際には活性酸素種の産生、好アポトーシス・シグナル伝達分子のリン酸化、ミトコンドリア系アポトーシス経路の活性化が生じることが判明した。

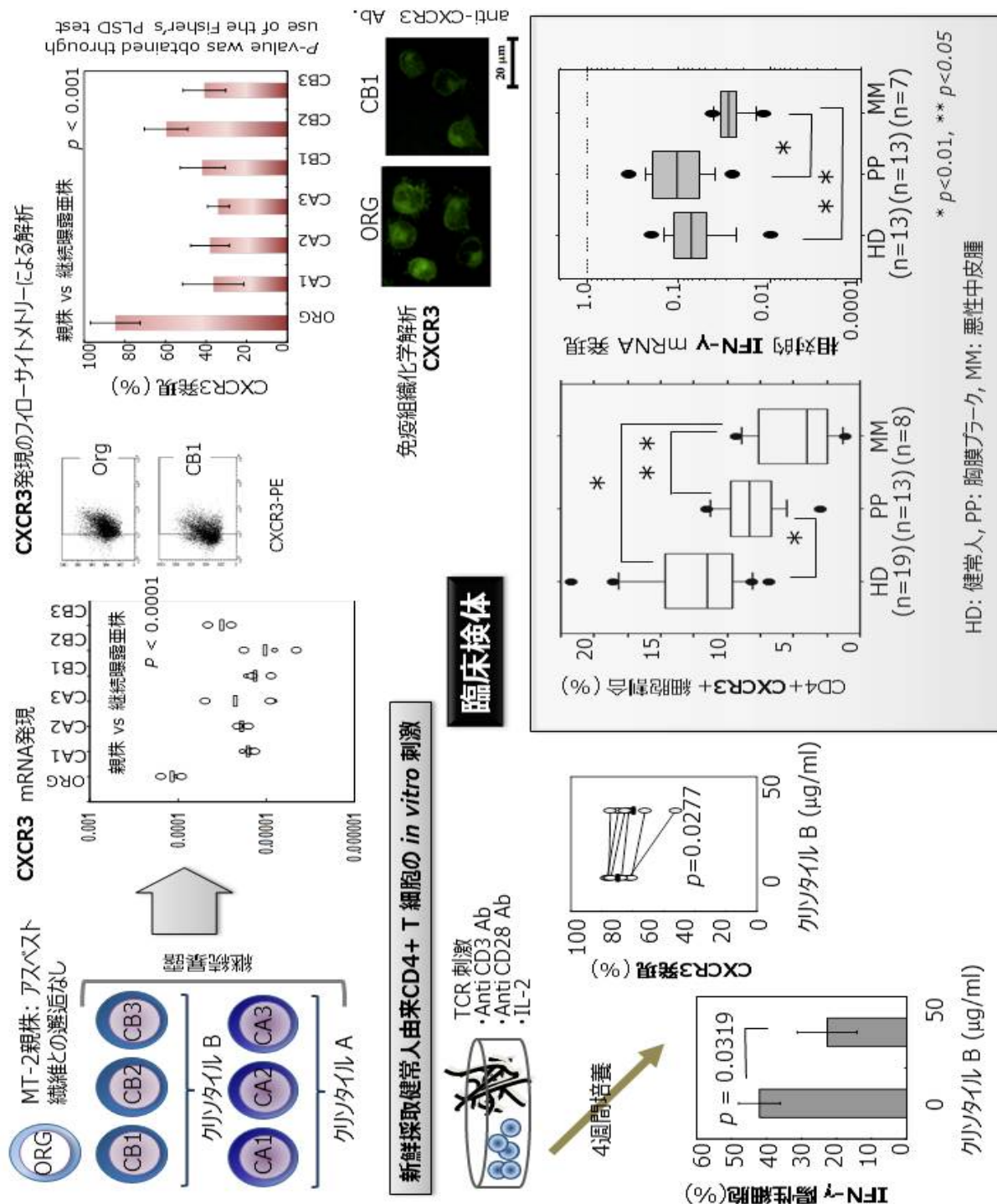


MT-2 細胞株に一過性では半数以下にしかアポトーシスを惹起しない濃度で、継続曝露を 8 ヶ月以上行くと、その後、再度高濃度で曝露してもアスベスト誘導アポトーシスに抵抗性を示す亜株が樹立さ

れた。亜株では IL-10, TGF- $\beta$  の高産生とともに, IL-10 $\rightarrow$ STAT3 $\rightarrow$ Bcl-2 という経路が活性化しておりアポトーシス抵抗性にはこの経路が重要であることが判明した。また TGF- $\beta$  については亜株において下流の p38 のリン酸化の亢進, SMAD3 のリン酸化の亢進 (SMAD2 はリン酸化減弱) を認め, 親株で見られた TGF- $\beta$  起因細胞増殖抑制への抵抗性が認められた。

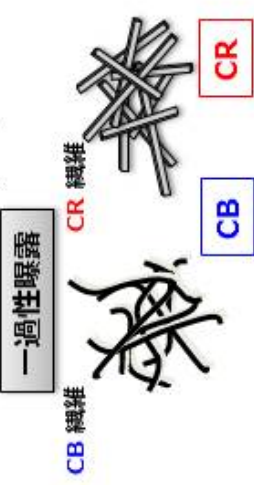
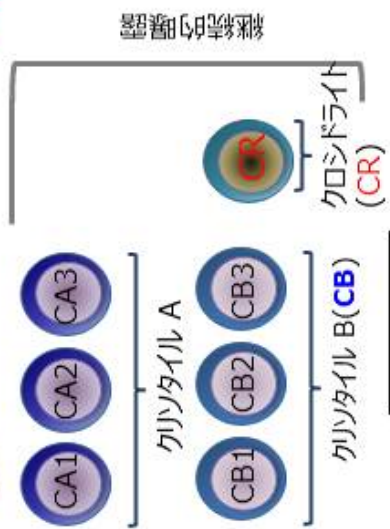


同様の亜株をクリソタイルとクロシドライト（青石綿）継続曝露で樹立し、cDNA マイクロアレイなどの結果から着目した CXCR3 の発現減弱については、細胞株、新鮮末梢血 CD4+細胞の実験系での活性化でも確認され、アスベスト曝露症例（PP や MM）由来の CD4+細胞での減弱も確認された。

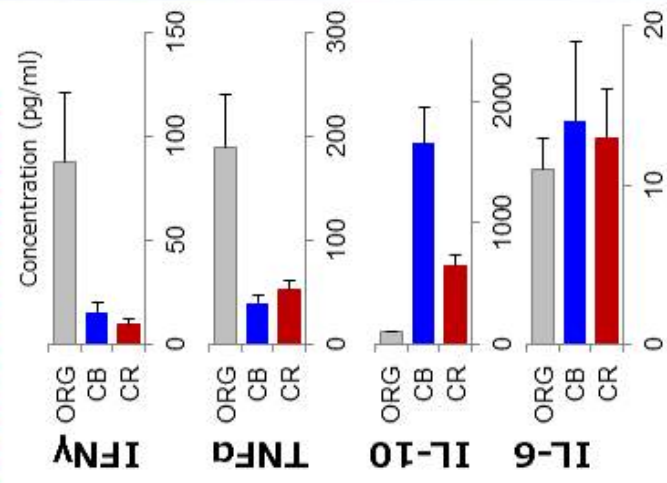
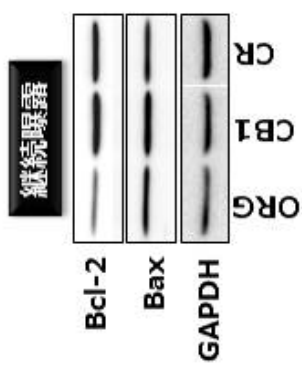




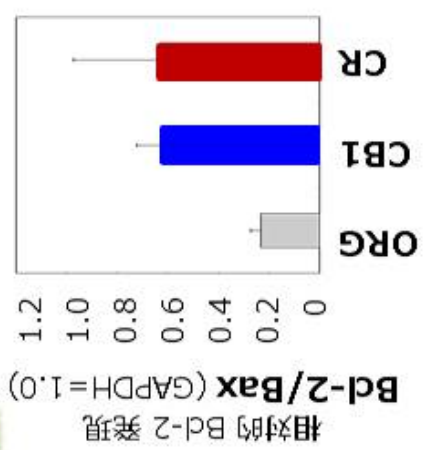
**継続曝露**  
サイトカイン・プロファイルは類似



- ※ 増殖抑制
- ※ アポトーシス
- Annexin V (2日目)
- 活性化caspase 3 (3日目)
- Tunel (4日目)
- ※ 活性酸素種産生



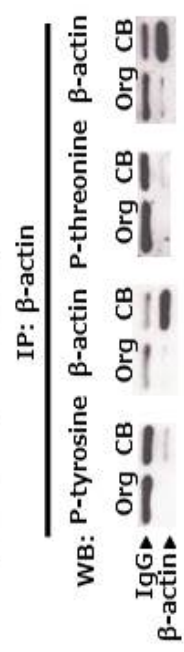
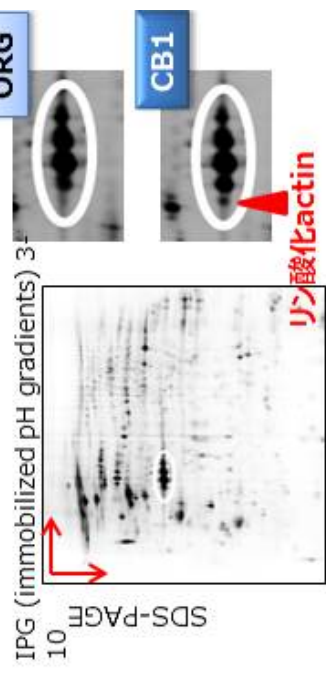
**アスベス惹起アポトーシスへの抵抗性も類似**



※ プロテインチップ アッセイ

Fractio n	ORG vs CA			ORG vs CB		
	C	N	M	C	N	M
Up	12	2	9	11	2	6
Down	6	C: 細胞質, N: 核, M: 細胞膜				12

※ 二次元電気泳動



**β-actinのリン酸化と発現の更新**

※ 他の細胞骨格分子もクリンタイルとの結合が増強



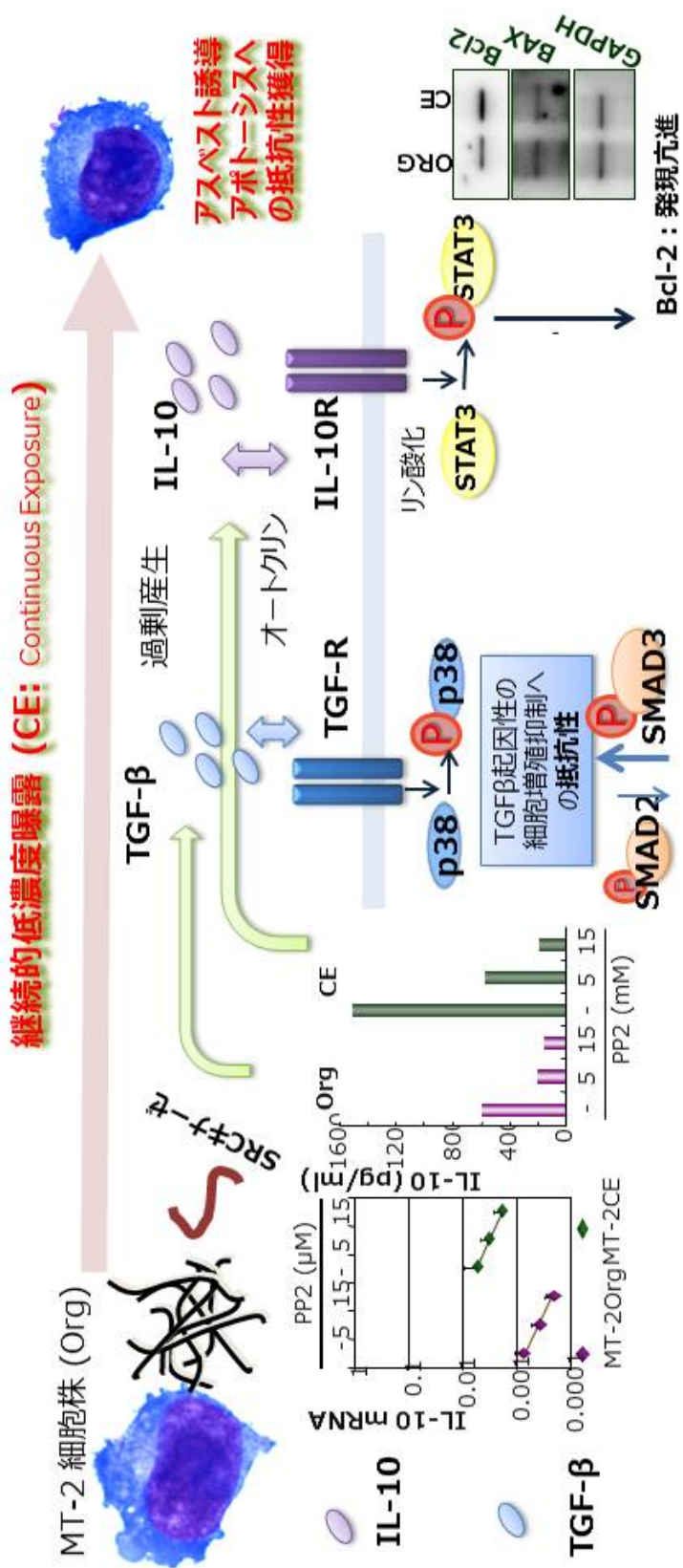


さらにクリソタイルとクロシドライト長期曝露亜株のアポトーシス抵抗性、サイトカイン産生の変化およびアポトーシス抵抗性と Bcl-2 の発現亢進はどちらの曝露でも生じており、発がんの観点で鉄を含有しているクロシドライトが誘導能が高いとされているが、免疫担当細胞に対してはほぼ同様の影響をもたらすことがわかった。

加えて、クリソタイル長期曝露株では細胞骨格分子として  $\beta$  アクチンのリン酸化の亢進が生じているとともに、抵抗性亜株由来のたんぱく質は細胞フリーの系で、親株に比して繊維へ吸着しやすいたんぱく質に変化が生じており、Myosin 9, Vimentin, Tublin $\beta$ 2 など細胞骨格を構成する分子が多く吸着した。これらの所見は、細胞はアスベスト繊維を細胞内に取り込むことができず、膜表面での接触によって慢性曝露を受けることから、細胞骨格の修飾が生じたと考えられ、今後の詳細な検討課題となると思われた。

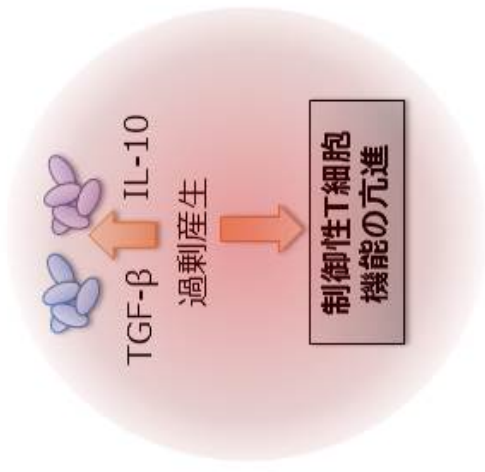
さらに前述したように、亜株では、IL-10 と TGF- $\beta$  の産生亢進が認められ、この 2 つのサイトカインが制御性 T 細胞の機能発揮における代表的な可溶性因子であること、また MT-2 細胞が制御性 T 細胞機能を有している報告があることから、MT-2 親株と継続曝露亜株における制御性 T 細胞機能を検討した（その亢進は抗腫瘍免疫の減弱を示唆する）。

健常人の末梢血 CD4<sup>+</sup>細胞を抗 CD3 抗体と自己樹状細胞で活性化する系に、MT-2 親株（アスベスト未曝露）と亜株（継続曝露）を制御性 T 細胞の役割を持たせるように放射線照射後に添加培養すると、反応性 T 細胞の増殖抑制能は、亜株で親株に比し有意に亢進していた。このことは細胞間接着による制御性 T 細胞機能がアスベスト曝露で増強することを示唆した。同様に、可溶性因子の役割を検討するために、IL-10 と TGF- $\beta$  を亜株でそれぞれノックダウンし、トランスウェルによる培養系で反応性 T 細胞の増殖を検討すると、亜株で亢進していた反応性 T 細胞の増殖抑制能は、ノックダウン株で減弱していたため、これら 2 つのサイトカインもまたアスベスト曝露によって制御性 T 細胞の機能が亢進する時に重要な因子であることが想定された。



MT-2 expresses CD25 and Foxp3 at high level and is harbored the Treg-cell-like suppressive function. *Chen, S. et al., International Immunology, 18, 269-277 (2005)*

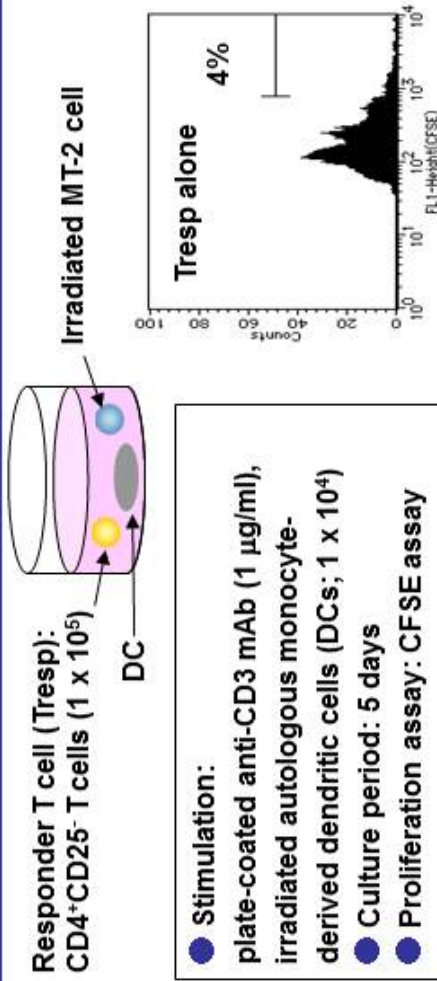
Characterization of MT-2 cells as a human regulatory T cell-like cell line. *Hamano R, Wu X, Wang Y, Oppenheim JJ, Chen X. Cell Mol Immunol. 2014 Dec 29. doi: 10.1038/cmi.2014.123.*



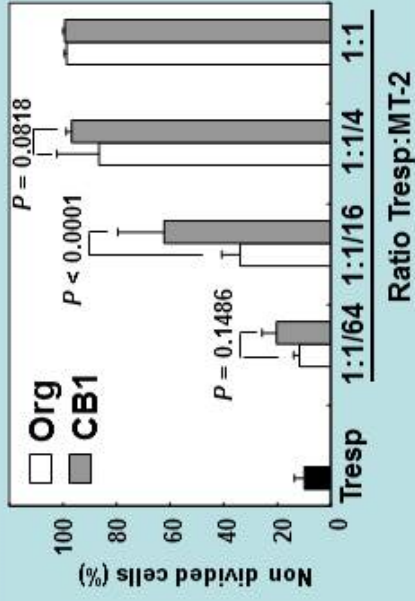
MT-2は正常のヒト臍帯白血球病よりHTLV-1で不死化された細胞株である【Miyoshi, I. et al., *Gann, 72, 978-981 (1981)*】

HTLV-1は制御性T細胞に親和性が高い。

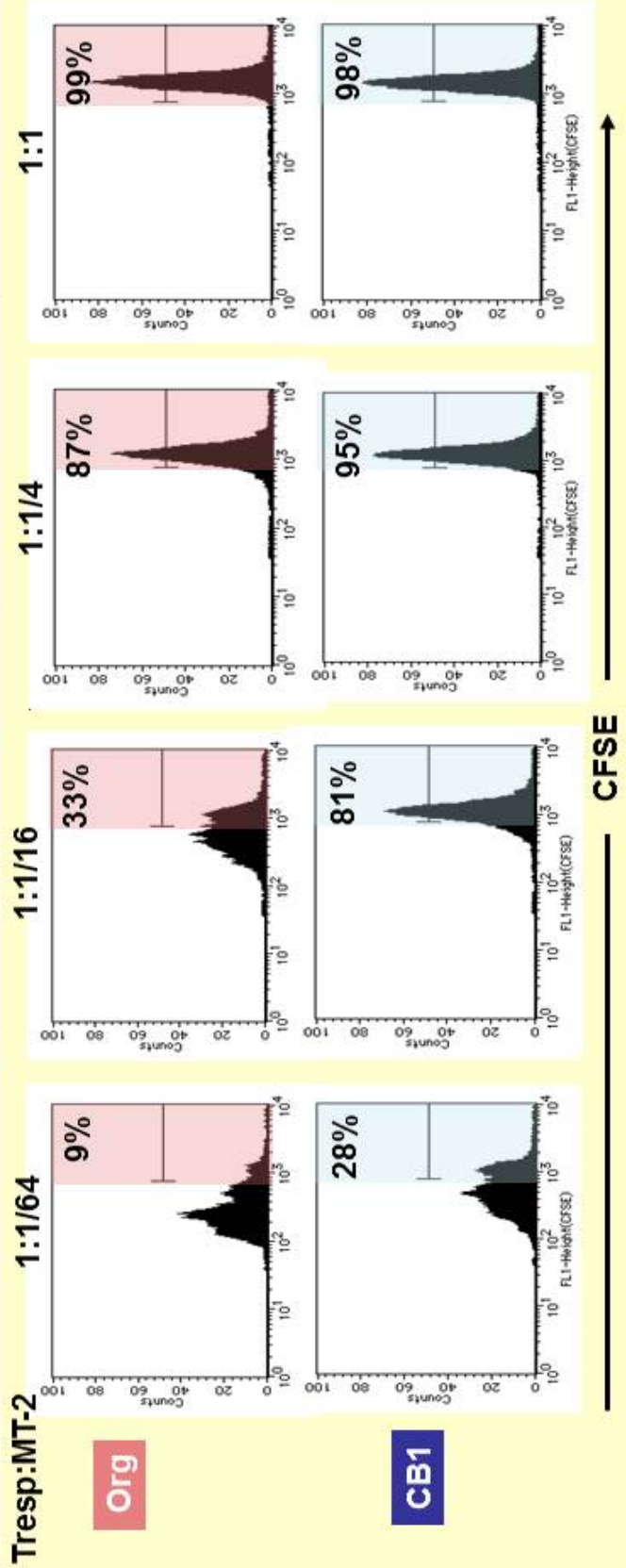
# Suppressive Activity of MT-2 Cells on the Cell Division of TCR-stimulated Naive CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T Cell



- **Stimulation:** plate-coated anti-CD3 mAb ( $1 \mu\text{g/ml}$ ), irradiated autologous monocyte-derived dendritic cells (DCs;  $1 \times 10^4$ )
- **Culture period:** 5 days
- **Proliferation assay:** CFSE assay

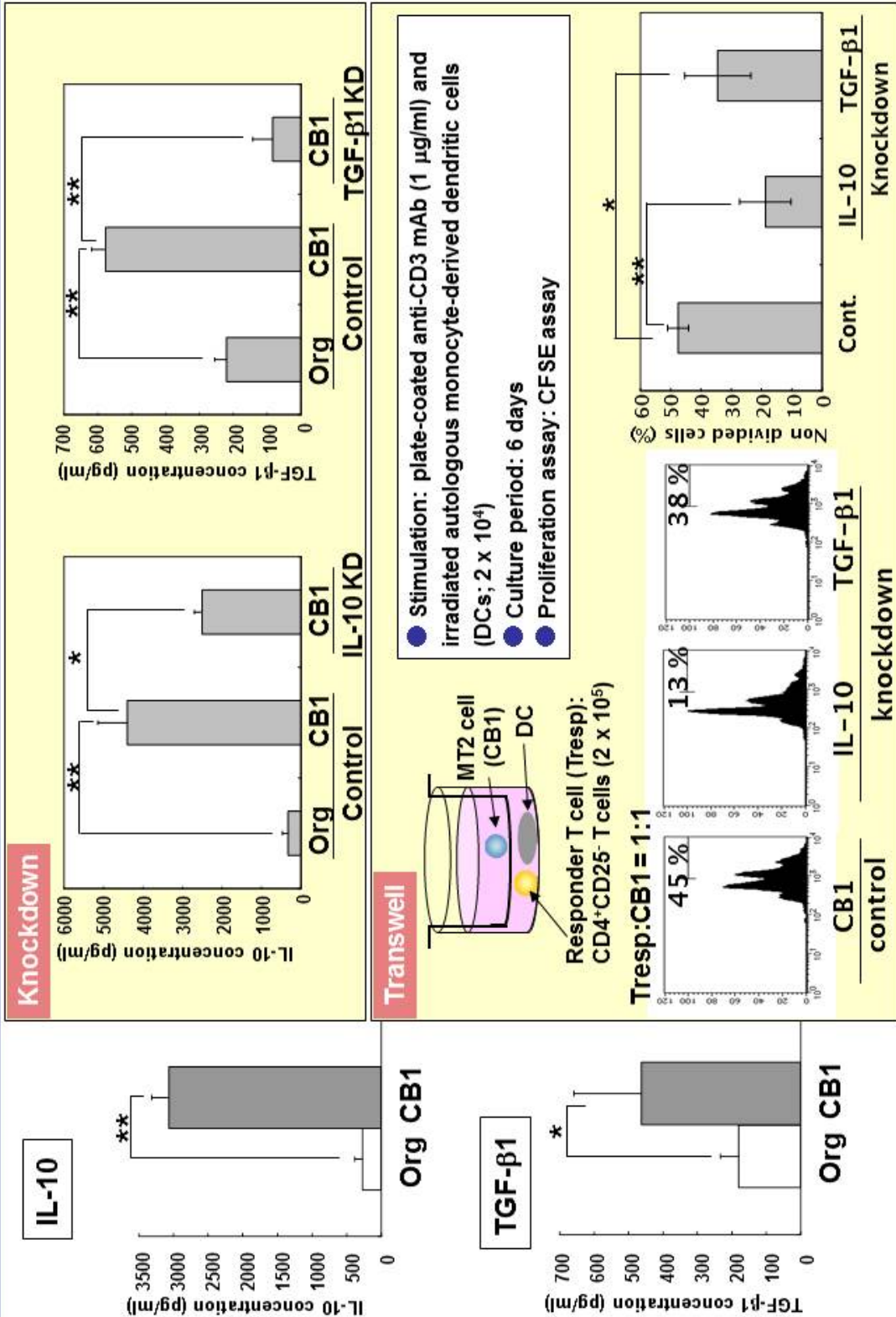


P-value was obtained through use of the Fisher's PLSD test.

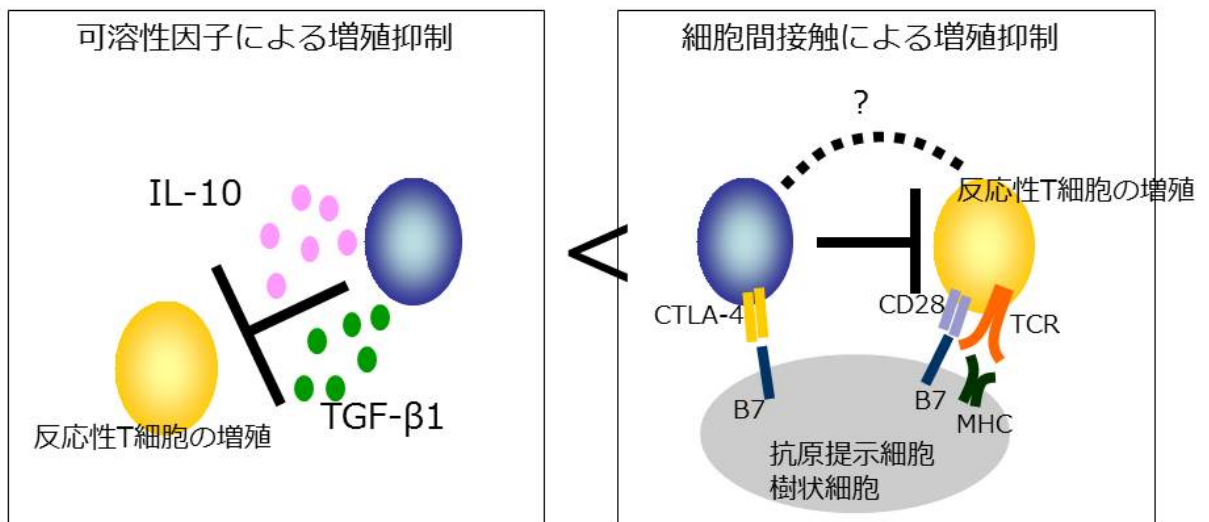


即ちアスベスト曝露を受けた制御性 T 細胞は、細胞間接着と可溶性因子の産生増強の両方の機序で機能が亢進することが判明した。

## Soluble Factor-Mediated Immunosuppression by MT-2 Cells



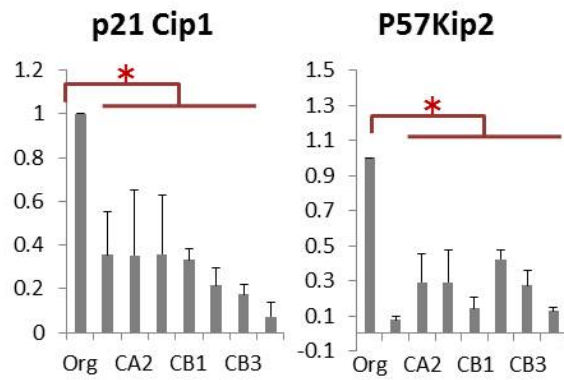
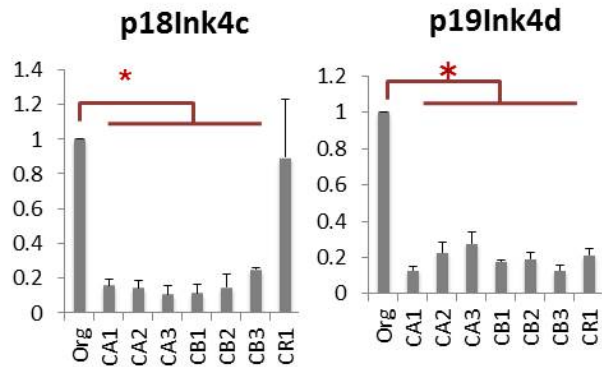
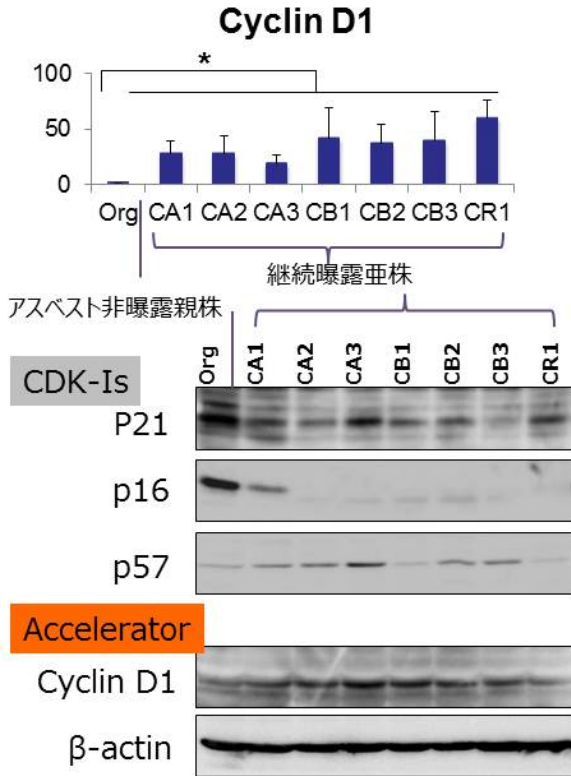
アスベスト長期曝露では、腫瘍免疫減衰を惹起する可能性のある制御性T細胞の機能が増強する。



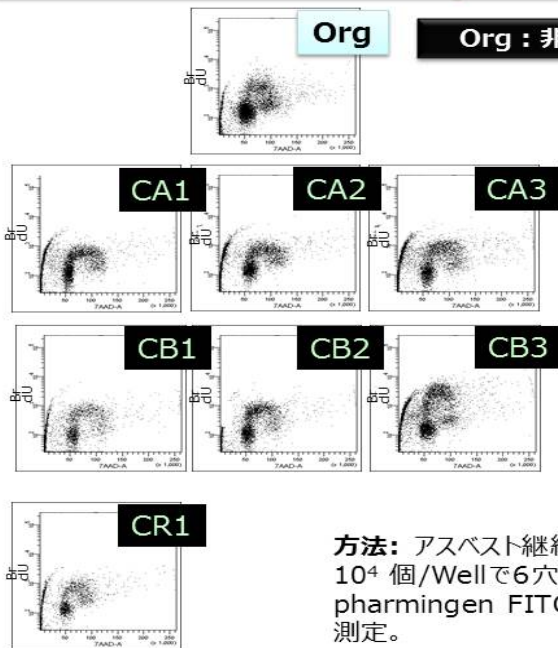
それでは制御性 T 細胞としての数はどうか。

後述するように亜株では転写因子 FoxO1 の発現が親株に比し極めて減弱していることが判明し、FoxO1 は細胞周期調整遺伝子群に対して、周期を加速化する cyclin には抑制的に、周期を抑制する CDK-I (cyclin dependent kinase-inhibitor) には促進的に作用することが知られているため、FoxO1 の発現減弱は、cyclin を亢進させ CDK-Is を減弱させることによって、その細胞の細胞周期を加速化することが想定される。検討の結果、親株に比し、亜株では cyclin (特に D1) の発現亢進、CDK-Is の発現減弱が観察された。さらに親株と亜株での細胞周期解析で、S 期細胞数/G1 期細胞数の比を求めると、すべての亜株で親株に比し高値となっており、これは、亜株に於いて細胞周期が加速化されていることを示唆した。

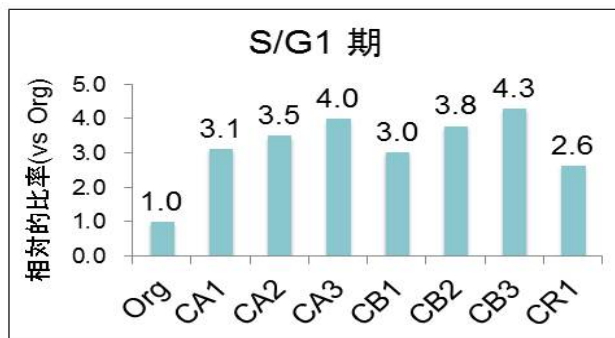
## 細胞周期制御遺伝子の発現



## アスベスト継続曝露亜株における細胞周期 S/G1期の増加



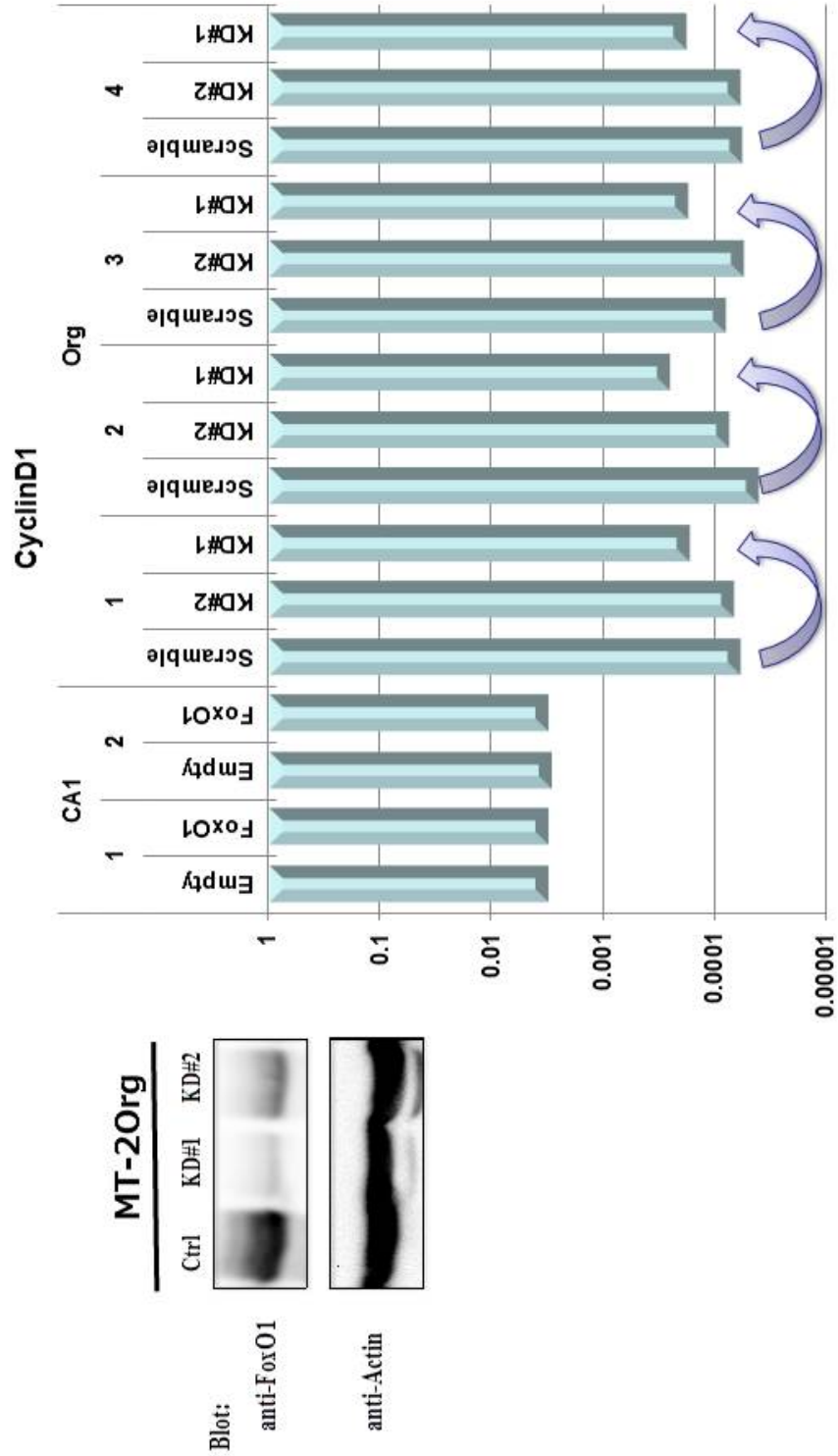
Org : 非曝露MT-2/CB1~3, CA1~3, CR : 継続曝露亜株



**方法:** アスベスト継続曝露/非曝露 (Org) 細胞亜株/親株の細胞を  $3 \times 10^4$  個/Wellで6穴プレートに播種。2日後にBrdUと7-ADD7-AAD (BD pharmingen FITC-BrdU Flow kit)で染色し、BD FACS Caliburにて測定。

# FoxO1を一過性にサイレンスしたアスベスト非曝露親株MT-2OrgにおけるCyclin D1 mRNA 発現

加えて、これが確かに FoxO1 にて制御されているかを検討するために親株（十分な FoxO1 発現がある）の FoxO1 を一過性にノックダウンすると、そこで cyclinD1 の発現亢進が誘導された。



即ちアスベスト曝露は制御性 T 細胞に対して、その機能の亢進（細胞間接着及び可溶性因子の過剰産生）および数の増加（細胞周期の加速化）の両面において、抗腫瘍免疫の減衰を惹起していると考えられた。

## アスベストへの相対的低濃度継続曝露によるMT-2細胞亜株における制御性T細胞機能の増強 総括



増強した機能とともに数の増加によっても総括的な機能増強がもたらされる。

**アスベスト曝露症例における抗腫瘍免疫の減衰**

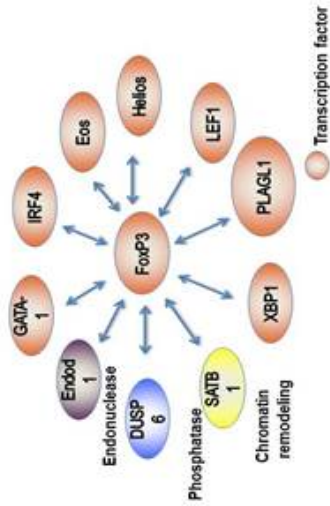
さて FoxO1 であるが MT-2 細胞においてアスベスト未曝露の親株に比して、継続曝露亜株群では確かに発現の減弱が mRNA およびタンパクレベルで確認された。

そして、FoxO1 によって制御されることが知られているいくつかの好アポトーシス分子（Puma, Bim および Fas ligand）は、亜株で発現減弱していることが判明した。そして、FoxO1 によって制御されることが知られているいくつかの好アポトーシス分子（Puma, Bim および Fas ligand）は、亜株で発現減弱していることが判明した。

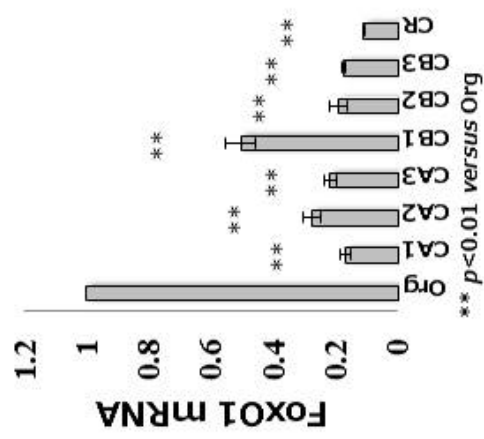
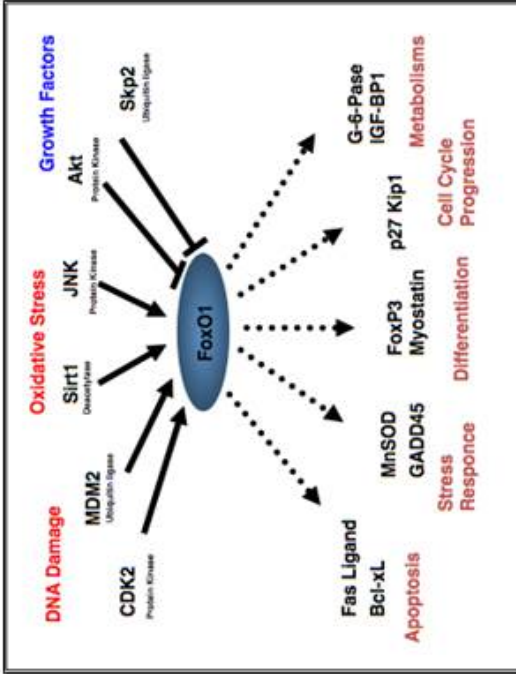


# アスベスト長期継続曝露株におけるFoxO1発現減弱 ……関連するアポトーシス関連遺伝子の発現減弱…

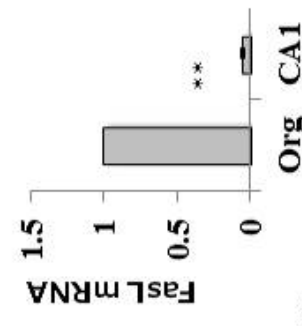
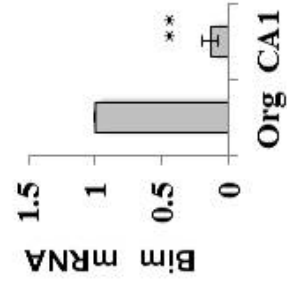
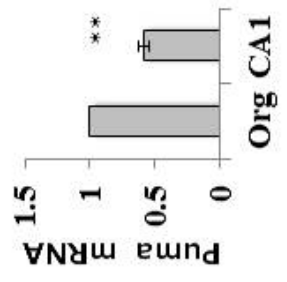
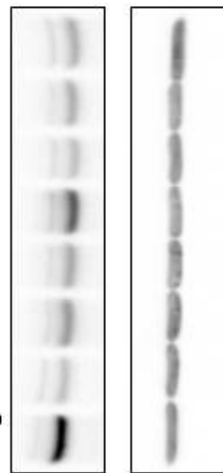
## 抑制性T細胞分化の調節分子



方法  
 RT-PCRにより上記の分子の発現量を測定し、7種類(CA1-3, CB1-3, CR)のアスベスト長期曝露株で共通の変化を示す分子について詳細な検討を行う。



Blot: Org CA1 CA2 CA3 CB1 CB2 CB3 CR



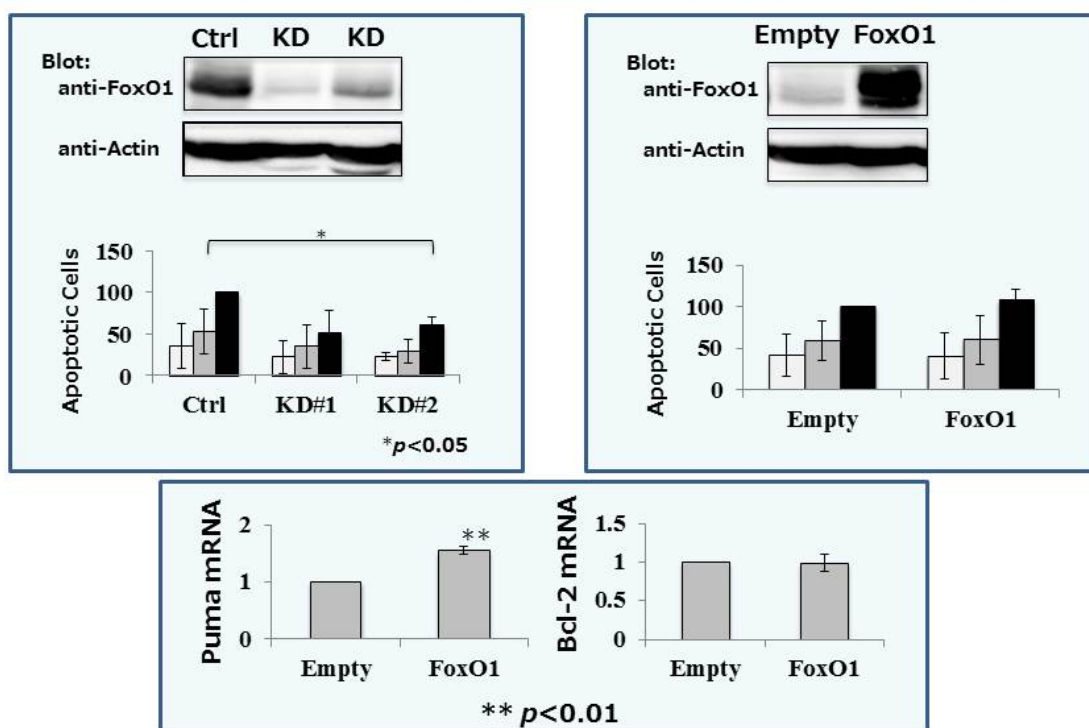
431 a.a.

Repressor ZnF LeuZ FKX

- ・抑制性T細胞 (Treg) に特異的に発現
- ・標的分子
- ・抑制 DUSP6、IL-2、Jak2、Mycなど
- ・促進 CD2、Irfなど
- ・抑制性T細胞の分化誘導と維持を担う。
- ・アポトーシスを誘導する。

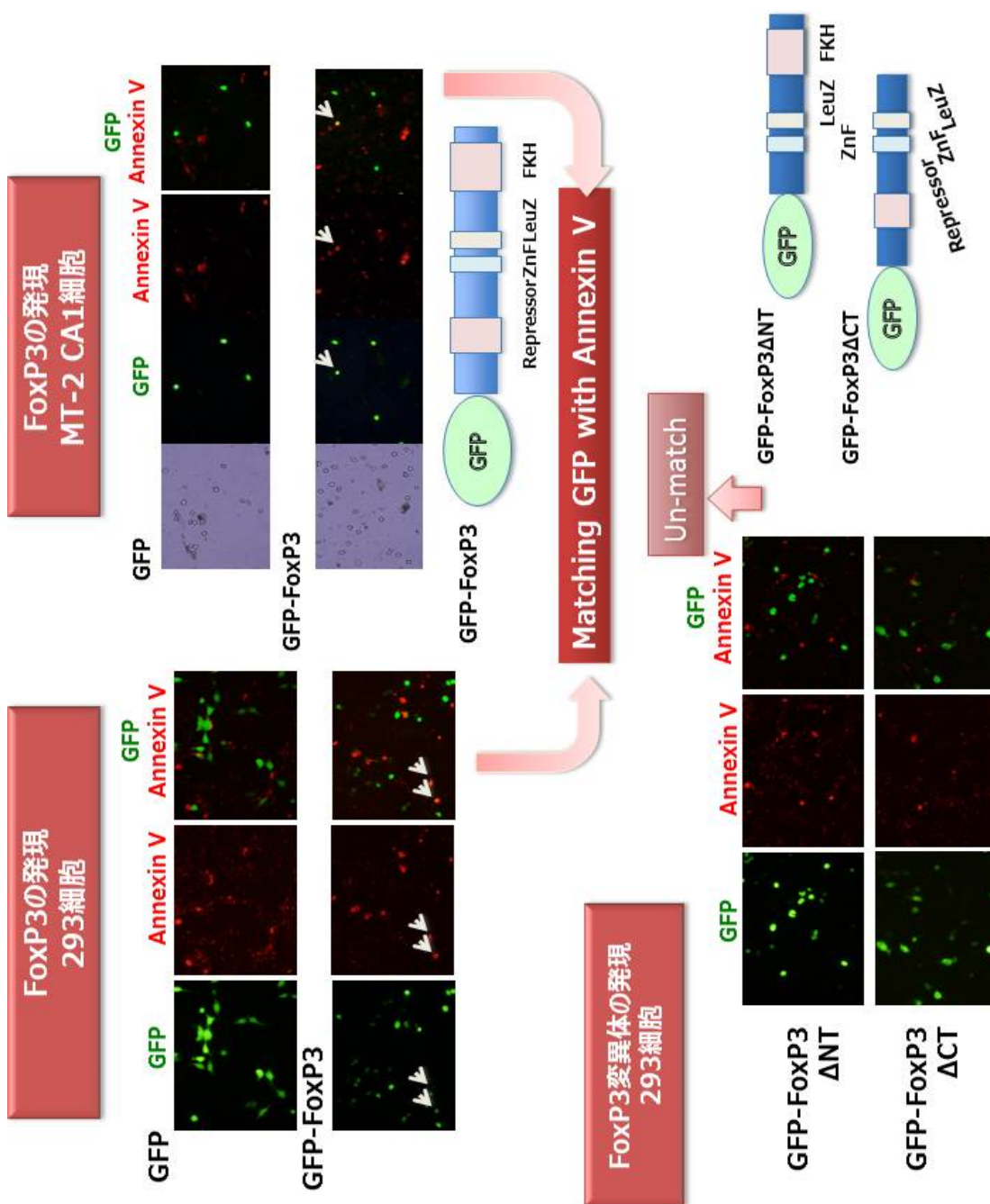
さらに、FoxO1 が十分に発現している親株で FoxO1 をノックダウンすると、アスベストに誘導されるアポトーシスに陥った細胞数は減弱した。FoxO1 の発現が減弱している亜株に FoxO1 を導入したところ、アポトーシスに陥る細胞は増加する傾向を示すとともに、Puma の発現は亢進した（Bcl-2 については不変）。このことはアスベスト継続曝露株におけるアスベスト誘導アポトーシスへの抵抗性獲得に関して、IL-10 からの Bcl-2 発現亢進と別経路として FoxO1 減弱からの好アポトーシス分子の発現減弱も関与していることが想定された。

親株→FoxO1ノックダウン⇒アポトーシス減弱  
 長期曝露株へのFoxO1強制発現⇒アポトーシス増加・  
 一部アポトーシス関連遺伝子の発現復活



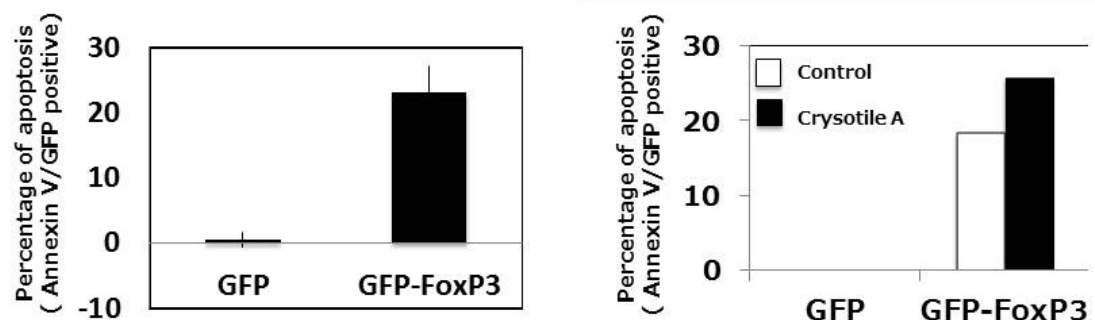
さて、FoxO1 は制御性 T 細胞としてのマスター転写因子である FoxP3 も制御していることが知られており、確かに継続曝露亜株で

は FoxP3 の発現減弱が認められている。このことと、前述の機能亢進との溝を埋める実験的な結果は、現状では得られておらず、今後の課題ではあるが、FoxP3 もまたアポトーシスについては、誘導的に作用することが知られており、293 細胞（ヒト胎児腎細胞由来）をモデルとして FoxP3 を導入すると導入細胞が Annexin V（アポトーシス指標）陽性となることが認められる。

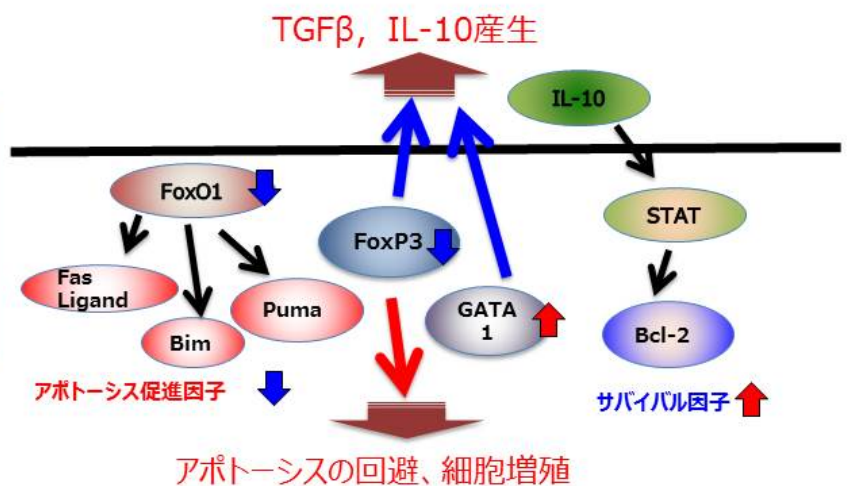


FoxP3の発現が減弱している継続曝露亜株 CA-1 に FoxP3 を導入しても同様な結果が得られた。なお、FoxP3の変異体を遺伝子導入した場合には、導入細胞に Annexin V の発現はないため、FoxP3 が継続曝露亜株におけるアスベスト誘導アポトーシスに抵抗性を示す一因として FoxP3 の減弱も関与していることが示唆された。T 細胞に対するアスベスト曝露によるアポトーシス抵抗性にはいくつかの分子細胞学的な経路が、それぞれにその性質の獲得に作用していると思われた。

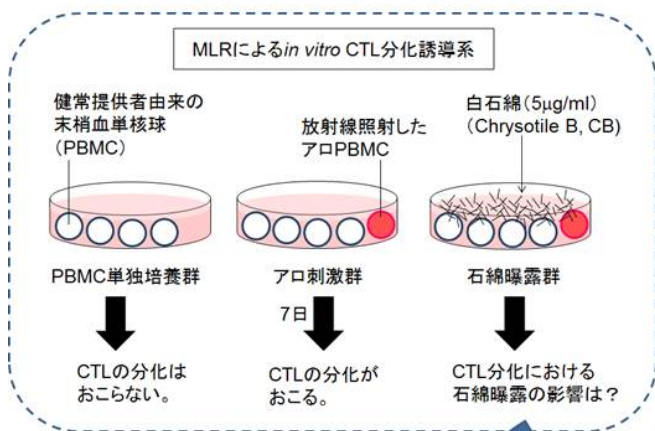
**FoxP3の発現 MT-2 CA1細胞** **FoxP3の発現とアスベスト曝露の影響 MT-2 CA1細胞**



**アスベスト長期曝露細胞のアポトーシス回避機構**

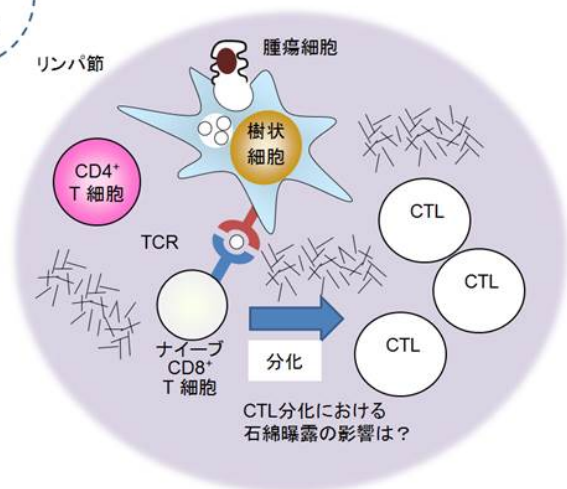


さて、抗腫瘍免疫の中では CD8+T 細胞の抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞 (CTL: Cytotoxic T Lymphocyte) への分化も重要である。



## CTL分化誘導時の 石棉曝露実験 の意義

ナイーブCD8+T細胞が、石棉を含んだリンパ節でCTLに分化する時の石棉曝露影響を捉えることができる。



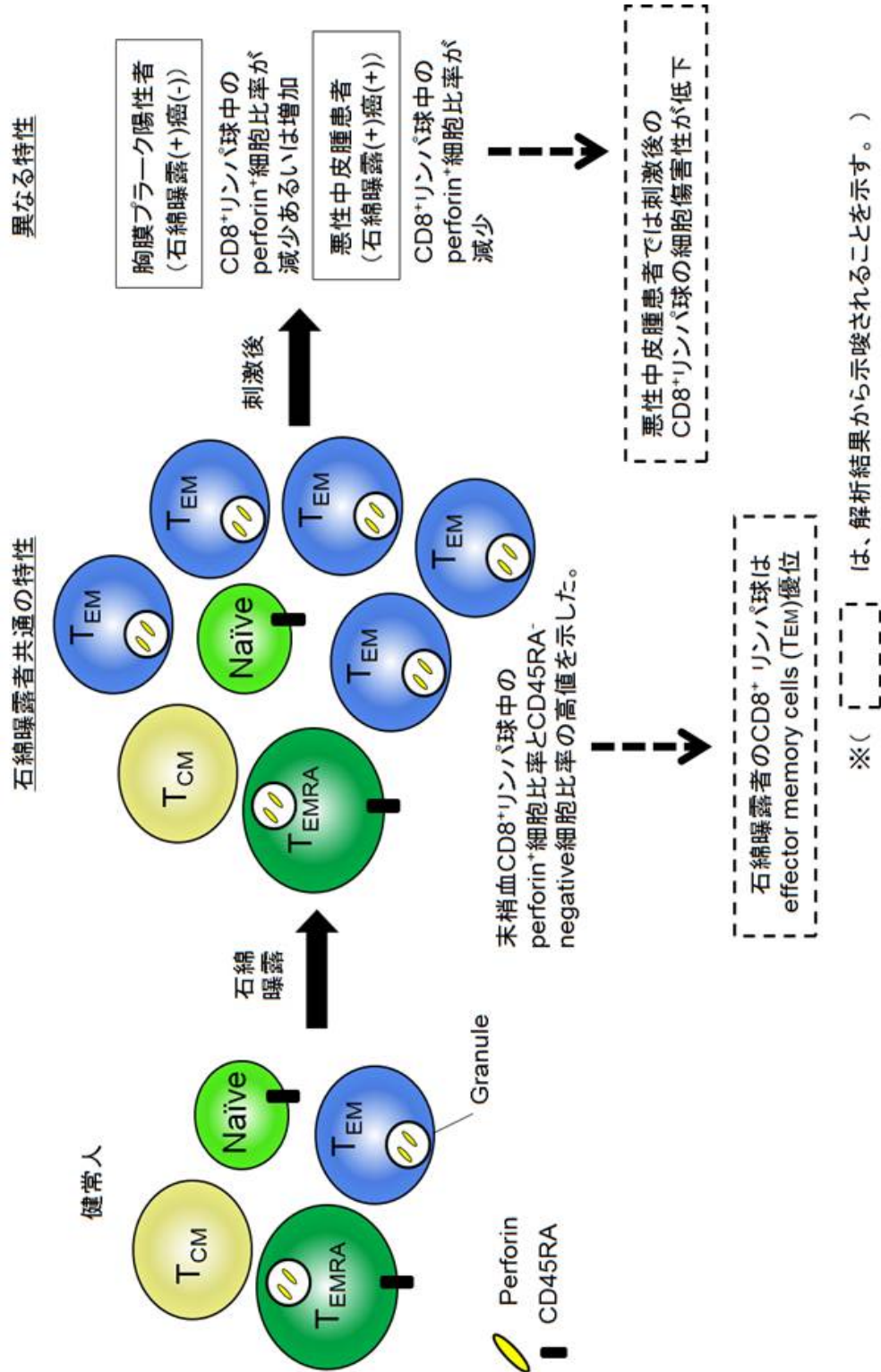
本研究の期間の中で、混合リンパ球培養法 (mixed lymphocyte reaction: MLR) の系を用いて、CTL 分化誘導時のアスベスト曝露を検討したところ、アスベスト曝露によって CD8+細胞は、CTL への分化とその際の増殖が抑制されることが判明した。

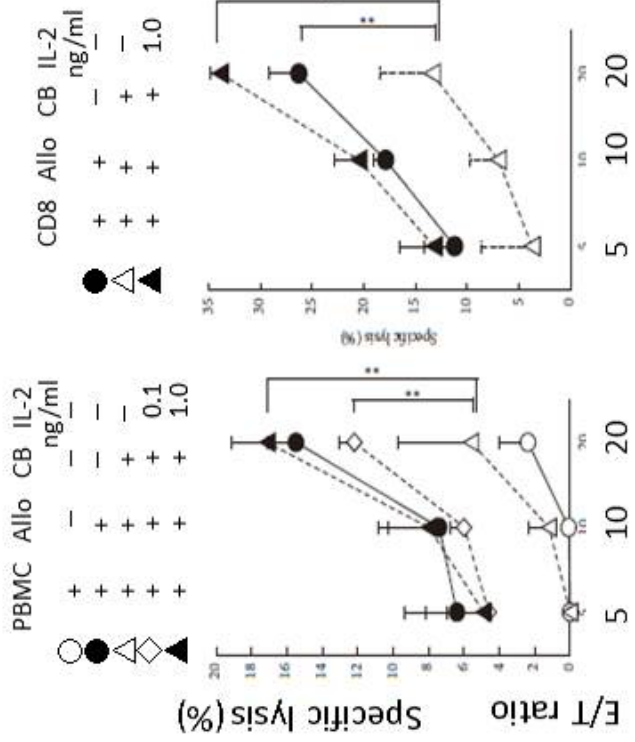
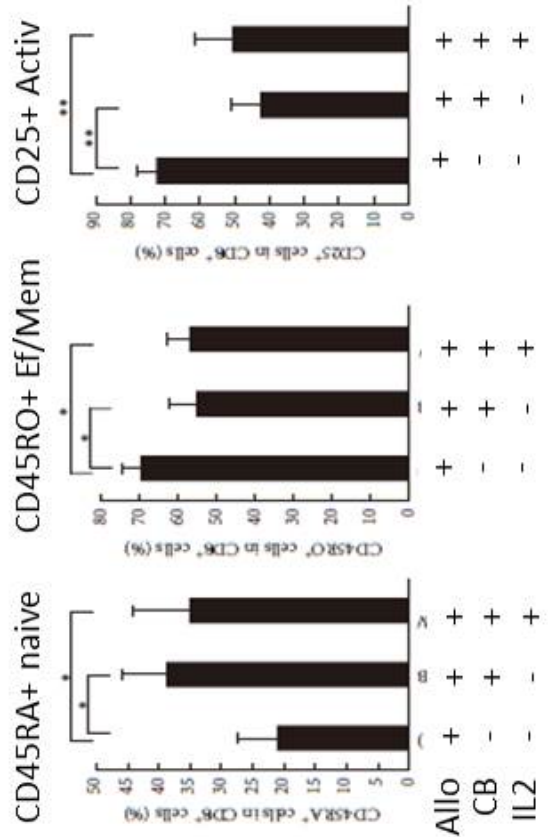
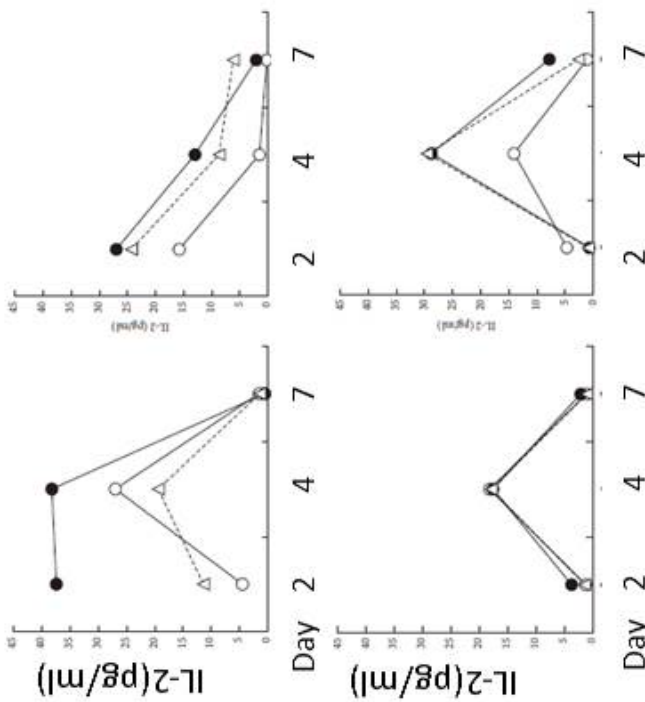
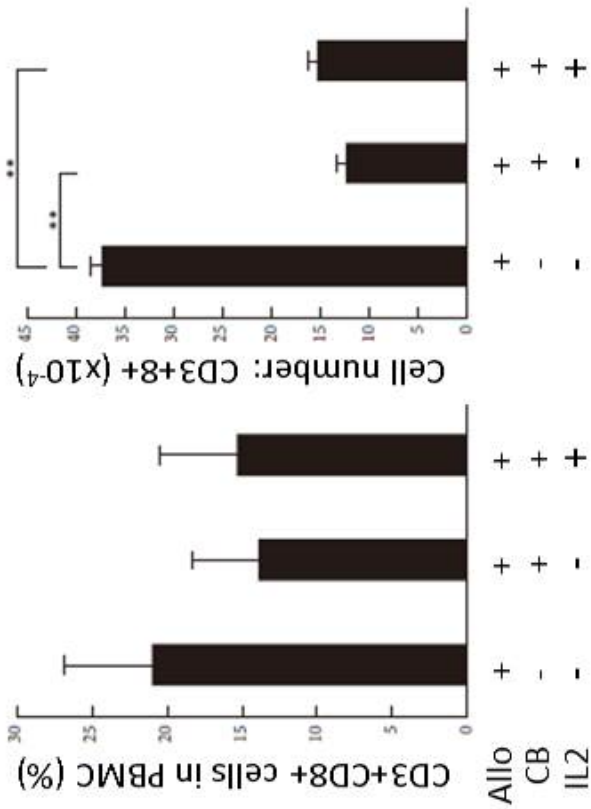
その結果より、アスベスト曝露症例、PP や MM 症例における末梢血の CD8+細胞の分化指標や、CTL の機能発揮に重要な殺細胞顆粒内のパーフォリンやグランザイム B などの状態を調べることにした。

アスベスト曝露症例では、PL であれ、MM であれ (即ち、担癌に至っていようが、いまいが) effector memory CD8+細胞が優位となっていた。しかし、PL 症例と MM 症例では、MM 症例で顆粒内のパーフォリン陽性細胞比率が減少していたことに比して、PL 症例では、

# 末梢血CD8+リンパ球機能解析の意義と結果の解釈

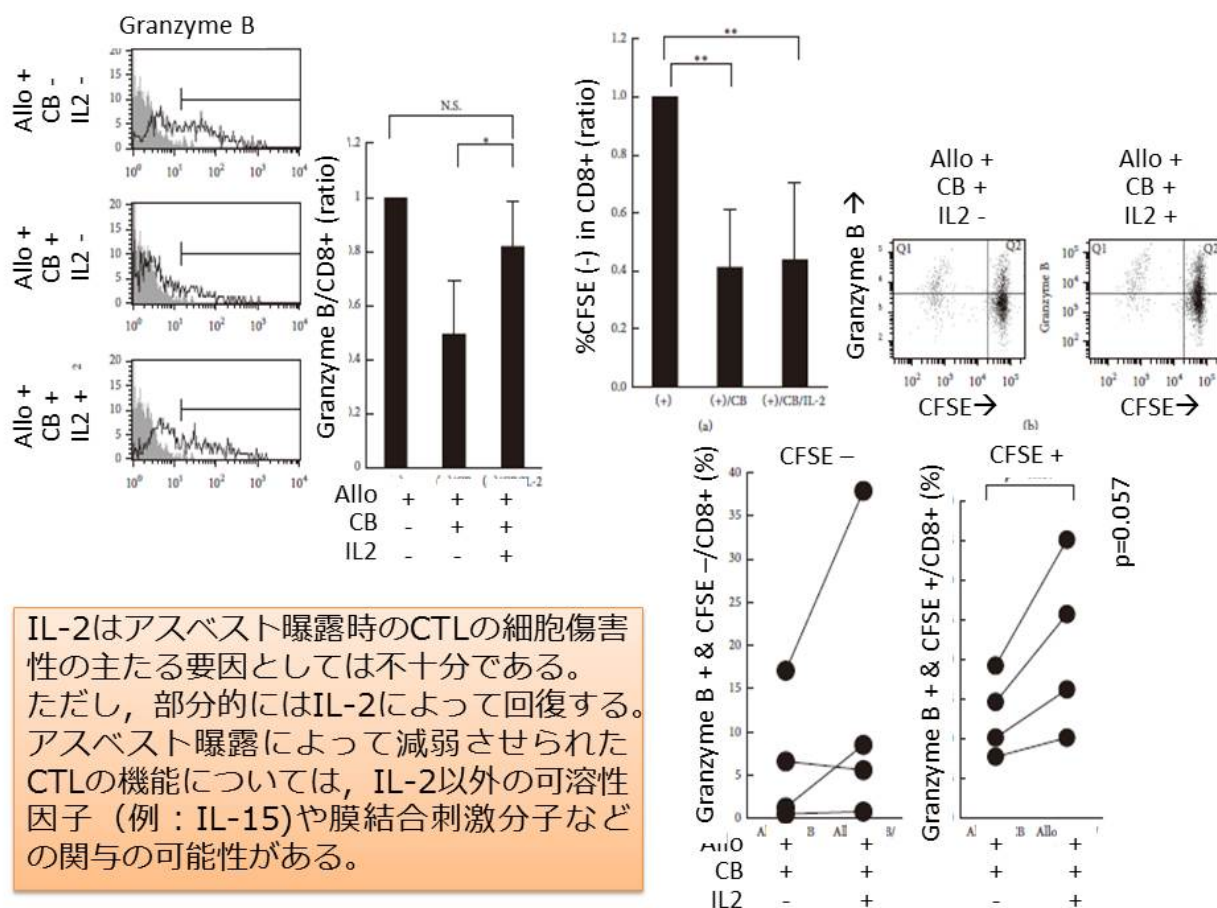
石綿曝露者の末梢血中CD8+リンパ球の機能解析では、既に石綿に曝露されたCD8+リンパ球の機能を調べられる。





さらに、MLR を用いた実験系でアスベスト曝露が CD8+細胞の clonal expansion を抑制する系において、そこに IL-2 を添加すること

によって、この抑制が回避可能かどうかの検討を行った。これまでの系では、MLRの7日目においてIL-2は上清中に検出できないレベルとなっており、その枯渇などが clonal expansion の抑制を惹起している可能性の検討である。



IL-2の添加によって、MLRにおいてCD8+細胞の細胞内グランザイムB陽性細胞比率は非添加群に比し、復帰しアスベスト非添加群に近づいた。また、この減少は増殖しているCD8+細胞で認められる傾向が示された。

しかしながらアスベスト曝露によって減弱したCTLへの clonal expansion についてIL-2のみでは不十分である結果であり、今後IL-15などの他の可溶性因子やBystander効果などを考慮に入れた膜結合刺



激分子の関与の検討を進めなければならないと考えている。

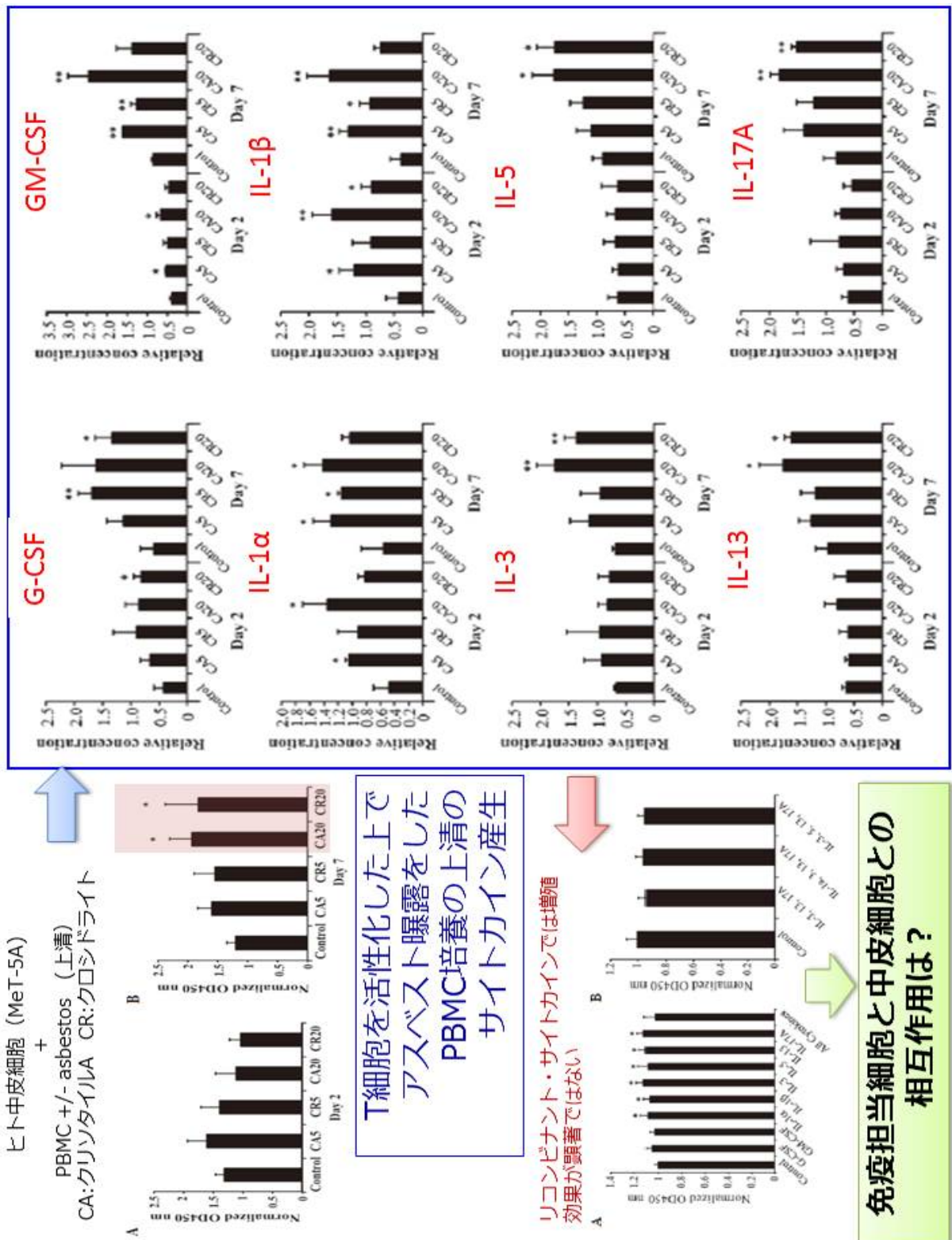
中皮細胞とアスベストに曝露された免疫担当細胞との間の細胞間相互作用について、健常人より得られた末梢血単核球を実験系で刺激する際に、アスベスト添加の有無によって、その培養上清をヒト正常中皮細胞株 MeT-5A の培養系に添加し、MeT-5A の増殖動態を検討すると、単核球に対して比較的高濃度アスベスト曝露を行った培養上清で、MeT-5A 細胞の増殖促進作用が確認できた。この結果に基づいて、アスベスト添加単核球培養上清中のサイトカインを測定し、G-CSF, GM-CSF, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-5, IL13, IL-17A などが有意に増加していることが判明した。しかし、リコンビナント・サイトカインの単独もしくは複数のサイトカインを MeT-5A 細胞の培養系に添加しても、十分な増殖促進効果は認められなかった。

この結果は、免疫担当細胞と中皮細胞の間で、アスベスト曝露により、なんらかの細胞間相互作用が生じる可能性を示唆し、それによって胸膜局所におけるサイトカイン動態から想定される慢性炎症などが、将来的な中皮腫発症の素地を形成すると思われるが、詳細な検討は今後の課題となると考えられた。

さて、これらの検討によって、アスベスト曝露が免疫担当細胞にも、種々の影響を惹起し、多くの結果は、アスベスト曝露者における抗腫瘍免疫の減衰という方向に作用していることが判明した。

これらの成果は、この班研究の期間に多く判明してきた結果である。残念ながらミッドカインについては、詳細な検討を実施するまでに至らなかった、即ち、研究期間当初に血漿中での高値を提示する症例が少なかったために、悪性中皮腫に対して免疫系が関与する腫瘍マーカーあるいは早期診断指標としての普遍的な位置付けに対して、十分な想起に至らなかったことによる。ただし、本研究班の他のグループにより、ミッドカインを中心とした治療への戦略的検討も行われており、そういった中での免疫担当細胞の役割の解析に

については、今後共協力的に推進可能であろうと考えられた。

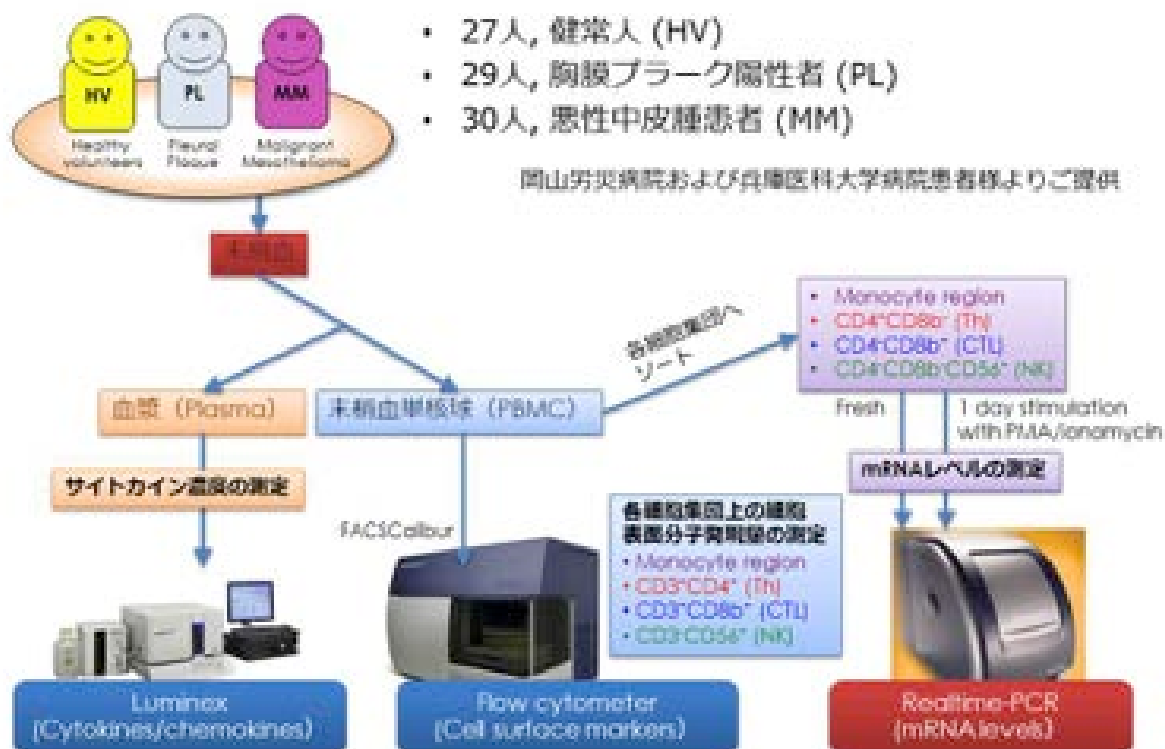


免疫担当細胞へのアスベストの影響を、総括的に応用し、臨床あ

るいは国民に寄与する方策を考える中で、アスベスト曝露症例の末梢血検体の解析から、広範な免疫機能指標を構築する試みを実施した。

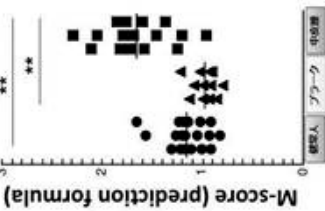
健常人, PL 症例, MM 症例の末梢血を得て、血漿成分では luminex 法による 29 種類のサイトカイン測定, また血球成分については, CD4+, CD8+, NK 細胞および単球に分離した上で、それぞれの細胞膜発現分子, およびそれらの細胞と、それらの細胞を一晩 PMA/ionomycin にて刺激した後に回収した細胞から RNA を抽出して、遺伝子発現を解析した。特に膜表面分子や遺伝子については、免疫担当細胞に共通の、あるいは各系統に特異的な、さらに抗腫瘍免疫という観点を加味した候補分子/遺伝子を選択して検討した。

## 方法：末梢血を用いた広範な免疫機能指標の測定



### A M-score : 中皮腫に特徴的なスコア式

Malignant mesothelioma score



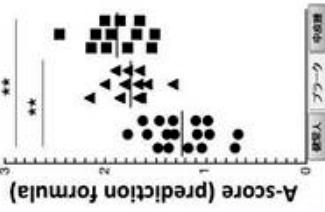
重回帰分析による悪性中皮腫関連因子の同定と予測式 (M-score) の算出

- HV and PL = 1
- MM = 2

$$\text{M-score} = \text{CM} + \text{KM1} \times [\text{IFNa2}] + \text{KM2} \times [\text{Ths\_TNFa}] + \text{KM3} \times [\text{MCP1}]$$

### B A-score : 石綿曝露に特徴的なスコア式

Asbestos exposure score



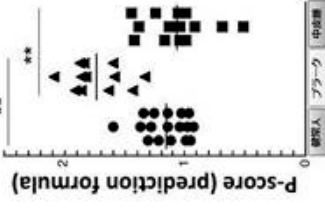
重回帰分析によるアスベスト曝露関連因子の同定と予測式 (A-score) の算出

- HV = 1
- PL and MM = 2

$$\text{A-score} = \text{CA} - \text{KA1} \times [\text{CXCR3MFI\_CTL}] + \text{KA2} \times [\text{CTLs\_GranzymeB}] - \text{KA3} \times [\text{CTL\_IL18R1}]$$

### C P-score : 石綿曝露に特徴的なスコア式

Asbestos exposure score



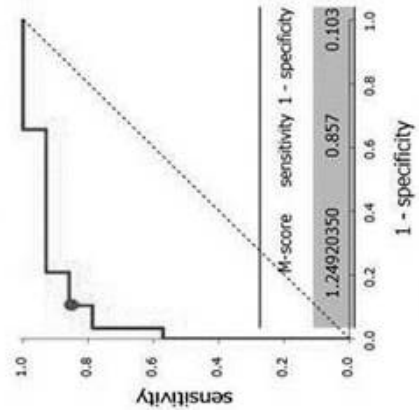
重回帰分析による石綿曝露非担癌因子の同定と予測式 (P-score) の算出

- HV and MM = 1
- PL = 2

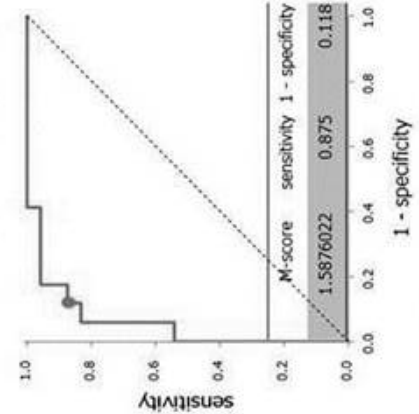
$$\text{P-score} = \text{CP} - \text{KP1} \times [\text{Ths\_TNFa}] - \text{KP2} \times [\text{CXCR3MFI\_NK}] - \text{KP3} \times [\text{GITR\_Th}]$$

## ROC curve

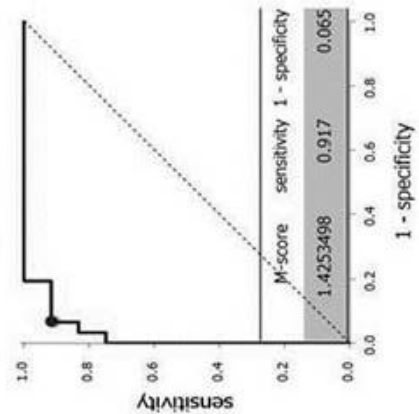
M-score (Mesothelioma)



A-score (Asbestos exposure)



P-score (PL-posi. no tumor)



ROC curve were drawn by IBM SPSS software

特願2015-84983

その結果, MM 群を他の 2 群と区別する指標 (M-score), PL および MM 群 (アスベスト曝露群) と健常人を区別する指標(A-score),

さらに PL 群を他の 2 群と区別するスコア(P-score)を構築することが可能となった。

これらのスコアは、ROC 曲線においても良好な分別能を有していることが想定される。

こういったスコアを用いることによって、過去のアスベスト取扱工場などでの作業員や勤務者、アスベスト取扱工場の近隣に居住歴のある人々は勿論、現在もアスベスト曝露のハイリスクグループと考えられる建造物解体作業員や瓦礫処理作業員、勿論、過去から現在におけるアスベスト曝露の不安を抱える一般市民に対しても、現在、レントゲン撮影でしか実施することができていない曝露や中皮腫発症のスクリーニングについて、被曝の問題や経費の問題を鑑みると、採血で対応可能であることも含めて、有用な指標となると考えている。下図にこのようなスクリーニングデバイスの使用についての模式図を示す。

加えて、アスベスト曝露症例の中でびまん性胸膜肥厚（DP）と診断される一群があるが、この状態と MM 症例とを区別する免疫学的指標についても検討を加えている。

この結果では、ヘルパーT細胞の亜系統（Th1, Th1, 制御性 T 細胞および Th17 細胞）への分化に関連する膜表面分子（GITR）や転写因子（GATA-3, RORC）, そして T 細胞活性化の早期指標である CD69 などが抽出されてきており、アスベスト曝露による胸膜良性疾患（PL や DP）と MM 群とでは免疫学的にも異なった状況が生じていると考えられた。

我々の分担研究としては【中皮腫発症に関連するアスベスト誘発慢性炎症とミッドカインによる修飾】がそのテーマであったが、以下のような成果が得られた。

- 石綿取扱 既作業者
- 石綿取扱工場 既従業員
- 石綿取扱工場 近隣居住歴
- 建造物解体 作業従事者
- 瓦礫処理作業 従事者
- その他一般市民

一次スクリーニング

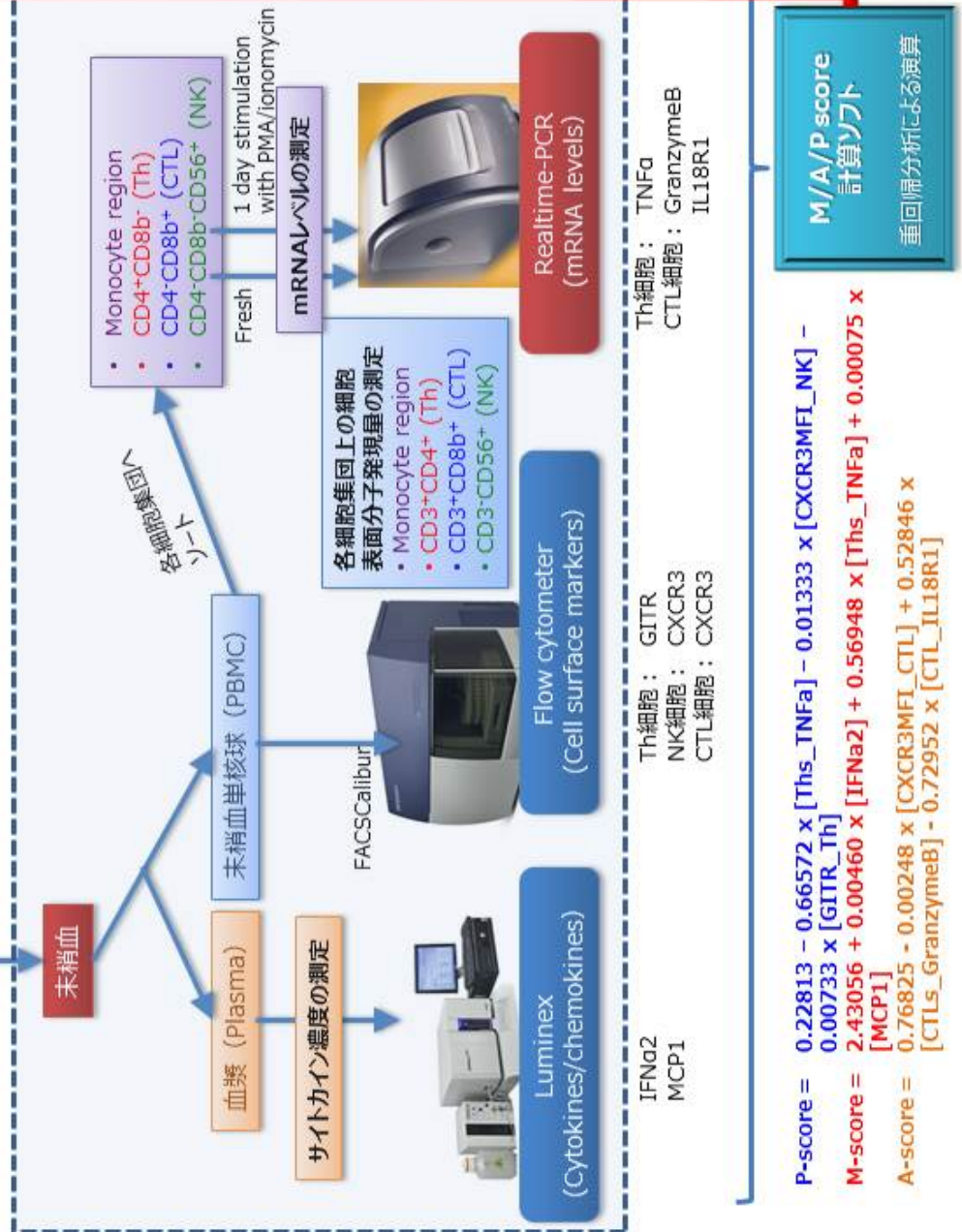
放射線診断による被ばくの回避  
頻回の測定の可能性

個々の受診者のスコアから今後の方針の振り分け

例：M/A/Pスコアのcut off を決定後，+/-で表示

M	A	P	群
-	-	-	1
-	+	-	2
-	+	+	3
+	+	-	4
+	+	+	5

※「M+A-P+」は、ブランク・中皮腫は基本的にアスベスト曝露によって生じるので想定しないことにする。



1. ミッドカインについては, 早期年度での検出可能であった 1 症例以外について十分には検討できなかった。
2. アスベスト曝露の免疫担当細胞への影響について, 腫瘍免疫の減弱を想定して検討を進めた。
3. 研究年度開始前の NK 細胞の活性減弱と NKp46 活性化受容体発現減弱および Th 細胞での CXCR3 発現減弱に加えて以下を報告した。
  - a) クリソタイルとクロシドライト・長期曝露亜株の細胞生物学的差異。
  - b) アスベスト長期曝露亜株におけるタンパク発現の変化と  $\beta$  アクチンリン酸化の亢進。
  - c) アスベスト長期曝露亜株における TGF $\beta$  高産生の細胞生物学的意義。
  - d) アスベスト長期曝露亜株における Treg 機能の亢進。
  - e) アスベスト長期曝露亜株で減弱している転写因子 FoxO1 のアポトーシスへの関与。
  - f) アスベスト長期曝露 (Treg 機能亢進) 亜株における FoxO1 発現減弱と細胞周期加速化との関連。
  - g) CTL (細胞傷害性 T リンパ球, CD8+ T 細胞) に於いて, 胸膜プラーク陽性者における細胞内パーフォリン増加・中皮腫症例での低下・IL-2 の乏しい関連。
  - h) 免疫担当細胞と中皮細胞との関連では, 中皮細胞に対するアスベスト曝露末梢血単核球の増殖促進効果と細胞間コミュニケーションの可能性。
  - i) 免疫関連指標からアスベスト関連疾患の採血によるスクリーニングデバイスの開発。
4. 慢性炎症の観点から, アスベスト加末梢血単核球でのサイトカイン

産生の変化から、今後検討可能な材料が集積されてきている。→  
今後の検討課題。

5. 生理活性物質/食品成分などによる減弱抗腫瘍免疫の回復のための実験は、開始したばかりである。
6. 実験的検討と症例検体の解析によって、アスベスト曝露による免疫担当細胞への影響による抗腫瘍免疫減衰の実態を、より詳細に明らかにするとともに、ハイリスクグループのポピュレーションの健康保持に貢献できるデバイスの精度向上を目指す

#### <優れた成果が上がった点>

研究年度開始前のNK細胞の活性減弱とNKp46活性化受容体発現減弱およびTh細胞でのCXCR3発現減弱に加えて以下を報告した。

- a) クリソタイルとクロシドライト・長期曝露亜株の細胞生物学的差異。

MT-2細胞株（HTLV-1不死化ヒト多クローン性細胞株）に一過性では半数以下にしかアポトーシスを惹起しない濃度で、クリソタイル（白石綿）の継続曝露を8ヶ月以上行くと、その後、再度高濃度で曝露してもアスベスト誘導アポトーシスに抵抗性を示す亜株が樹立された。亜株ではIL-10, TGF- $\beta$ の高産生とともに、IL-10 $\rightarrow$ STAT3 $\rightarrow$ Bcl-2という経路が活性化しておりアポトーシス抵抗性にはこの経路が重要であることが判明した。またTGF- $\beta$ については亜株において下流のp38のリン酸化の亢進、SMAD3のリン酸化の亢進（SMAD2はリン酸化減弱）を認め、親株で見られたTGF- $\beta$ 起因細胞増殖抑制への抵抗性が認められた。同様の亜株をクリソタイルとクロシドライト（青石綿）継続曝露で樹立し、cDNAマイクロアレイなどの結果から着目したCXCR3の発現減弱については、細胞株、新鮮末梢血



CD4+細胞の実験系での活性化でも確認され、アスベスト曝露症例（PP や MM）由来の CD4+細胞での減弱も確認された。さらにクリソタイルとクロシドライト長期曝露亜株のアポトーシス抵抗性、サイトカイン産生の変化およびアポトーシス抵抗性と Bcl-2 の発現亢進はどちらの曝露でも生じており、発がんの観点で鉄を含有しているクロシドライトが誘導能が高いとされているが、免疫担当細胞に対してはほぼ同様の影響をもたらすことがわかった。

b) アスベスト長期曝露亜株におけるタンパク発現の変化と  $\beta$  アクチンリン酸化の亢進。

クリソタイル長期曝露株では細胞骨格分子として  $\beta$  アクチンのリン酸化の亢進が生じていると、抵抗性亜株由来のたんぱく質は細胞フリーの系で、親株に比して繊維へ吸着しやすいたんぱく質に変化が生じており、Myosin 9, Vimentin, Tublin  $\beta$  2 など細胞骨格を構成する分子が多く吸着した。これらの所見は、細胞はアスベスト繊維を細胞内に取り込むことができず、膜表面での接触によって慢性曝露を受けることから、細胞骨格の修飾が生じたと考えられ、今後の詳細な検討課題となると思われた。

c) アスベスト長期曝露亜株における Treg 機能の亢進。

亜株では、IL-10 と TGF- $\beta$  の産生亢進が認められ、この2つのサイトカインが制御性 T 細胞の機能発揮における代表的な可溶性因子であること、また MT-2 細胞が制御性 T 細胞機能を有している報告があることから、MT-2 親株と継続曝露亜株における制御性 T 細胞機能を検討した（その亢進は抗腫瘍免疫の減弱を示唆する）。健常人の末梢血 CD4+細胞を抗 CD3 抗体と自己樹状細胞で活性化する系に、MT-2 親株（アスベスト未曝露）と亜株（継続曝露）を制御性 T 細胞の役割を持たせるように放射線照射後に添加培養すると、反応性 T

細胞の増殖抑制能は、亜株で親株に比し有意に亢進していた。このことは細胞間接着による制御性 T 細胞機能がアスベスト曝露で増強することを示唆した。

d) アスベスト長期曝露亜株における TGF $\beta$  高産生の細胞生物学的意義。

可溶性因子の役割を検討するために、IL-10 と TGF- $\beta$  を亜株でそれぞれノックダウンし、トランスウェルによる培養系で反応性 T 細胞の増殖を検討すると、亜株で亢進していた反応性 T 細胞の増殖抑制能は、ノックダウン株で減弱していたため、これら 2 つのサイトカインもまたアスベスト曝露によって制御性 T 細胞の機能が亢進する時に重要な因子であることが想定された。即ちアスベスト曝露を受けた制御性 T 細胞は、細胞間接着と可溶性因子の産生増強の両方の機序で機能が亢進することが判明した。

e) アスベスト長期曝露亜株で減弱している転写因子 FoxO1 のアポトーシスへの関与。

MT-2 細胞においてアスベスト未曝露の親株に比して、継続曝露亜株群では FoxO1 発現の減弱が mRNA およびタンパクレベルで確認された。さらに FoxO1 によって制御されることが知られているいくつかの好アポトーシス分子 (Puma, Bim および Fas ligand) は、亜株で発現減弱していることが判明した。FoxO1 が十分に発現している親株で FoxO1 をノックダウンすると、アスベストに誘導されるアポトーシスに陥った細胞数は減弱した。FoxO1 の発現が減弱している亜株に FoxO1 を導入したところ、アポトーシスに陥る細胞は増加する傾向を示すとともに、Puma の発現は亢進した (Bcl-2 については不変)。このことはアスベスト継続曝露株におけるアスベスト誘導アポトーシスへの抵抗性獲得に関して、IL-10 からの Bcl-2 発現亢進と別経路

として FoxO1 減弱からの好アポトーシス分子の発現減弱も関与していることが想定された。

f) アスベスト長期曝露 (Treg 機能亢進) 亜株における FoxO1 発現減弱と細胞周期加速化との関連。

MT-2 細胞亜株では転写因子 FoxO1 の発現が親株に比して極めて減弱していることが判明し, FoxO1 は細胞周期調整遺伝子群に対して, 周期を加速化する cyclin には抑制的に, 周期を抑制する CDK-I (cyclin dependent kinase-inhibitor) には促進的に作用することが知られているため, FoxO1 の発現減弱は, cyclin を亢進させ CDK-Is を減弱させることによって, その細胞の細胞周期を加速化することが想定される。検討の結果, 親株に比し, 亜株では cyclin (特に D1) の発現亢進, CDK-Is の発現減弱が観察された。さらに親株と亜株での細胞周期解析で, S 期細胞数/G1 期細胞数の比を求めると, すべての亜株で親株に比し高値となっており, これは, 亜株に於いて細胞周期が加速化されていることを示唆した。

g) CTL (細胞傷害性 T リンパ球, CD8+ T 細胞) に於いて, 胸膜プラーク陽性者における細  
内パーフォリン増加・中皮腫症例での低下・IL-2 の乏しい関連  
抗腫瘍免疫の中では CD8+T 細胞の抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞  
(CTL: Cytotoxic T Lymphocyte) への分化も重要である。本研究の期間の中で, 混合リンパ球培養法 (mixed lymphocyte reaction: MLR) の系を用いて, CTL 分化誘導時のアスベスト曝露を検討したところ, アスベスト曝露によって CD8+細胞は, CTL への分化とその際の増殖が抑制されることが判明した。その結果より, アスベスト曝露症例, PP や MM 症例における末梢血の CD8+細胞の分化指標や, CTL の機能発揮に重要な殺細胞顆粒内のパーフォリンやグランザイム B など

の状態を調べることにした。アスベスト曝露症例では、PL であれ、MM であれ（即ち、担癌に至っていようと、いまいが）effector memory CD8+細胞が優位となっていた。しかし、PL 症例と MM 症例では、MM 症例で顆粒内のパーフォリン陽性細胞比率が減少していたことに比して、PL 症例では、増加例も含めて多様であり、加えて、末梢血を *in vitro* で一晩刺激活性化（PMA/ionomycin にて）すると、Mm 症例由来の CD8+細胞でのみ細胞傷害性が低下していることが判明した。さらに、MLR を用いた実験系でアスベスト曝露が CD8+細胞の clonal expansion を抑制する系において、そこに IL-2 を添加することによって、この抑制が回避可能かどうかの検討を行った。これまでの系では、MLR の 7 日目において IL-2 は上清中に検出できないレベルとなっており、その枯渇などが clonal expansion の抑制を惹起している可能性がある。

h) 免疫担当細胞と中皮細胞との関連では、中皮細胞に対するアスベスト曝露末梢血単核球の殖促進効果と細胞間コミュニケーションの可能性

中皮細胞とアスベストに曝露された免疫担当細胞との間の細胞間相互作用について、健常人より得られた末梢血単核球を実験系で刺激する際に、アスベスト添加の有無によって、その培養上清をヒト正常中皮細胞株 MeT-5A の培養系に添加し、MeT-5A の増殖動態を検討すると、単核球に対して比較的高濃度アスベスト曝露を行った培養上清で、MeT-5A 細胞の増殖促進作用が確認できた。この結果に基づいて、アスベスト添加単核球培養上清中のサイトカインを測定し、G-CSF, GM-CSF, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-5, IL13, IL-17A などが有意に増加していることが判明した。しかし、リコンビナント・サイトカインの単独もしくは複数のサイトカインを MeT-5A 細胞の培養系に添加しても、十分な増殖促進効果は認められなかった。この結果は、

免疫担当細胞と中皮細胞の間で、アスベスト曝露により、なんらかの細胞間相互作用が生じる可能性を示唆し、それによって胸膜局所におけるサイトカイン動態から想定される慢性炎症などが、将来的な中皮腫発症の素地を形成すると思われるが、詳細な検討は今後の課題となると考えられる。

i) 免疫関連指標からアスベスト関連疾患の採血によるスクリーニングデバイスの開発。

免疫担当細胞へのアスベストの影響を、総括的に応用し、臨床あるいは国民に寄与する方策を考える中で、アスベスト曝露症例の末梢血検体の解析から、広範な免疫機能指標を構築する試みを実施した。健常人、PL 症例、MM 症例の末梢血を得て、血漿成分では luminex 法による 29 種類のサイトカイン測定、また血球成分については、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、NK 細胞および単球に分離した上で、それぞれの細胞膜発現分子、およびそれらの細胞と、それらの細胞を一晩 PMA/ionomycin にて刺激した後に回収した細胞から RNA を抽出して、遺伝子発現を解析した。特に膜表面分子や遺伝子については、免疫担当細胞に共通の、あるいは各系統に特異的な、さらに抗腫瘍免疫という観点を加味した候補分子/遺伝子を選択して検討した。その結果、MM 群を他の 2 群と区別する指標 (M-score)、PL および MM 群 (アスベスト曝露群) と健常人を区別する指標 (A-score)、さらに PL 群を他の 2 群と区別するスコア (P-score) を構築することが可能となった。これらのスコアは、ROC 曲線においても良好な分別能を有していることが想定される。こういったスコアを用いることによって、過去のアスベスト取扱工場などでの作業員や勤務者、アスベスト取扱工場の近隣に居住歴のある人々は勿論、現在もアスベスト曝露のハイリスクグループと考えられる建造物解体作業員や瓦礫処理

作業者，勿論，過去から現在におけるアスベスト曝露の不安を抱える一般市民に対しても，現在，レントゲン撮影でしか実施することができていない曝露や中皮腫発症のスクリーニングについて，被曝の問題や経費の問題を鑑みると，採血で対応可能であることも含めて，有用な指標となると考えており，このようなスクリーニングデバイスの使用の有用性が示唆される。

#### <課題となった点>

ミッドカインについては，早期年度での検出可能であった1症例以外について十分には検討できなかつた。慢性炎症の観点からは，アスベスト加末梢血単核球でのサイトカイン産生の変化から，材料が集積されてきており，今後の検討課題としたい。また生理活性物質/食品成分などによる減弱抗腫瘍免疫の回復のための実験は，開始したばかりである。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

今回のプロジェクトの中での研究課題である「アスベスト誘発慢性炎症とミッドカインによる修飾」については，ミッドカイン自体が衛生学で保存していた血清において，希少例でしか検出できなかつたこともあって，全体の研究は，アスベスト曝露の免疫担当細胞への影響と抗腫瘍免疫減衰との関連という方向に向かった点は，教室全体としての努力が足りなかつたかとも考えられるが，しかし，反応性T細胞，制御性T細胞，細胞傷害性T細胞，そして中皮細胞とアスベスト曝露後の免疫担当細胞との関連の中で，慢性炎症とのつながりの解析や，抗腫瘍免疫が減弱させられることによる長期の潜伏期の後のアスベスト曝露者における発癌の基盤の解析などは，十分な成果を表出可能であったと考える。

### <外部（第三者）評価の実施結果と対応状況>

瀰漫性胸膜肥厚, 良性石綿胸水におけるアスベスト曝露後の慢性炎症の関わりについての検討を行うよう suggestion 頂いた。現在, 瀰漫性胸膜肥厚と中皮腫症例における免疫学的差異の検討を, 検体の末梢血の血漿でのサイトカインの網羅的解析, 単球, NK 細胞, CD4+T 細胞および CD8+T 細胞における膜表面分子, 加えて fresh 細胞と一晚, 刺激を加えた後の遺伝子発現の変化の検討の集積を行っている。

### <研究期間終了後の展望>

実験的検討と症例検体の解析によって, アスベスト曝露による免疫担当細胞への影響による抗腫瘍免疫減衰の実態を, より詳細に明らかにするとともに, ハイリスクグループのポピュレーションの健康保持に貢献できるデバイスの精度向上を目指す。加えて, アスベスト曝露によって減弱させられた抗腫瘍免疫を, 生理活性物質や食品成分などで復活させることも目標として試みたい。さらに exosome や secretome 解析から, 新たなアスベスト曝露や中皮腫発症の血清/血漿診断指標の探索に努力してみたい。

### <研究成果の副次的効果>

アスベスト関連疾患の採血によるスクリーニングデバイスの開発に関する特許申請を行った。

## 2) 悪性中皮腫におけるシグナル伝達と免疫機構の解析

### a) TBXAS1 および ROR1 解析

鉄誘導ラット中皮腫モデル (図 1) の検体 (図 2, 免疫組織染色; 図 3, RT-PCR) およびヒト中皮腫細胞株 (図 4, RT-PCR) において, thromboxane synthase 1 (TBXAS1) の発現低下を認めた。

図 1

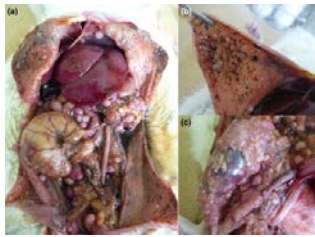


図 2

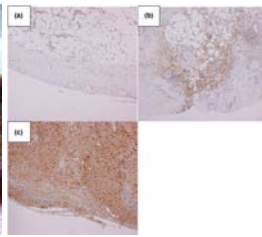


図 3

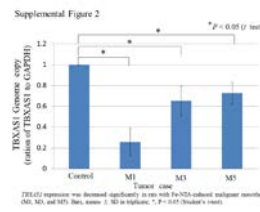
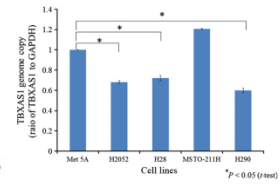


図 4



悪性中皮腫細胞株である MeSO-1, H2452 および H2052 においては, ROR1 阻害による細胞増殖抑制効果 (図 5, 6) およびアポトーシスの増強が認められ, pAKT と pSTAT3 (図 7) が抑制されていた。H28 はコロニー形成に関しては有意に抑制されていたため (図 6), マイクロアレイを施行したところ (図 8), siROR1 で 50%以上抑制された mRNA は 54 種類存在した。その中で 19 種類を H28 と H2452 で定量したところ, いずれの細胞株でも抑制されていた mRNA は FOXP2, MAP2, TOP2B, RNF4, E2F1, CAV1 であった (図 9)。H2452 のみで ABCG1 が, H28 のみで WNT5A, EGR1, Sp1, SREBF1, ARL が抑制されていた。クラスター解析 (図 10) では, 悪性中皮腫検体は比較的均一な集団が同定されたが, 悪性中皮腫細胞株とは異なる集団と位置づけられた。

図 5

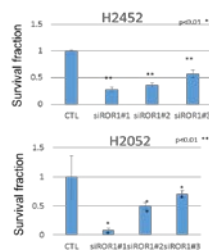


図 6

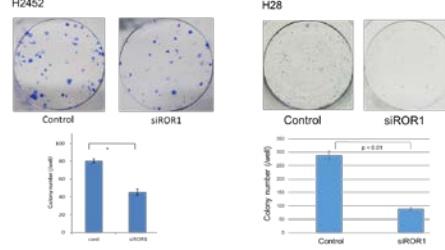


図 7

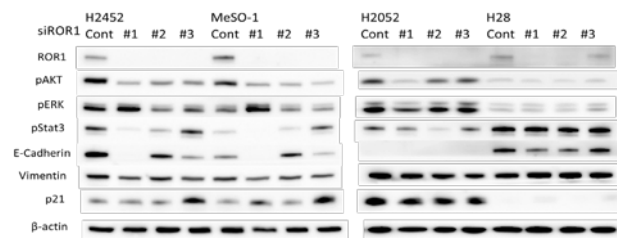


図 8

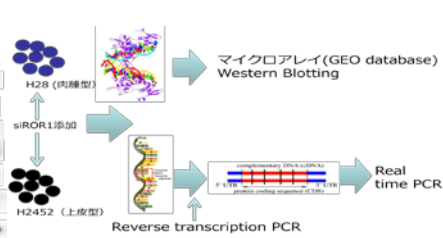




図 9

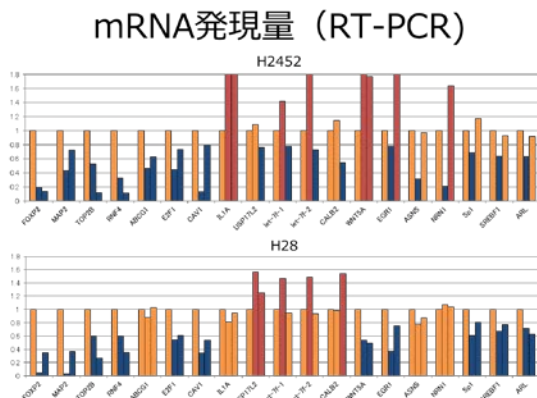
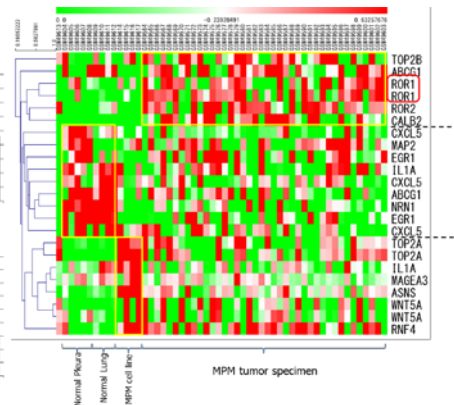


図 10



b) 免疫チェックポイント解析

小細胞がん細胞株 (SBC-3) および悪性中皮腫細胞 (H2452, H2052, MeSO 1 細胞) において PD-1 分子と PD-L1 分子の同時発現をフローサイトメトリー (図 11) および RT-PCR (図 12) で確認した。

図 11

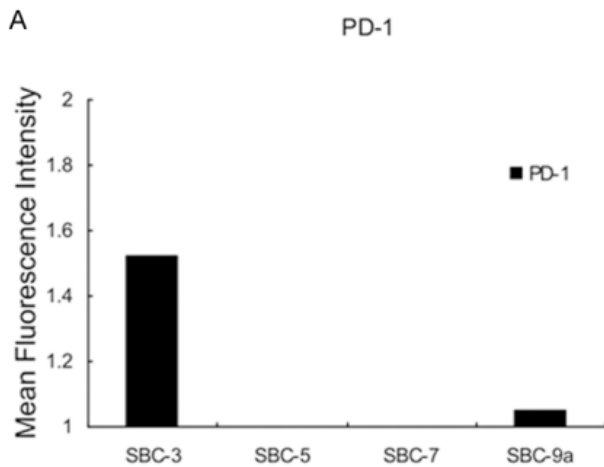
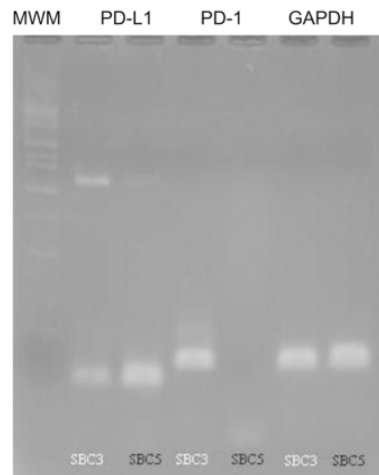


図 12



<優れた成果が上がった点>

悪性中皮腫における TBXAS1 の関与, ROR1 標的治療の可能性, PD-1 分子と PD-L1 分子の同時発現を示すことができ、いずれも世界で初めての成果と考えられた。

#### <課題となった点>

TBXAS1 遺伝子の発がんへの関与が示唆されたが、その遺伝子と発がんの直接の関係が不明のままである。ROR1 に関する in vivo 実験ができていない。PD-1 分子と PD-L1 分子の同時発現の意義が不明である。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

TBXAS1 を knockdown した細胞株、および TBXAS1 導入した細胞株の細胞導体解析が必要であり、検討中である。ROR1 を導入した細胞株の動物実験が必要であり、動物実験ができる施設との交渉中である。PD-1 を阻害する薬剤を使用して、PD-1 分子と PD-L1 分子の同時発現細胞株の細胞動態を検討している。

#### <外部（第三者）評価の実施結果と対応状況>

中皮腫治療においても分子標的アプローチが今後軸になると考えられるが、中皮腫細胞における TBXAS1, ROR1, および PD-1/PD-L1 が標的となるか否かを見極めてほしいという評価を真摯に受け止め、細胞機能評価とともに動物実験に着手する。

#### <研究期間終了後の展望>

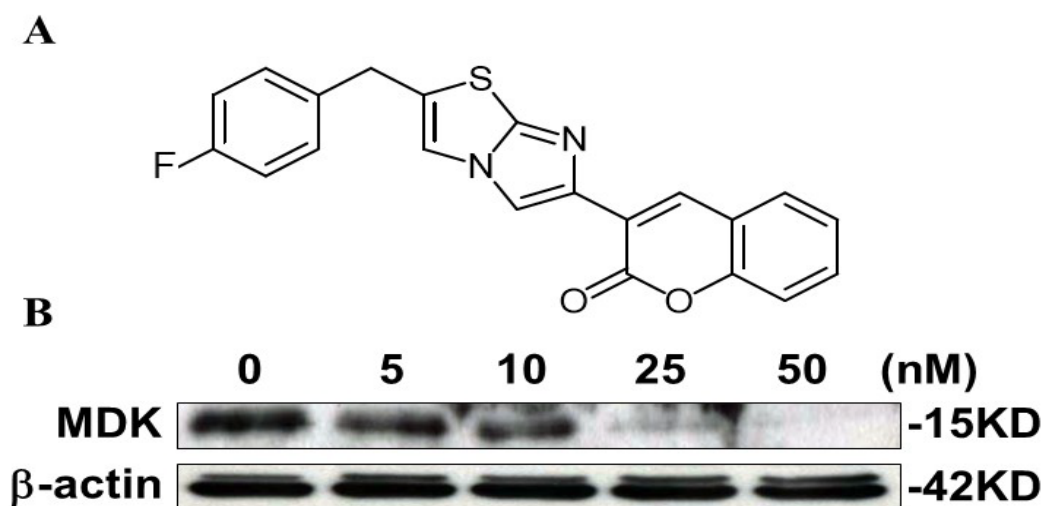
TBXAS1, ROR1, および PD-1/PD-L1 の発現細胞の機能評価とともに in vivo 実験を行う。

#### <研究成果の副次的効果>

悪性中皮腫における TBXAS1 と ROR1 は全く異なるシグナルと考えていたが、クラスター解析で関連している可能性が示唆された（未発表データ）。

### 3) 胸膜中皮腫に対するミッドカインの発現解析ならびに新規標的療法の開発

成長因子またはサイトカインの1種であるミッドカインは、肺癌、食道癌をはじめとする多くの癌で発現があり、その増殖と進展に関与している。一方で正常組織におけるミッドカインの発現は、生後低値となる。また、ミッドカイン遺伝子のプロモータ領域は、その癌特異性から、これまで診断と治療に応用されてきた。我々は このミッドカインプロモータを用いた cell base assay により 4万4千種の化合物ライブラリーから screening を行い、ミッドカイン特異的阻害剤：iMDKの開発を行った(Naomoto Y et al. PLoS One. 8: e71093. 2013)。胸膜中皮腫は現在、アスベスト公害病として社会問題化している予後不良疾患である。治療法として外科手術や化学療法が試みられているが、特に瀰漫性悪性胸膜中皮腫における治療効果は限られている。本研究にて、胸膜中皮腫における新規治療法開発を目的に、中皮腫におけるミッドカイン発現の解析およびミッドカイン阻害剤の抗腫



A: iMDK構造式. B. 肺癌細胞にて容量依存性にミッドカインの発現を抑制した。Hao et al. PLOS ONE 2013.

瘍効果を解析した。

### <優れた成果が上がった点>

各種組織型別（上皮型，肉腫型，混合型）中皮腫細胞株: 6種におけるミッドカインの発現を immunoblot 法, ELISA 法にて解析したところ, 5種細胞株にてミッドカインの発現が見られた。また ELISA 法により中皮腫細胞株 MSTO-211H 培養上清に高いミッドカイン分泌が認められ, 中皮腫細胞株において高率にミッドカイン発現があり, また上清中への分泌を簡易な方法で測定できることが示された。免疫染色においてミッドカイン発現強度を 4 段階に選別した検討において, 川崎医科大学附属病院における平成 19 年から平成 24 年までの胸膜中皮腫切除標本において 87.5% の症例にミッドカイン発現が認められる結果となった(本学倫理委員会承認番号 1232)。ミッドカイン発現と中皮腫組織型, 予後との明らかな関連は認められなかった。

ミッドカイン発現中皮腫細胞株においては, siRNA によるミッドカイン silencing により細胞増殖抑制が WST1 assay にて確認でき, ミッドカインを標的とした新規癌治療法の可能性が示唆された。ミッドカイン阻害剤 iMDK はミッドカイン発現型中皮腫細胞株 MSTO-211H, H2052, H2452, H28 の細胞増殖を抑制し, 中皮腫細胞株 MSTO-211H における colony formation を dose dependent に抑制した。さらに iMDK 投与後 72 時間後の Tunel 染色結果から, 当該化合物は MSTO-211H に dose dependent に apoptosis を誘導した。さらに Nude mice (BALBc nu/nu) にミッドカイン発現のある胸膜中皮腫細胞 MSTO-211H および肺腺癌細胞 H441 を接種して作製した xenograft において, iMDK の腹腔内投与群には control 群に比し, 有意な腫瘍増殖抑制効果が認められた。また主に in vitro を中心とした実験から, その抗腫瘍効果は 1) PI3 kinase-AKT リン酸化の抑制, 2) apoptosis 抑制遺伝子: Survivin および XIAP 発現の低下, 3) apoptosis 抑制遺伝子: BAD の発現増強, 4) caspase-3 cleavage の促進により誘導されるこ

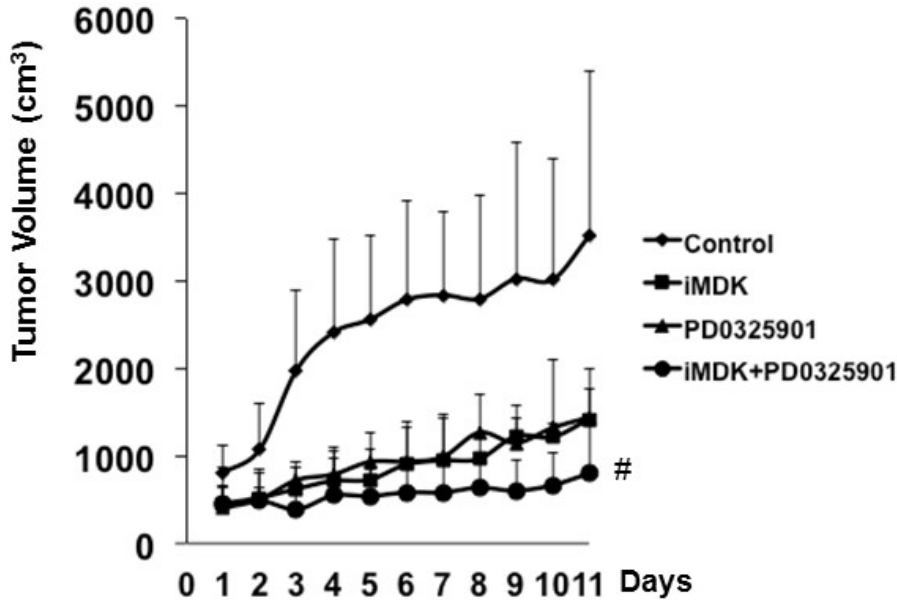
とを明らかにした。

肺腺癌細胞株,中皮腫細胞株へ iMDK 投与後の immunoblot 法を用いた詳細な下流シグナルの解析結果から, iMDK は PI3 kinase pathway を阻害する一方で,癌増殖基幹シグナルの一つである MAP kinase-ERK pathway を活性化してしまう短所を有することが明らかとなった。これは, PI3 kinase pathway の抑制に対する negative feedback loop と考えられる。そこで後者の signal を抑制することで, iMDK の抗腫瘍効果を誘導することができるかどうかを in vitro,in vivo 双方で検討した。iMDK に加え,MAP kinase 阻害剤 PD0325901 を併用すると, PI3 kinase pathway 下流の Akt のリン酸化が抑制されるだけでなく,ERK のリン酸化を同時に抑制することが, immunoblot 法にて見いだされた。また PD0325901 の併用は,iMDK のミッドカイン発現型肺腺癌株における増殖抑制効果, またコロニー形成抑制効果を増強させた。Flow cytometry 法を用いた活性型 caspase の定量実験において, 2 剤の併用は caspase-3 をそれぞれの単剤に比べてより強く活性化することが観察された。

ヌードマウスに肺腺癌株 H441 を用いて作製した xenograft は iMDK の腹腔内投与に加えて PD0325901 の経口投与を行うことで, それぞれの単剤投与群に比べ有意な腫瘍増殖抑制効果が誘導された(図 C)。

我々が, これまで得た知見から, iMDK の抗腫瘍効果は apoptosis を主体とすると考えられ, これの増強効果が予想される anti-apoptotic molecule: Bcl-2 に対する阻害剤との併用効果を検討した。中皮腫細胞 MSTO-211H に対し Bcl-2 阻害剤: ABT263 を投与すると単剤での細胞増殖の抑制が観察され, さらに iMDK との併用において当該化合物の細胞増殖抑制効果を増強できることが明らかとなった。これらのことより iMDK は他種分子標的薬剤との併用効果の有効性が示唆された。

C



MEK阻害剤:PD0325901の経口投与は、H441肺癌細胞により作成したxenograftにおいてiMDK腹腔内投与における抗腫瘍効果を増強した。#p<0.05. Ishida N et al. Exp Cell Res. 2015.

iMDK の IC50 値は細胞腫によってばらつきがあるが、数十 nM 以下の濃度で増殖抑制を誘導できる細胞は限られており、臨床化合物としては不十分と言わざるを得ない。現在 iMDK の派生化合物の抗腫瘍性を in vitro で解析しており、一部の化合物で iMDK より強い抗腫瘍効果が認められている。

<課題となった点>

胸膜中皮腫におけるミッドカインに対する標的治療法の有効性から、ミッドカインに対する中和抗体の作製を試みているが、抗腫瘍効果の誘導できる治療型抗体の樹立に至っておらず、さらなる研究期間を要する見込みである。

#### <自己評価の実施結果と対応状況>

ミッドカインに対する阻害剤の選定,機能解析をアカデミア創薬として行ってきたが,リード化合物の同定から臨床化合物の開発行程は予想通り,長期間を要する結果となった。現在派生化合物の抗腫瘍効果の解析を進めている。

#### <外部（第三者）評価の実施結果と対応状況>

研究成果報告会また外部評価委員による意見交換会において,患者から切除して得た中皮腫組織を株化すると本来の性質を反映しなくなることに留意した方が良いという意見に対し,他種の細胞株を入手し実験に用いるよう努めた。またミッドカイン阻害剤の抗腫瘍効果が細胞種によっては高濃度を要することから,iMDK の特に *in vivo* における毒性を評価すべきとのコメントがあった。これにつき今後 AUC の算定と毒性試験を行う予定である。

#### <研究期間終了後の展望>

iMDK に対する毒性の評価を行うとともに,派生化合物の誘導する抗腫瘍効果,下流シグナルの解析を行い臨床化合物の同定を目指す。

#### <研究成果の副次的効果>

iMDK の血管新生に対する抑制効果を HUVEC 細胞を用いた tube formation assay を行うことで明らかにできた。これは当該化合物の有する apoptosis 誘導以外の有力な抗腫瘍効果誘導機序の一つと考える。さらに iMDK は,口腔癌における抗腫瘍効果を誘導できることを明らかにした。

#### 4) 宿主免疫を利用した新たな中皮腫治療法の開発

悪性胸膜中皮腫は極めて予後不良な疾患である。現在本邦では治療として殺細胞型抗腫瘍薬の併用療法（シスプラチン+ペメトレキセート療法）が標準治療として用いられているが、その有害事象の強さから、高齢者や各臓器機能低下例では治療困難であり、負担のより少ない治療法の実現が急務である。

悪性胸膜中皮腫においては細胞株、切除検体の双方で、高頻度にEGFRの発現が確認されるものの、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤(EGFR-TKI)の臨床効果については、EGFR-TKIの効果予測因子であるEGFR遺伝子変異の頻度が極めて低いこともあり、これまで有用性は示されていない。

我々は悪性胸膜中皮腫において、EGFRシグナルが免疫逃避機構に与える影響を解析することで、分子標的薬の抗腫瘍免疫増強効果を誘導することに応用できるのではないかと考えのもと、各種EGFR-TKIが腫瘍細胞上のHER family受容体発現量や免疫担当細胞の活性化/不活化にかかわるリガンドの発現量について解析を行い、宿主免疫を利用した新たな治療法の実現をめざす研究を立案した。

##### <優れた成果が上がった点>

成果1: これまでに、同じ胸部悪性腫瘍でありかつEGFRが治療標的となっている非小細胞肺癌細胞株を用いて、腫瘍がNK細胞から認識され攻撃を受けるのに重要なNKG2Dリガンドの発現がEGFRシグナルにより制御されていること、さらに非小細胞肺癌切除標本を用いて、免疫チェックポイント阻害剤の標的の一つであるPD-L1の非小細胞肺癌での過剰発現が独立した予後不良因子であり、EGFRの発現と相関、HER2の発現とは逆相関することを明らかにした。並行して同現象を悪性胸膜中皮腫においても検討したが、これまでに用



いた EGFR シグナルの刺激法や阻害法では悪性胸膜中皮腫細胞において NKG2D リガンドの発現に及ぼす影響は非常に小さく、本腫瘍は EGFR を発現しているものの、細胞増殖における EGFR シグナルへの依存は小さいことが推測された。よって、EGFR シグナルの免疫逃避への影響は乏しいと考えて、プロジェクト 1 の悪性胸膜中皮腫における研究続行を断念した。

成果 2: 一方、プロジェクト 1 の研究過程で、悪性胸膜中皮腫細胞株において、各種 EGFR チロシンキナーゼ阻害剤による腫瘍細胞表面の HER family 受容体の発現量をフローサイトメトリー法で解析、複数の細胞株で dual EGFR/HER2-TKI lapatinib により悪性胸膜中皮腫細胞表面の EGFR, HER2 発現量が増加することを確認した。このことは HER family 受容体に対する抗体薬として他癌種ですでに臨床応用されている抗 EGFR 抗体 cetuximab や抗 HER2 抗体薬 trastuzumab の、腫瘍細胞への結合量の増加が期待でき、NK 細胞を介した抗体依存性細胞傷害活性(ADCC)の増強が期待される。我々は、悪性胸膜中皮腫細胞株ならびに患者体腔液由来中皮腫細胞において、lapatinib 曝露後に抗 HER family 受容体抗体薬の結合量が増加し、NK 細胞との共培養における ADCC 活性が増強することを確認した。

これらの結果より悪性胸膜中皮腫において、lapatinib+trastuzumab あるいは cetuximab との併用療法が有効であることを *in vitro* で示した。本研究結果は、治療法の乏しい悪性胸膜中皮腫における、新たな治療法開発のシーズとなりうる。

#### <課題となった点>

Lapatinib と trastuzumab あるいは cetuximab との併用療法の臨床試験を行う体制の構築ができなかった。

## <研究期間終了後の展望>

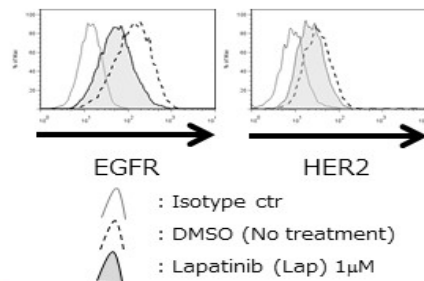
成果1については、他にも VISTA, TIM3, 等々、様々な免疫関連分子の抗腫瘍免疫への影響が明らかとなっており、これらの免疫関連分子の悪性胸膜中皮腫での発現について EGFR シグナルとの関連性を明らかにしたい。成果2については、臨床応用が課題である。細胞株、臨床検体由来腫瘍細胞で示された効果を英文論文として報告しており、我々の研究結果に関心を持った国内外の研究者が本併用療法の臨床試験を実行することを期待している。

### 研究成果:

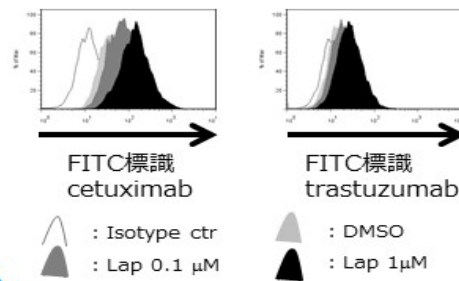
- ❖ 悪性胸膜中皮腫(MPM)細胞株ならびに患者体腔液由来MPM細胞において、dual EGFR/HER2-チロシンキナーゼ lapatinibは腫瘍細胞表面のEGFR、HER2の発現量を増加させ、抗EGFR抗体cetuximab、抗HER2抗体薬trastuzumabの腫瘍細胞への結合量を増やし、NK細胞を介した抗体依存性細胞傷害活性 (ADCC) を増強させる。
- ❖ 本研究を通して、MPMに対するlapatinibと抗EGFR抗体あるいは抗HER2抗体との併用療法による新たな治療法の開発の可能性が示唆された。

Okita R, et al. Oncology Rep 34:2864-70, 2015

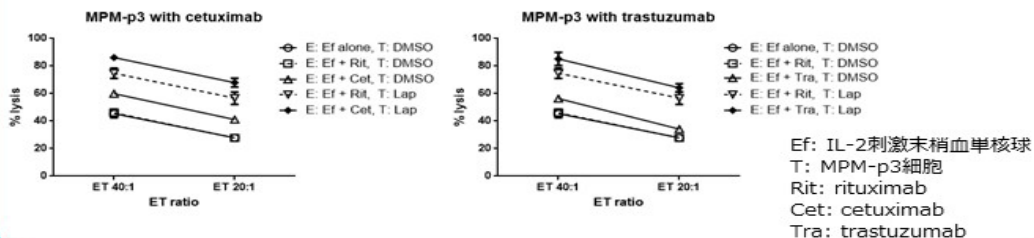
体腔液由来MPM細胞 MPM-p3において lapatinibはEGFRとHER2の細胞表面での発現を増加させる。



MPM-p3において lapatinibはcetuximab、trastuzumabの結合量を増加させる。

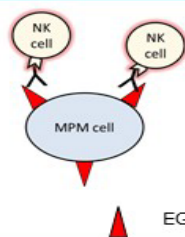


MPM-p3において lapatinibはcetuximab、trastuzumabそれぞれのADCC活性を増強する。



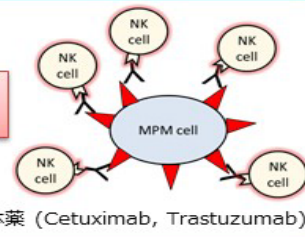
抗HER抗体薬単剤

ADCC 弱



Lapatinib + 抗HER抗体薬

ADCC 強



▲ EGFR/HER2      Y 抗HER抗体薬 (Cetuximab, Trastuzumab)

## 5. 研究発表の状況

### 1) 雑誌論文

1. Maeda M, Yamamoto S, Chen Y, Kumagai-Takei N, Hayashi H, Matsuzaki H, Lee S, Hatayama T, Miyahara N, Katoh M, Hiratsuka J, Nishimura Y, Otsuki T. Resistance to asbestos-induced apoptosis with continuous exposure to crocidolite on a human T cell. The Science of the total environment. 2012;429:174-82. (査読あり).
2. Lee S, Hayashi H, Maeda M, Chen Y, Matsuzaki H, Takei-Kumagai N, Nishimura Y, Fujimoto W, Otsuki T. Environmental factors producing autoimmune dysregulation–Chronic activation of T cells caused by silica exposure. Immunobiology 2012; 217: 743-8. (査読あり).
3. Matsuzaki H, Maeda M, Lee S, Nishimura Y, Kumagai-Takei N, Hayashi H, Yamamoto S, Hatayama T, Kojima Y, Tabata R, Kishimoto T, Hiratsuka J, Otsuki T. Asbestos-induced cellular and molecular alteration of immunocompetent cells and the relationship with chronic inflammation and carcinogenesis. Journal of biomedicine & biotechnology. 2012;2012:492608. (査読あり).
4. Otsuki T, Lee S, Kumagai-Takei N, Miyahara N, Katoh M, Yamamoto S, Hatayama T, Matsuzaki H, Nishimura Y, Maeda M, Hayashi H, Hiratsuka J and Chen Y. Review of reduced tumor immunity caused by asbestos exposure to immunocompetent cells such as T and NK cells. Open Access Scientific reports. doi:10.4172/scientificreports.411. (査読あり).
5. Nishimura Y, Maeda M, Kumagai-Takei N, Lee S, Matsuzaki H, Wada Y, Nishiike-Wada T, Iguchi H, Otsuki T. Altered functions of alveolar macrophages and NK cells involved in asbestos-related diseases. Environmental health and preventive medicine. 2013;18:198-204. (査読あり).
6. Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Maeda M, Hayashi H, Matsuzaki H, Lee S, Hiratsuka J, Otsuki T. Effect of asbestos exposure on differentiation of cytotoxic T lymphocytes in MLR of human PBMCs.

- American journal of respiratory cell and molecular biology. 2013;49:28-36. (査読あり).
7. Tanaka N, Toyooka S, Soh J, Tsukuda K, Shien K, Furukawa M, Muraoka T, Maki Y, Ueno T, Yamamoto H, Asano H, Otsuki T, Miyoshi S. Downregulation of microRNA-34 induces cell proliferation and invasion of human mesothelial cells. *Oncology reports*. 2013 29:2169-74. (査読あり).
  8. Maeda M, Chen Y, Kumagai-Takei N, Hayashi H, Matsuzaki H, Lee S, Hiratsuka J, Nishimura Y, Kimura Y, Otsuki T. Alteration of cytoskeletal molecules in a human T cell line caused by continuous exposure to chrysotile asbestos. *Immunobiology*. 2013;218:1184-91. (査読あり).
  9. Lee S, Matsuzaki H, Kumagai-Takei N, Yoshitome K, Maeda M, Chen Y, Kusaka M, Urakami K, Hayashi H, Fujimoto W, Nishimura Y, Otsuki T. Silica exposure and altered regulation of autoimmunity. *Environmental health and preventive medicine*. 2014 9:322-9. (査読あり).
  10. Maeda M, Chen Y, Hayashi H, Kumagai-Takei N, Matsuzaki H, Lee S, Nishimura Y, Otsuki T. Chronic exposure to asbestos enhances TGF- $\beta$ 1 production in the human adult T cell leukemia virus-immortalized T cell line MT-2. *Int J Oncol* 2014; 45:2522-32. (査読あり).
  11. Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Maeda M, Hayashi H, Matsuzaki H, Lee S, Kishimoto T, Fukuoka K, Nakano T, Otsuki T. Functional properties of CD8+ lymphocytes in patients with pleural plaque and malignant mesothelioma. *Journal of immunology research*. 2014; 670140. (査読あり).
  12. Ostuki T, Holian A and Di Gioacchino M. Immunological Effects of Environmental Factors: Focus on the Fibrous and Particulated Materials, *J Immunol Res* Volume 2014; Article ID 697438. (査読あり).
  13. 西村泰光, 三浦由恵, 前田恵, 松崎秀紀, 李順姫, 武井直子, 大槻剛巳. 【レギュラトリーT細胞の機能発現】 制御性T細胞機能へ

- のアスベスト曝露影響 (解説/特集) 臨床免疫・アレルギー科  
2014; 62: 366-370.
14. 西村泰光, 前田恵, 三浦由恵, 松崎秀紀, 李順姫, 武井直子, 大槻剛巳. アスベスト曝露による Th1 細胞機能の低下(解説). 臨床免疫・アレルギー科 2014; 62:314-317.
  15. 西村泰光, 武井直子, 松崎秀紀, 李順姫, 大槻剛巳 【抗腫瘍免疫の抑制と活性化】 アスベストによる抗腫瘍免疫の抑制(解説/特集). 臨床免疫・アレルギー科 2014; 61:585-591.
  16. Ying C, Maeda M, Nishimura Y, Kumagai-Takei N, Hayashi H, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Yamamoto S, Hatayama T, Otsuki T. Enhancement of regulatory T cell-like suppressive function in MT-2 by long-term and low-dose exposure to asbestos. *Toxicology* 2015; 338:86–94. (査読あり).
  17. Kravchenko J, Corsini E, Williams MA, Decker W, Manjili MH, Otsuki T, Singh N, Al-Mulla F, Al-Temaimi R, Amedei A, Colacci AM, Vaccari M, Mondello C, Scovassi AI, Raju J, Hamid RA, Memeo L, Forte S, Roy R, Woodrick J, Salem HK, Ryan EP, Brown DG, Bisson WH, Lowe L, Lyerly HK Chemical compounds from anthropogenic environment and immune evasion mechanisms: potential interactions. *Carcinogenesis*. 2015 May 22. doi: 10.1093/carcin/bgv033. (査読あり).
  18. Matsuzaki H, Lee S, Kumagai-Takei N, Yoshitome K, Yamamoto S, Hatayama T, Nishimura Y, Otsuki T. Investigating methods regarding diagnostic and prognostic biomarkers for malignant mesothelioma. *Kawasaki Med J* 2015; 41:13-22. (査読あり)
  19. Nishimura Y, Kumagai-Takei N, Matsuzaki H, Lee S, Maeda M, Kishimoto T, Fukuoka K, Nakano T, Otsuki T. Functional alteration of natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes upon asbestos exposure and in malignant mesothelioma patients. *Biomed Res Int. Special Issue "Cancer Immunol Immunother"BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 238431, 9 pages, 2015. doi:10.1155/2015/238431. (査読あり).

20. Goodson WH 3rd, Lowe L, Carpenter DO, Gilbertson M, Manaf Ali A, Lopez de Cerain Salsamendi A, Lasfar A, Carnero A, Azqueta A, Amedei A, Charles AK, Collins AR, Ward A, Salzberg AC, Colacci A, Olsen AK, Berg A, Barclay BJ, Zhou BP, Blanco-Aparicio C, Baglolle CJ, Dong C, Mondello C, Hsu CW, Naus CC, Yedjou C, Curran CS, Laird DW, Koch DC, Carlin DJ, Felsher DW, Roy D, Brown DG, Ratovitski E, Ryan EP, Corsini E, Rojas E, Moon EY, Laconi E, Marongiu F, Al-Mulla F, Chiaradonna F, Darroudi F, Martin FL, Van Schooten FJ, Goldberg GS, Wagemaker G, Nangami GN, Calaf GM, Williams G, Wolf GT, Koppen G, Brunborg G, Lyerly HK, Krishnan H, Ab Hamid H, Yasaei H, Sone H, Kondoh H, Salem HK, Hsu HY, Park HH, Koturbash I, Miousse IR, Scovassi AI, Klaunig JE, Vondráček J, Raju J, Roman J, Wise JP Sr, Whitfield JR, Woodrick J, Christopher JA, Ochieng J, Martinez-Leal JF, Weisz J, Kravchenko J, Sun J, Prudhomme KR, Narayanan KB, Cohen-Solal KA, Moorwood K, Gonzalez L, Soucek L, Jian L, D'Abronzio LS, Lin LT, Li L, Gulliver L, McCawley LJ, Memeo L, Vermeulen L, Leyns L, Zhang L, Valverde M, Khatami M, Romano MF, Chapellier M, Williams MA, Wade M, Manjili MH, Leonart ME, Xia M, Gonzalez MJ, Karamouzis MV, Kirsch-Volders M, Vaccari M, Kuemmerle NB, Singh N, Cruickshanks N, Kleinstreuer N, van Larebeke N, Ahmed N, Ogunkua O, Krishnakumar PK, Vadgama P, Marignani PA, Ghosh PM, Ostrosky-Wegman P, Thompson PA, Dent P, Heneberg P, Darbre P, Sing Leung P, Nangia-Makker P, Cheng QS, Robey RB, Al-Temaimi R, Roy R, Andrade-Vieira R, Sinha RK, Mehta R, Vento R, Di Fiore R, Ponce-Cusi R, Dornetshuber-Fleiss R, Nahta R, Castellino RC, Palorini R, Abd Hamid R, Langie SA, Eltom SE, Brooks SA, Ryeom S, Wise SS, Bay SN, Harris SA, Papagerakis S, Romano S, Pavanello S, Eriksson S, Forte S, Casey SC, Luanpitpong S, Lee TJ, Otsuki T, Chen T, Massfelder T, Sanderson T, Guarnieri T, Hultman T, Dormoy V, Odero-Marah V, Sabbisetti V, Maguer-Satta V, Rathmell WK, Engström W, Decker WK, Bisson WH, Rojanasakul Y, Luqmani Y,

- Chen Z, Hu Z.. Assessing the carcinogenic potential of low-dose exposures to chemical mixtures in the environment: the challenge ahead. *Carcinogenesis*. 2015 Jun;36 Suppl 1:S254-96. doi: 10.1093/carcin/bgv039. (査読あり).
21. 武井直子, 西村泰光, 前田恵, 林宏明, 松崎秀紀, 李順姫, 吉留敬, 岸本卓巳, 福岡和也, 中野孝司, 大槻剛巳 抗腫瘍免疫への石綿曝露影響. *日本予防医学会雑誌* 2015;10: 1-8. (査読あり)
  22. Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Hayashi H, Otsuki T. The suppressed induction of human mature cytotoxic T lymphocytes caused by asbestos is not due to Interleukin-2 insufficiency. *J Immunol Res*. vol. 2016, Article ID 7484872, 10 pages, 2016. doi:10.1155/2016/7484872. (査読あり).
  23. Lee S, Matsuzaki H, Kumagai-Takei N, Yamamoto S, Hatayama T, Yoshitome K, Nishimura Y, Otsuki T Silica and mineral silicates causing autoimmune diseases. *Kawasaki Med J* 2016; 42: 15-24. (査読あり).
  24. Otsuki T, Matsuzaki H, Lee S, Maeda M, Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Otsuki T. FoxO1 Regulates Apoptosis Induced by Asbestos in the MT-2 Human T-Cell Line. *J Immunotoxicol*.2016; 13:1-8. (査読あり).
  25. Otsuki T, Matsuzaki H, Lee S, Kumagai-Takei N, Yamamoto S, Hatayama T, Yoshitome K, Nishimura Y. Environmental factors and human health: fibrous and particulate substance-induced immunological disorders and construction of a health-promoting living environment. *Environ Health Prev Med* 2016; 21: 71-81. (査読あり).
  26. Maki Y, Nishimura Y, Toyooka S, Soh J, Tsukuda K, Shien K, Furukawa M, Muraoka T, Ueno T, Tanaka N, Yamamoto H, Asano H, Maeda M, Kumagai-Takei N, Lee S, Matsuzaki H, Otsuki T, Miyoshi S. The proliferative effects of asbestos-exposed peripheral blood mononuclear cells on mesothelial cells. *Oncol Lett*. 2016;11 :3308-3316.(査読あり).
  27. 李順姫, 前田恵, 松崎秀紀, 武井直子, 山本祥子, 幡山圭代,

- 吉留敬, 西村泰光, 大槻剛巳. ヒト T 細胞株への白石綿・青石綿継続曝露に伴う細胞特性の変化. 日本予防医学雑誌 2016;10: 119-125.(査読あり).
28. 大槻剛巳, 李順姫, 前田恵, 林宏明, 松崎秀紀, 武井直子, 吉留敬, 西村泰光. 珪酸粒子・アスベスト繊維の免疫影響. 珪酸粒子・アスベスト繊維の免疫影響. 日本繊維状物質研究 2016; 3: 4-11.
29. Lee S, Mastuzaki H, Maeda M, Yamamoto S, Kumagai-Takei N, Hatayama T, Ikeda M, Yoshitome K, Nishimura Y, Ostuki T. Accelerated cell-cycle progression of human regulatory T cell-like cell line caused by continuous exposure to asbestos fibers. Int J Oncol 2017; 50: 66-74.
30. 武井直子, 西村泰光, 松崎秀紀, 李順姫, 吉留敬, 幡山圭代, 山本祥子, 池田美穂, 大槻剛巳 アスベスト曝露と細胞傷害性顆粒. 臨床環境医学 (受理) .
31. Hao H, Maeda Y, Fukazawa T, Yamatsuji T, Takaoka M, Bao XH, Matsuoka J, Okui T, Shimo T, Takigawa N, Tomono Y, Nakajima M, Fink-Baldauf IM, Nelson S, Seibel W, Papoian R, Whitsett JA, Naomoto Y. Inhibition of the growth factor MDK/midkine by a novel small molecule compound to treat non-small cell lung cancer. PloS one. 2013;8:e71093. (査読あり).
32. Hayakawa H, Ichihara E, Ohashi K, Ninomiya T, Yasugi M, Takata S, Sakai K, Matsumoto K, Takigawa N, Tanimoto M, Kiura K. . Lower gefitinib dose led to earlier resistance acquisition before emergence of T790M mutation in epidermal growth factor receptor-mutated lung cancer model. Cancer science. 2013;104:1440-6. (査読あり).
33. Minami D, Takigawa N, Takeda H, Takata M, Ochi N, Ichihara E, Hisamoto A, Hotta K, Tanimoto M, Kiura K. Synergistic effect of olaparib with combination of cisplatin on PTEN-deficient lung cancer cells. Molecular cancer research : MCR. 2013;11:140-8. (査読あり).
34. Ichihara E, Hotta K, Takigawa N, Kudo K, Kato Y, Honda Y, Hayakawa H, Minami D, Sato A, Tabata M, Tanimoto M, Kiura K. .



- Impact of physical size on gefitinib efficacy in patients with non-small cell lung cancer harboring EGFR mutations. *Lung Cancer* (Amsterdam, Netherlands). 2013;81:435-9(査読あり).
35. Saito K, Takigawa N, Ohtani N, Iioka H, Tomita Y, Ueda R, Fukuoka J, Kuwahara K, Ichihara E, Kiura K, Kondo E. Antitumor impact of p14ARF on gefitinib-resistant non-small cell lung cancers. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2013;12:1616-28. (査読あり).
  36. Shien K, Toyooka S, Yamamoto H, Soh J, Jida M, Thu KL, Hashida S, Maki Y, Ichihara E, Asano H, Tsukuda K, Takigawa N, Kiura K, Gazdar AF, Lam WL, Miyoshi S. Acquired resistance to EGFR inhibitors is associated with a manifestation of stem cell-like properties in cancer cells. *Cancer research*. 2013;73:3051-61. (査読あり).
  37. Yamane H, Ochi N, Yasugi M, Tabayashi T, Yamagishi T, Monobe Y, Hisamoto A, Kiura K, Takigawa N. Docetaxel for non-small-cell lung cancer harboring the activated EGFR mutation with T790M at initial presentation. *OncoTargets and therapy*. 2013;6:155-60. (査読あり).
  38. Ochi N, Takigawa N, Harada D, Yasugi M, Ichihara E, Hotta K, Tabata M, Tanimoto M, Kiura K. Src mediates ERK reactivation in gefitinib resistance in non-small cell lung cancer. *Experimental cell research*. 2014;322:168-77. (査読あり)。
  39. Wada H, Isobe M, Kakimi K, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Uono H, Seto Y, Yamada K, Nishikawa H, Pan L, Venhaus R, Oka M, Doki Y, Nakayama E. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and montanide ISA-51 in patients with cancers expressing the NY-ESO-1 antigen. *Journal of immunotherapy* (Hagerstown, Md: 1997). 2014;37:84-92. (査読あり).
  40. Yasugi M, Takigawa N, Ochi N, Ohashi K, Harada D, Ninomiya T, Murakami T, Honda Y, Ichihara E, Tanimoto M, Kiura K. Everolimus prolonged survival in transgenic mice with EGFR-driven lung tumors. *Exp Cell Res* 2014;326: 201-209.
  41. Harada D, Takigawa N, Kiura K. The Role of STAT3 in Non-Small

- Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* 2014;6: 708-722. (査読あり).
42. Yamamoto H, Higasa K, Sakaguchi M, Shien K, Soh J, Ichimura K, Furukawa M, Hashida S, Tsukuda K, Takigawa N, Matsuo K, Kiura K, Miyoshi S, Matsuda F, Toyooka S. Novel germline mutation in the transmembrane domain of HER2 in familial lung adenocarcinomas. *Journal of the National Cancer Institute*. 2014;106:djt338. (査読あり).
  43. Murakami T, Takigawa N, Ninomiya T, Ochi N, Yasugi M, Honda Y, Kubo T, Ichihara E, Hotta K, Tanimoto M, Kiura K. Effect of AZD1480 in an epidermal growth factor receptor-driven lung cancer model. *Lung Cancer* 2014; 83: 30-36.
  44. Hotta K, Kiura K, Tabata M, Takigawa N, Tanimoto M, Ueoka H. A survey of Japanese thoracic oncologists' perception of diagnostic and treatment strategies for EGFR mutant or EML4-ALK fusion non-small cell lung cancer. *Chest* 2014;146: e222-225. (査読あり).
  45. Yamane H, Isozaki H, Takeyama M, Ochi N, Kudo K, Honda Y, Yamagishi T, Kubo T, Kiura K, Takigawa N. Programmed cell death protein 1 and programmed death-ligand 1 are expressed on the surface of some small-cell lung cancer lines. *Am J Cancer Res* 2015;5: 1553-1557.
  46. Hotta K, Kato Y, Leighl N, Takigawa N, Gaafar RM, Kayatani H, Hirata T, Ohashi K, Kubo T, Tabata M, Tanimoto M, Kiura K. Magnitude of the benefit of progression-free survival as a potential surrogate marker in phase 3 trials assessing targeted agents in molecularly selected patients with advanced non-small cell lung cancer: systematic review. *PLoS One* 2015;10: e0121211. (査読あり).
  47. Isozaki H, Ichihara E, Takigawa N, Ohashi K, Ochi N, Yasugi M, Ninomiya T, Yamane H, Hotta K, Sakai K, Matsumoto K, Hosokawa S, Bessho A, Sendo T, Tanimoto M, Kiura K. Non-Small Cell Lung Cancer Cells Acquire Resistance to the ALK Inhibitor Alectinib by Activating Alternative Receptor Tyrosine Kinases. *Cancer Res* 2016;76: 1506-1516.
  48. Ochi N, Isozaki H, Takeyama M, Singer JW, Yamane H, Honda Y,

- Kiura K, Takigawa N. Synergistic effect of pacritinib with erlotinib on JAK2-mediated resistance in epidermal growth factor receptor mutation-positive non-small cell lung Cancer. *Exp Cell Res* 2016;344: 194-200.
49. Minami D, Takigawa N, Kato Y, Kudo K, Isozaki H, Hashida S, Harada D, Ochi N, Fujii M, Kubo T, Ohashi K, Sato A, Tanaka T, Hotta K, Tabata M, Toyooka S, Tanimoto M, Kiura K. Downregulation of TBXAS1 in an iron-induced malignant mesothelioma model. *Cancer Sci* 2015;106: 1296-1302.
50. Ichihara E, Hotta K, Nogami N, Kuyama S, Kishino D, Fujii M, Kozuki T, Tabata M, Harada D, Chikamori K, Aoe K, Ueoka H, Hosokawa S, Bessho A, Hisamoto-Sato A, Kubo T, Oze I, Takigawa N, Tanimoto M, Kiura K. Phase II trial of gefitinib in combination with bevacizumab as first-line therapy for advanced non-small cell lung cancer with activating EGFR gene mutations: the Okayama Lung Cancer Study Group Trial 1001. *J Thorac Oncol* 2015;10: 486-491. (査読あり).
51. Isoda R, Yamane H, Nezu S, Monobe Y, Ochi N, Honda Y, Nishimura S, Akiyama M, Horio T, Takigawa N. Successful palliation for an aged patient with primary pericardial mesothelioma. *World J Surg Oncol* 2015;13: 273.
52. Murakami T, Takigawa N, Ninomiya T, Ochi N, Yasugi M, Honda Y, Kubo T, Ichihara E, Hotta K, Tanimoto M, Kiura K. Effect of AZD1480 in an epidermal growth factor receptor-driven lung cancer model. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*. 2014;83:30-6. (査読あり). 53.
53. Yasugi M, Takigawa N, Ochi N, Ohashi K, Harada D, Ninomiya T, Murakami T, Honda Y, Ichihara E, Tanimoto M, Kiura K. Everolimus prolonged survival in transgenic mice with EGFR-driven lung tumors. *Experimental cell research*. 2014;326:201-9. (査読あり).
54. Maeda Y, Tsuchiya T, Hao H, Tompkins DH, Xu Y, Mucenski ML, Du L, Keiser AR, Fukazawa T, Naomoto Y, Nagayasu T, Whitsett JA. Kras(G12D) and Nkx2-1 haploinsufficiency induce mucinous

- adenocarcinoma of the lung. The Journal of clinical investigation. 2012;122:4388-400. (査読あり).
55. Bao XH, Takaoka M, Hao HF, Wang ZG, Fukazawa T, Yamatsuji T, Sakurama K, Sun DS, Nagasaka T, Fujiwara T, Naomoto Y. Esophageal cancer exhibits resistance to a novel IGF-1R inhibitor NVP-AEW541 with maintained RAS-MAPK activity. Anticancer research. 2012;32:2827-34. (査読あり).
56. Hao HF, Takaoka M, Bao XH, Wang ZG, Tomono Y, Sakurama K, Ohara T, Fukazawa T, Yamatsuji T, Fujiwara T, Naomoto Y. Oral administration of FAK inhibitor TAE226 inhibits the progression of peritoneal dissemination of colorectal cancer. Biochemical and biophysical research communications. 2012;423:744-9. (査読あり).
57. Hao H, Maeda Y, Fukazawa T, Yamatsuji T, Takaoka M, Bao XH, Matsuoka J, Okui T, Shimo T, Takigawa N, Tomono Y, Nakajima M, Fink-Baldauf IM, Nelson S, Seibel W, Papoian R, Whitsett JA, Naomoto Y. Inhibition of the growth factor MDK/midkine by a novel small molecule compound to treat non-small cell lung cancer. PloS one. 2013;8:e71093. (査読あり).
58. Nishikawa T, Takaoka M, Ohara T, Tomono Y, Hao H, Bao X, Fukazawa T, Wang Z, Sakurama K, Fujiwara Y, Motoki T, Shirakawa Y, Yamatsuji T, Tanaka N, Fujiwara T, Naomoto Y. Antiproliferative effect of a novel mTOR inhibitor temsirolimus contributes to the prolonged survival of orthotopic esophageal cancer-bearing mice. Cancer biology & therapy. 2013;14:230-6. (査読あり).
59. Okui T, Shimo T, Fukazawa T, Mohammad Monsur Hassan N, Honami T, Ibaragi S, Takaoka M, Naomoto Y, Sasaki A. Novel HSP90 inhibitor NVP-AUY922 enhances the anti-tumor effect of temsirolimus against oral squamous cell carcinoma. Current cancer drug targets. 2013;13:289-99. (査読あり).
60. Ishida N, Fukazawa T, Maeda Y, Yamatsuji T, Kato K, Matsumoto K, Shimo T, Takigawa N, Whitsett JA, Naomoto Y. A novel PI3K inhibitor iMDK suppresses non-small cell lung Cancer cooperatively

- with A MEK inhibitor. *Exp Cell Res* 2015;335: 197-206. (査読あり).
61. Kuwano H, Nishimura Y, Oyama T, Kato H, Kitagawa Y, Kusano M, Shimada H, Takiuchi H, Toh Y, Doki Y, Naomoto Y, Matsubara H, Miyazaki T, Muto M, Yanagisawa A. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Carcinoma of the Esophagus April 2012 edited by the Japan Esophageal Society. *Esophagus* 2015;12: 1-30. (査読あり).
62. Otani H, Yamamoto H, Takaoka M, Sakaguchi M, Soh J, Jida M, Ueno T, Kubo T, Asano H, Tsukuda K, Kiura K, Hatakeyama S, Kawahara E, Naomoto Y, Miyoshi S, Toyooka S. TAE226, a Bis-Anilino Pyrimidine Compound, Inhibits the EGFR-Mutant Kinase Including T790M Mutant to Show Anti-Tumor Effect on EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer Cells. *PLoS One* 2015;10: e0129838. (査読あり).
63. Yamane H, Fukuda N, Nishino K, Yoshida K, Ochi N, Yamagishi T, Honda Y, Kawamoto H, Monobe Y, Mimura H, Naomoto Y, Takigawa N. Non-occlusive mesenteric ischemia after splenic metastasectomy for small-cell lung cancer. *Intern Med* 2015;54: 743-747. (査読あり).
64. Yamatsuji T, Fujiwara Y, Matsumoto H, Hato S, Namikawa T, Hanazaki K, Takaoka M, Hayashi J, Shigemitsu K, Yoshida K, Urakami A, Uno F, Nishizaki M, Kagawa S, Ninomiya M, Fujiwara T, Hirai T, Nakamura M, Haisa M, Naomoto Y. Feasibility of oral administration of S-1 as adjuvant chemotherapy in gastric cancer: 4-week S-1 administration followed by 2-week rest vs. 2-week administration followed by 1-week rest. *Mol Clin Oncol* 2015;3: 527-532. (査読あり).
65. Fukazawa T, Guo M, Ishida N, Yamatsuji T, Takaoka M, Yokota E, Haisa M, Miyake N, Ikeda T, Okui T, Takigawa N, Maeda Y, Naomoto Y. SOX2 suppresses CDKN1A to sustain growth of lung squamous cell carcinoma. *Sci Rep* 2016;6: 20113. (査読あり).
66. Masui M, Okui T, Shimo T, Takabatake K, Fukazawa T, Matsumoto K, Kurio N, Ibaragi S, Naomoto Y, Nagatsuka H, Sasaki A. Novel Midkine Inhibitor iMDK Inhibits Tumor Growth and Angiogenesis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res* 2016;36: 2775-2781.

(査読あり).

67. Morita I, Isoda R, Hirabayashi Y, Naomoto Y. Asian Cardiovasc Thorac Ann. 2016 Oct;24(8):801-804. A long-living case of carotid aneurysm caused by inflammatory leiomyosarcoma. Asian Cardiovasc Thorac Ann 2016;24: 801-804. (査読あり).
68. Yasuda Y, Sakai A, Ito S, Mita Y, Sonoyama T, Tanabe S, Shirakawa Y, Naomoto Y, Katayama H, Shimizu K Genetic polymorphism at codon 546 of the human RAD17 contributes to the risk for esophageal squamous cell carcinoma. Int J Mol Epidemiol Genet 2016;7: 58-66. (査読あり).
69. Yukawa T, Fukazawa T, Yoshida M, Morita I, Kato K, Monobe Y, Furuya M, Naomoto Y. A Case of Birt-Hogg-Dube (BHD) Syndrome Harboring a Novel Folliculin (FLCN) Gene Mutation. Am J Case Rep 2016;17: 788-792. (査読あり).
70. Guo M, Tomoshige K, Meister M, Muley T, Fukazawa T, Tsuchiya T, Karns R, Warth A, Fink-Baldauf IM, Nagayasu T, Naomoto Y, Xu Y, Mall MA, Maeda Y. Gene signature driving invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. EMBO Mol Med 2017;9: 462-481. (査読あり).
71. Shimizu K, Yukawa T, Hiramami Y, Okita R, Saisho S, Maeda A, Yasuda K, Nakata M. Heterogeneity of the EGFR mutation status between the primary tumor and metastatic lymph node and the sensitivity to EGFR tyrosine kinase inhibitor in non-small cell lung cancer. Targeted oncology. 2013;8:237-42.(査読あり).
72. Maeda A, Nakata M, Yasuda K, Yukawa T, Saisho S, Okita R, Hiramami Y, Shimizu K. Influence of vascular endothelial growth factor single nucleotide polymorphisms on non-small cell lung cancer tumor angiogenesis. Oncology reports. 2013;29:39-44.(査読あり).
73. Maeda A, Nakata M, Yasuda K, Yukawa T, Saisho S, Okita R, Hiramami Y, Shimizu K. Unknown primary large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) in the mediastinum. General thoracic and cardiovascular surgery. 2013;61:542-5.

74. Saisho S, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Okita R, Hiramami Y, Shimizu K, Nakata M. Role of 2-[18F]fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography in preoperative management of solid-type small-sized lung cancer. *Annals of nuclear medicine*. 2013;27:515-22.(査読あり).
75. Saisho S, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Okita R, Hiramami Y, Shimizu K, Nakata M. Post-recurrence survival of patients with non-small-cell lung cancer after curative resection with or without induction/adjuvant chemotherapy. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2013;16:166-72.(査読あり).
76. Yukawa T, Shimizu K, Hiramami Y, Okita R, Saisho S, Maeda A, Yasuda K, Nakata M. A case report of intrapulmonary schwannoma. *General thoracic and cardiovascular surgery*. 2013. (査読あり).
77. Okita R, Wolf D, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Shimizu K, Yamaguchi Y, Oka M, Nakayama E, Lundqvist A, Kiessling R, Seliger B, Nakata M. Contrasting effects of the cytotoxic anticancer drug Gemcitabine and the EGFR tyrosine kinase inhibitor Gefitinib on NK cell-mediated cytotoxicity via regulation of NKG2D ligand in non-small-cell lung cancer cells. *PlosOne* 10, e0139809, 2015.(査読あり).
78. Okita R, Shimizu K, Nojima Y, Yukawa T, Maeda A, Saisho S, Nakata M. Lapatinib enhances trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity via upregulation of HER2 in malignant mesothelioma cells. *Oncol Rep* 2015; 34, 2864-70.(査読あり).
79. Okita R, Yukawa T, Nojima Y, Maeda A, Saisho S, Shimizu K, Nakata M. MHC class I chain-related molecule A and B expression is upregulated by cisplatin and associated with good prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2016; 65: 499-509.(査読あり).
80. Okita R, Maeda A, Shimizu K, Nojima Y, Saisho S, Nakata M. PD-L1 overexpression is partially regulated by EGFR/HER2 signaling and associated with poor prognosis in patients with non-small-cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother*, in press. DOI:

10.1007/s00262-017-1986-y.(査読あり).

2) 図書

1. Nishimura Y, Maeda M, Kumagai-Takei N, Matsuzaki H, Lee S, Fukuoka K, Nakano T, Kishimoto T, Ostuki T. Chapter title: Effect of asbestos on anti-tumor immunity and immunological alteration in patients with mesothelioma. In "Malignant Mesothelioma", book edited by Carmen Belli and Santosh Anand, ISBN 978-953-51-0901-3, Published: December 19, 2012 InTech Open AccessPublisher
2. Matsuzaki H, Nishimura Y, Lee S, Maeda M, Kumagai-Takei N, Hayashi H, Hirastuka J, Chen Y, Miura Y, Ostuki T. Asbestos-induced mesothelioma: Tumor escape and alteration of immune surveillance. Rec Res Develop Immunol, Research Signpost Publisher 8(2012) 13-31, ISBN: 978-81-308-0484-2
3. Maeda M, Yamamoto S, Hatayama T, Matsuzaki H, Lee S, Kumagai-Takei N, Yoshitome K, Nishimura Y, Kimura Y, Ostuki T. T Cell Alteration Caused by Exposure to Asbestos. In: Biological Effects of Fibrous and Particulate Substances, (Series Title: Current Topics in Environmental Health and Preventive Medicine) (Ostuki T, Holian A, Yoshioka Y. eds), Springer Japan, Tokyo, pp195-210, 2015
4. Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Matsuzaki H, Maeda M, Lee S, Yoshitome K, Ostuki T. Effects of Asbestos Fibers on Human Cytotoxic T Cells In: Biological Effects of Fibrous and Particulate Substances, (Series Title: Current Topics in Environmental Health and Preventive Medicine) (Ostuki T, Holian A, Yoshioka Y. eds), Springer Tokyo, pp211-221, 2015
5. Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Yamamoto S, Hatayama T, Maeda M, Ostuki T. Reduction of anti-tumor immunity caused by asbestos exposure. In. Asbestos: Risk Assessment, Health Implications and Impacts on the Environment. Edited by Dean L. Simmons. NOVA Scientific Publishers, INC. Hauppauge, NY, 2016, pp45-62.
6. Matsuzaki H, Lee S, Kumagai-Takei N, Yamamoto S, Hatayama T,



- Yoshitome K, Hayashi H, Maeda M, Nishimura Y, Ostuki T. Immunological risks caused by fibrous and particulate substances. In: Environmental Health Risks. (Marcelo Larramendy, Sonia Soloneski. Editors), ISBN 978-953-51-4706-0. InTech Publisher, Rijeka, Croatia, 2016 DOI: 10.5772/62749 Open Access※
7. Nishimura Y, Kumagai-Takei N, Maeda M, Matsuzaki H, Lee S, Yamamoto S, Hatayama T, Yoshitome K, Ostuki T. Suppressive effects of asbestos exposure on the human immune surveillance system. In: Allergy and Immunotoxicology in Occupational Health, (Series Title: Current Topics in Environmental Health and Preventive Medicine) (Ostuki T, Di Gioacchino M, Petrarca C. eds), Springer Japan, Tokyo. 2016. pp. 1-14.
  8. Kumagai-Takei N, Nishimura Y, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Yamamoto S, Ikeda M, Hatayama T, Maeda M, Ostuki T. Alteration of perforin status caused by asbestos exposure in CTL and NK cells. In: "Perforin: Structure, Function and Role in the Immune Response ", NOVA publisher, New York, 2017 (in press)
  9. Yamatsuji T, Takaoka M, Fukazawa T and Naomoto Y. Tumor Suppressor Genes : Functions, Regulation and Health Effects. Chapter 12. Functions of the Tumor Suppressor Gene APC; Editors : Mehmet Gundez and Esra Gundez. NOVA SCIENCE PUBLISHERS. INC., New York, U.S.A. 2013. ISBN : 978-1-62808-674-4

### 3) 学会発表

1. Otsuki T, Maeda M, Yamamoto S, Kumagai-Takei N, Lee S, Matsuzaki H, Nishimura Y. Resistance to asbestos-induced apoptosis with continuous exposure to crocidolite on a human T cell. The 52nd Annual Meeting, Society of Toxicology. 2013年03月13日. 於米国サンアントニオ
2. 大槻剛巳, 武井直子, 李順姫, 松崎秀紀, 前田恵, 西村泰光. ヒト末梢血単核球での混合リンパ球培養反応における細胞障害性T細胞の分化に及ぼすアスベスト曝露の影響.第22回日本臨床

- 環境医学会学術集会 2013年6月8日. 東京都港区
3. 大槻剛巳, 前田恵, 武井直子, 松崎秀紀, 李順姫, 西村泰光. アスベストの免疫毒性学的側面と病態への関与 in シンポジウム「免疫毒性の最近の潮流. 第40回日本毒性学会学術年会 2013年6月19日. 於千葉県千葉市
  4. 大槻剛巳, 前田恵, 松崎秀紀, 李順姫, 武井直子, 西村泰光. 白石綿低濃度継続曝露ヒトT細胞株における骨格変化. 第20回日本免疫毒性学会学術総会 2013年9月12日. 於東京都渋谷区
  5. 大槻剛巳, 武井直子, 前田恵, 李順姫, 松崎秀紀, 西村泰光. Effect of asbestos exposure on differentiation of cytotoxic T lymphocytes in MLR of human PBMCs. 第72回日本癌学会学術総会 2013年10月5日. 於神奈川県横浜市
  6. 大槻剛巳, 松崎秀紀, 李順姫, 前田恵, 武井直子, 西村泰光. Reduction of FOXO1 expression in Treg model by continuous exposure to asbestos. 第75回日本血液学会学術集会 2013年10月12日. 於北海道札幌市
  7. Otsuki T, Maeda M, Lee S, Matsuzaki H, Kumagai-Takei N, Nishimura Y. Changes of cytoskeletal molecules in a human T cell line caused by continuous exposure to chrysotile asbestos. 2013 日本免疫学会・学術集会 2013年12月12日. 千葉県千葉市
  8. Otsuki T, Maeda M, Matsuzaki H, Lee S, Kumagai-Takei N, Nishimura Y. Alteration of cytoskeletal molecules in as human T cell line caused by continuous exposure to chrysotile asbestos. The 53rd annual Meeting. Society of Toxicology, 2014年3月26日. 於米国フェニックス
  9. 大槻剛巳. アスベストの免疫担当細胞への影響. 予防医学 week in OKAYAMA: 第87回日本産業衛生学会・第84回日本衛生学会学術総会. 2 学会合同シンポジウム 2014年5月23日. 岡山県岡山市
  10. 大槻剛巳, 前田恵, 武井直子, 松崎秀紀, 李順姫, 吉留敬, 西村泰光. アスベスト繊維の免疫影響—T細胞への影響を中心に—. 第2回日本繊維状物質研究学術集会 2014年8月6日. 於東京都新宿区

11. Otsuki T, Lee S, Maeda M, Matsuzaki H, Takei N, Yoshitome K, Nishimura Y. Continuous exposure to asbestos on human T cell line accelerates cell cycle progression through reduced FoxO1 expression. 第 73 回日本癌学会学術総会 2014 年 9 月 26 日. 於神奈川県横浜市
12. 大槻剛巳. 環境からの健康影響：繊維状粒子状物質の免疫影響と、健康増進環境の構築（学会賞受賞講演）. 第 85 回日本衛生学会学術総会 2015 年 3/27 日。於和歌山県和歌山市
13. 大槻剛巳, 前田恵, 武井直子, 松崎秀紀, 李順姫, 吉留敬, 西村泰光. アスベスト長期曝露ヒト T 細胞株における細胞骨格の変化. 第 88 回日本産業衛生学会 2015 年 5 月 15 日. 於大阪府大阪市
14. Otsuki T, Maeda M, Matsuzaki H, Lee S, Kumagai-Takei N, Nishimura Y. Functional Enhancement caused by Asbestos Exposure in human regulatory T cell Line. Special Session [Fibers and Particulate Matter (including nanoparticles) Immune Effect]. 1. 31st ICOH (International Congress on Occupational Health) 2015 年 6 月 2 日, COEX Convention Center, Seoul, Korea
15. Otsuki T, Maeda M, Kumagai-Takei N, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Nishimura Y. Continuous exposure to crocidolite on a human T cell line causes resistant to asbestos-induced apoptosis similar to chrysotile exposure. 31st ICOH (International Congress on Occupational Health) 2015 年 6 月 3 日, COEX Convention Center, Seoul, Korea
16. Otsuki T, Maeda M, Kumagai-Takei N, Matsuzaki H, Lee S, Yoshitome K, Nishimura Y. Alteration of cytoskeletal molecules in a human T cell line caused by continuous exposure to chrysotile asbestos. 31st ICOH (International Congress on Occupational Health) 2015 年 6 月 3 日, COEX Convention Center, Seoul, Korea
17. Otsuki T, Kumagai-Takei N, Lee S, Matsuzaki H, Nishimura Y, Kishimoto T, Fukuoka K, Nakano T. Functional features of CD8+ lymphocytes in pleural plaque and mesothelioma. 第 74 回日本癌学会

学術総会 2015 年 10 月 10 日.於愛知県名古屋市

18. Otsuki T., Maeda M., Kumagai-Takei N., Matsuzaki H., Lee S., Yoshitome K., Nishimura Y. Chronic Exposure to Chrysotile Asbestos Induces Il-17 Production in Cultured Human Peripheral CD4+ T Cells in vitro. The 55th Annual Meeting of the Society of Toxicology,2016 年 3 月 16 日, New Orleans, Louisiana
19. 大槻剛巳, 山本祥子, 李順姫, 幡山圭代, 松崎秀紀, 武井直子, 吉留敬, 西村泰光. アスベスト継続曝露 T 細胞亜株における非曝露親株との酸化的リン酸化に関連する複合体発現. 第 23 回日本免疫毒性学会学術年会 2016 年 9 月 7 日.福岡県北九州市
20. 大槻剛巳, 松崎秀紀, 武井直子, 李順姫, 吉留敬, 西村泰光. Reduced FoxO1 transcription factor in asbestos continuously exposed human T cell line. 第 75 回日本癌学会学術総会. 2016 年 10 月 7 日. 於神奈川県横浜市
21. Otsuki T., Lee S., Matsuzaki H., Kumagai-Takei N., Yoshitome K., Nishimura Y. Function and cell cycle in regulatory T cell like human cell line continuously exposed to asbestos. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年 10 月 14 日. 於神奈川県横浜市
22. ※南大輔他, 瀧川奈義夫, 加藤有加, 工藤健一郎, 磯崎英子, 二宮崇, 久保寿夫, 大橋圭明, 堀田勝幸, 豊岡伸一, 谷本光音. 鉄誘発ラット悪性中皮腫モデルにおける TBXAS1 遺伝子発現の抑制. 第 74 回日本癌学会学術集会 2015 年 10 月 8 日 於福岡県博多
23. Hiromichi Yamane, Hideko Isozaki, Nobuaki Ochi, Kenichiro Kudo, Yoshihiro Honda, Tomoko Yamagishi, Toshio Kubo, Katsuyuki Kiura and Nagio Takigawa Nagio. Both Programmed cell death protein 1 and programmed death-ligand 1 molecules can be expressed on the surface of small-cell lung cancer AACR Annual Meeting 2015. 2013 年 4 月 8 日 於米国,フィラデルフィア.
24. Takuya Fukazawa, Yutaka Maeda, Huifang Hao, Tomoki Yamatsuji, Munenori Takaoka, Nagio Takigawa and Yoshio Naomoto. Development of novel targeted therapies for non-small cell carcinoma by novel Midkine inhibitors. AACR Annual Meeting 2013. 2013 年 4

- 月 8 日 於米国,ワシントン DC.
25. 深澤拓也, 山辻 知樹, 高岡 宗徳, 森田 一郎, 中島 元夫, ウィットセット ジェフリー, 猶本良夫 他. 肺腺癌に対する Midkine を標的とした新規治療法の開発. 第 113 回日本外科学会学術集会 2013 年 4 月 11 日 於福岡県博多
  26. 深澤拓也, 前田豊, 山辻知樹, 高岡宗徳, 森田一郎, 瀧川奈義夫, 猶本良夫. Midkine 阻害剤を用いた非小細胞肺癌に対する新規治療法開発. 第 54 回 日本肺癌学会総会 2013 年 11 月 21 日 於東京都千代田区
  27. 深澤拓也, 石田尚正, 山辻知樹, 高岡宗徳, 森田一郎, 平林葉子, 羽井佐実, Nelson Sandra, Whitsett Jeffry, 猶本良夫. Inhibition of the growth factor Midkine by a novel small molecule compound to treat pulmonary adenocarcinoma. 第 114 回日本外科学会学術集会 2014 年 4 月 11 日 於京都府京都市
  28. Takuya Fukazawa, Yutaka Maeda, Tomoki Yamatsuji, Munenori Takaoka, Masakazu Yoshida, Naomasa Ishida, Miki Iwai, Etsuko Yokota, Takuro Yukawa, Minoru Haisa, Noriko Miyake, Tomoko Ikeda, Nagio Takigawa, Jeffery Whitsett, Yoshio Naomoto et al. Development of novel targeted therapies for malignant mesothelioma by novel Midkine inhibitors. AACR Annual Meeting 2017. 2017 年 4 月 1 日 於米国,ワシントン DC.
  29. Riki Okita, Dimitrios Mougiakakos, Koichiro Yasuda, Ai Maeda, Takuro Yukawa, Shinsuke Saisho, Yuji Hiramami, Katsuhiko Shimizu, Masao Nakata, Rolf Kiessling.. HER signaling effects on the NK cell-mediated cytotoxicity via regulation of MHC class I-related chain A/B in cancer cells, European Society of Medical Oncology Congress, 2012 年 9 月 30 日於オーストリア, ウィーン
  30. Okita R, Nojima Y, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Hiramami Y, Shimizu K, Nakata M. EGFR signaling effects on NK cell-mediated cytotoxicity via NKG2D ligands-NKG2D interaction in non-small cell lung cancer cells, 15<sup>th</sup> World Conference on Lung Cancer, 2013 年 10 月 30 日於オーストラリア, シドニー.

31. Okita R, Nojima Y, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Hiramami Y, Shimizu K, Nakata M. Anticancer drugs effect on NK cell-mediated cytotoxicity via the regulation of NKG2D ligand expression in non-small-cell lung cancer cells, European Cancer Congress 2013 (38th European Society of Medical Oncology Congress: ESMO), 2013年9月28日於オランダ, アムステルダム
32. Okita R, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Shimizu K, Nakata M. Cytotoxic anticancer drug enhances NK cell-mediated cytotoxicity via the DNA stress induced NKG2D ligands in non-small-cell lung cancer cells, European Society of Medical Oncology Congress 2014, 2014年9月28日於スペイン, マドリード.
33. Okita R, Nojima Y, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Shimizu K, Nakata M. Lapatinib enhances trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity by upregulating HER2 in malignant pleural mesothelioma cells, European Society of Medical Oncology Congress 2015, 2015年9月28日於オーストリア, ウィーン.
34. Okita R, Nojima Y, Maeda A, Saisho S, Shimizu K, Nakata M. Repeated exposure to cisplatin enhances NK cell-mediated cytotoxicity via up-regulation of NKG2D ligands in non-small cell lung cancer cells, European Society of Medical Oncology Congress, 2016年10月10日於デンマーク, コペンハーゲン.
35. 沖田理貴, 保田紘一郎, 前田愛, 湯川拓郎, 最相晋輔, 平見有二, 清水克彦, 中田昌男, 山口佳之, Rolf Kiessling. . がん細胞において HER family シグナルは MICA/B 発現制御を介した NK 細胞からの免疫逃避に関与する. 第 113 回日本外科学会学術集会 2013 年 4 月 13 日 於福岡県博多.
36. 沖田理貴, 野島雄史, 保田紘一郎, 前田愛, 湯川拓郎, 最相晋輔, 平見有二, 清水克彦, 中田昌男. 非小細胞肺癌細胞株において EGF シグナル, 抗癌剤刺激は MICA/B を介した NK 細胞傷害活性を制御する. 第 30 回日本呼吸器外科学会 2013 年 5 月 9 日 於愛知県名古屋市
37. 沖田理貴, 野島雄史, 保田紘一郎, 前田愛, 湯川拓郎, 最相晋輔, 清

- 水克彦, 中田昌男. 非小細胞肺癌細胞において抗腫瘍薬がNK細胞傷害活性に与える影響の解析. 第54回日本肺癌学会総会 2013年11月22日 於 東京都.
38. Okita R, Yasuda K, Maeda A, Yukawa T, Saisho S, Shimizu K, Nakata M. Cytotoxic drugs and EGFR tyrosine kinase inhibitor effect on NK cell cytotoxicity in non-small-cell lung cancer cells, 第12回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2014年7月18日 於福岡県博多.
39. 沖田理貴, 保田紘一郎, 前田愛, 湯川拓郎, 最相晋輔, 清水克彦, 山口佳之, 中田昌男. 殺細胞型抗腫瘍薬 Gemcitabine が非小細胞肺癌細胞に対するNK細胞傷害活性に与える影響の解析, 第27回日本バイオセラピー学会学術集会総会, 2014年12月5日 於大阪市
40. 沖田理貴, 保田紘一郎, 前田愛, 湯川拓郎, 最相晋輔, 清水克彦, 中田昌男. 化学療法前後における非小細胞肺癌細胞の NKG2D リガンド発現解析, 第32回日本呼吸器外科学会総会 2015年5月15日 於高松市.
41. 沖田理貴, 野島雄史, 前田愛, 最相晋輔, 清水克彦, 中田昌男. 悪性胸膜中皮腫細胞において lapatinib は trastuzumab の抗体依存性細胞傷害活性を増強する, 第6回 Japan Mesothelioma Interest Group 研究会, 2015年11月14日 於北九州市.
42. 沖田理貴, 湯川拓郎, 野島雄史, 前田愛, 最相晋輔, 清水克彦, 中田昌男. 非小細胞肺癌における NKG2D リガンド MICA/B 発現の意義: 切除例における予後との関連ならびにシスプラチンによる MICA/B 発現誘導効果に関する検討 第28回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2015年11月28日 於川越市.
43. 沖田理貴, 湯川拓郎, 野島雄史, 前田愛, 最相晋輔, 清水克彦, 中田昌男. 非小細胞肺癌切除例における NKG2D リガンド MICA/B, ULBP2/5/6 発現と臨床病理学的因子との関連性の検討第116回日本外科学会定期学術集会. 2016年4月16日 於大阪市.
44. 沖田理貴, 野島雄史, 前田愛, 最相晋輔, 清水克彦, 中田昌男. PD-L1 expression predicts poor prognosis and is correlated with EGFR status in patients with non-small-cell lung cancer, 第14回日本臨床腫瘍学会学術集会 2016年7月29日 於神戸市.

45. 沖田理貴，中田昌男．非小細胞肺癌における PD-L1 発現と HER2 シグナルとの関連性の検討，第 29 回日本バイオセラピー学会学術集会総会，2016 年 12 月 1 日 於久留米市．

## 6. その他の研究成果:シンポジウム・学会等の実施状況,インターネットでの公開状況等

平成 26 年度川崎医科大学「疾病制圧に向けた大学の挑戦」」（市民公開講座）2014.10/12

アスベストによるがん（中皮腫）の起こり方と治し方」

1. がん（中皮腫）の現状について 衛生学教授 大槻剛巳
2. 治療について 総合外科学講師 深澤拓也

【市民・労働者，繊維状物質取扱作業等への概説講座，産学官連携活動に関連した発表】

1. 全国労働安全衛生センター連絡会議第 23 回総会. 2012.10.27. 岡山市勤労者福祉センター. 大槻剛巳. 珪酸やアスベストの免疫影響
2. 大学コンソーシアム岡山 吉備創生カレッジ 平成 24 年度後期山陽新聞社本社ビル. 大槻剛巳. 「がん」についての考察. 1 回目 2013.1.10. 癌細胞とは？そして環境からの発癌
3. おかやま労働安全衛生センター第 2 回総会 2013.4.21. 岡山県勤労者福祉センター. 大槻剛巳. 環境と健康影響 アスベストと PM2.5 （記念講演）
4. 大学コンソーシアム岡山 吉備創生カレッジ 平成 25 年度後期山陽新聞社本社ビル. 大槻剛巳. 国民衛生の動向からの諸問題. 2 回目 2013.6.20 労働衛生と環境衛生
5. 第 3 回おかやま労働安全衛生センター総会 2014.4.23.岡山市勤労者福祉センター 4F. 大槻剛巳. 環境からの健康障害，環境によ



- る健康増進！（記念講演）
6. 労働安全週間記念講演 2014.10/6.国立印刷局岡山工場. 大槻剛巳. 労働衛生の最近の話題～川崎医科大学衛生学の研究内容も踏まえて～
  7. 倉敷市大学連携講座 2014.10/9. ライフパーク倉敷. 大槻剛巳. 生活習慣病を考える（全4回）②がんとその対策
  8. BioJapan 2014. 2014.10/15-17. パシフィコ横浜. 大槻剛巳. アスベストの免疫影響から構築する曝露・担癌のスクリーニングデバイス
  9. 日本繊維状物質研究協会定期総会 2014.11.27.北里大学白金キャンパス薬学部1号館4階1401教室. 大槻剛巳. 特別講演. アスベストの免疫影響
  10. 大学コンソーシアム岡山 吉備創生カレッジ 平成26年度後期 山陽新聞社本社ビル. 大槻剛巳. 環境医学・予防医学の最前線「環境による健康被害」 2015.1/15
  11. 第2回繊維状物質研究セミナー 2015.1/30. 仏教伝道センタービル 8F「和」. 大槻剛巳. 天然鉱物の生体影響について
  12. 関西・東海地区医系大学 新技術説明会. 2015.10/29 JST 東京本部別館1Fホール（東京・市ヶ谷）. 大槻剛巳. 免疫因子による石綿曝露・中皮腫発症の早期判別方法
  13. おかやま労働安全衛生センター 第5回総会 2016.4/20. 岡山県当同社福祉センター. 大槻剛巳. 最近の職業がんの話題, さらに繊維状物質（セラミックファイバーを含む）の話題
  14. IPSN×medU-net アカデミックシーズ発表会 2016.8/19 東京医科歯科大学 M&D タワー2階 共用講義室2. 大槻剛巳, 西村泰光, 武井直子, 松崎秀紀, 李順姫. アスベスト曝露歴または中皮腫の採血による抗腫瘍免疫減衰の検査方法
  15. 吉備創生カレッジ（大学コンソーシアム岡山）平成28年度後期. 山陽新聞社カレッジ・ビル. 大槻剛巳. 環境と健康：最近の話題

2) 2016.11/24 アスベスト研究の社会還元

16. 倉敷市大学連携講座 平成 28 年度 大槻剛巳. 環境と健康：被害から健康増進へ 2) 2017.01/19 @玉島公民館 アスベストなど繊維状物資の健康影響と，その対策

また本研究計画での研究成果につき，川崎医科大学呼吸器外科学のホームページに掲載し，研究内容を紹介している

<http://www.kawasaki-m.ac.jp/gts/07-01.html>.

<これから実施する予定のもの>

\* 2017 年 9 月,日本癌学会にて発表予定

越智宣昭, 山根弘路, 深澤拓也, 猶本良夫, 瀧川奈義夫

Targeting ROR1 in malignant mesothelioma

\* 2017 年 10 月,日本癌治療学会にて発表予定

三宅規子, 越智宣昭, 池田智子, 中川望, 山根弘路, 矢野庄一郎, 山岸智子, 長崎泰有, 本多宣裕, 中西秀和, 深澤拓也, 猶本良夫, 瀧川奈義夫

悪性中皮腫における ROR1 標的治療の基礎的検討



新規治療法開発  
中皮腫の発癌機構の解明と

(川崎医科大学)  
猶本良夫

平成二十九年三月