

(4) CAPs 曝露がマウスの細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズム解明に関する研究

要旨

第1期に実施した実験研究【2】(4)参照の結果から、(1) PM_{2.5}抽出物、DEP抽出物及び抽出後 DEP 粒子の気管内投与による経気道曝露が、細菌毒素による気管支・肺胞への好中球浸出を増強すること、(2) PM_{2.5}抽出物や DEP抽出物と細菌毒素の併用曝露は細菌毒素に関連する肺の組織傷害や浮腫性変化に顕著な影響を与えないが、抽出後 DEP 粒子と細菌毒素の併用曝露は好中球性炎症や肺胞出血、肺水腫を著明に増悪すること、(3) この効果には、肺局所の炎症性サイトカイン及びケモカインのタンパク及び遺伝子発現や Toll-like receptor 2(TLR2)と Toll-like receptor 4(TLR4)の遺伝子発現が重要であること、(4) 細菌毒素の経気道曝露後に毒素の血中移行が確認され、移行は抽出後 DEP 粒子の併用曝露により増強されることなどが示唆された。しかし、PM_{2.5}の吸入曝露による肺への影響に関する研究はあまり行なわれていなかった。

そこで、本研究では、都市沿道における CAPs の吸入曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響について、その増悪メカニズムとしてサイトカインやケモカインに及ぼす影響に注目し、検討を行った。

ICR 雄性マウスを以下の4群に分け、約5時間に及ぶ CAPs 曝露実験を行った。平成15年度より18年度まで、曝露日を変えて同じプロトコルを計8回行った。気管内投与直後より CAPs 又は除粒子対照の曝露を開始し、気管内投与の24時間後に諸検討を行った。

- i. vehicle (対照溶液)気管内投与 + 除粒子対照曝露
- ii. 細菌毒素 (4µg/body) 気管内投与 + 除粒子対照曝露
- iii. vehicle (対照溶液) 気管内投与 + CAPs 曝露
- iv. 細菌毒素 (4µg/body) 気管内投与 + CAPs 曝露

その結果、気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞浸潤では、毎実験において細菌毒素の経気道曝露により好中球の有意な増加と好酸球の増加傾向を示した。全8回の実験中6回で、CAPs 曝露により除粒子対照曝露と比較して好中球数の増加傾向を示し、そのうち2回は有意な差も認められた。炎症性サイトカイン及びケモカインとして、肺組織中の interleukin (IL) -1β、macrophage inflammatory protein (MIP) -1α、monocyte chemoattractant protein (MCP) -1、keratinocyte chemoattractant (KC) を測定した。細菌毒素の経気道曝露により、これらの炎症性タンパクの増加が認められたが、CAPs 曝露による炎症性タンパクの発現への影響は

曝露日によって様々であった。CAPs 構成成分と炎症のパラメーターとの相関においては、好酸球にのみ相関を認めた。

以上より、CAPs 曝露はそれ自体で肺に明らかな炎症等の傷害は与えないが、細菌毒素に関連する肺傷害を増悪しうる可能性が示唆された。一方、CAPs 曝露は、細菌毒素との併存で好酸球性炎症を惹起することが示された。また、CAPs 曝露は、肺において細菌毒素で誘発される炎症性サイトカイン、ケモカインの発現を曝露条件によっては増強することが示された。しかしながら、肺での炎症増悪に寄与している CAPs の成分を同定することは出来なかった。

(4. 1) 背景・目的

過去の疫学的報告から、PM_{2.5}を代表とする大気中微小浮遊粒子状物質の濃度上昇が呼吸器疾患や循環器疾患に起因する死亡率や重症化率、有病率あるいは有症率の上昇と関連していること、PM_{2.5}の曝露に対して気管支喘息、気管支炎、慢性肺気腫、肺炎、免疫不全者、糖尿病等の患者及び高齢者等の高感受性群が存在することなどが示唆されている[1,2]。また、過去の動物実験の研究により、我が国の大都市部の PM_{2.5}の多くの部分を占める DEP が気管支喘息を増悪することが示唆されている[3,4]。しかし、気管支喘息以外の呼吸器疾患に与える PM_{2.5}や DEP の呼吸器影響の

メカニズムは全く明らかにされていなかった。そこで、第1期に実施した実験研究（【2】（4）参照）では、「大気中微小粒子状物質に対して健康影響を受けやすい高感受性群」の多くのケースに易感染性が共通して存在することに着目し、気管内投与実験の実施により、PM_{2.5}とDEPの構成成分が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響について検討し、以下の結果を得た。

- ①PM_{2.5}抽出物、DEP抽出物、抽出後DEP粒子の気管内投与による経気道曝露は、細菌毒素による気管支・肺胞への好中球浸出を増強した。
- ②PM_{2.5}抽出物やDEP抽出物の併用曝露は細菌毒素に関連する肺の組織傷害や浮腫性変化に顕著な影響を与えないが、抽出後DEP粒子とDEP全粒子の細菌毒素との併用曝露は好中球性炎症や肺胞出血、肺水腫を著明に増悪した。
- ③肺局所の炎症性サイトカイン及びケモカインのタンパク及び遺伝子発現は、細菌毒素単独曝露群に比較し、抽出後DEP又はDEP全粒子の併用曝露で有意に上昇した。
- ④PM_{2.5}抽出物やDEP抽出物の併用は、細菌毒素単独投与に比較し、炎症性サイトカイン、ケモカインのタンパク及び遺伝子発現を低下させる傾向を示した。
- ⑤抽出後DEP粒子の併用曝露は、細菌毒素の単独曝露に比較し、TLR2とTLR4の遺伝子発現を有意に増強するが、DEP抽出物の併用は、細菌毒素の単独曝露に比較し、TLRs発現に明らかな増強をもたらさなかった。
- ⑥DEP抽出物と抽出後DEP粒子の単独曝露は、vehicle曝露に比較し、TLR2とTLR4の発現を増強する傾向を示し、特に、DEP抽出物でその傾向が強かった。
- ⑦抗炎症効果を発揮するIL-10タンパクの局所発現は、細菌毒素の単独曝露に比較し、抽出後DEP粒子併用曝露では上昇傾向が観察され、DEP抽出物もしくはPM_{2.5}抽出物との併用曝露では、逆に低下が認められた。
- ⑧抽出後DEP粒子、DEP抽出物、PM_{2.5}抽出物の併用曝露は、細菌毒素の単独曝露と比較し、血中補体価に有意な変化を認めなかった。
- ⑨細菌毒素の経気道曝露後に、毒素の血中移行が確認されたが、移行は抽出後DEP粒子の併用曝露により増強された。

以上のように、PM_{2.5}やDEPはそれ全体としても各構成成分としても、細菌毒素に関連する肺の炎症を増悪しうることがわかった。しかし、傷害に及ぼす各構成成分の寄与度や内在する増悪メカニズムは、必ずしも同一ではないことが示唆されている。また、これらの研究は気管内投与による経気道曝露を用いており、呼吸による吸入曝露実験による影響の確認が不可欠と考えられる。

そこで、本研究では、都市沿道におけるCAPsの吸入曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響について、その増悪メカニズムとしてサイトカインやケモカインに及ぼす影響に注目し、検討を行った。特に、細菌毒素に関連する肺傷害を増悪する主構成成分を明らかにするための基礎データの集積を図った。

（4.2）方法

（4.2.1）曝露実験

ICR系雄性マウス（6週齢）に下記の実験群を設定し、ハロセン麻酔下にポリエチレンチューブを用いて、vehicle（対照溶液）もしくは細菌毒素を気管内投与した。気管内投与終了後、除粒子対照もしくはCAPsを曝露するチャンバーに動物を搬入し、約5時間の吸入曝露を施行した。曝露終了後に動物を曝露チャンバーより搬出し、気管内投与の24時間後に実験に供した。なお、曝露実験は平成15年度から18年度にかけて計8回（平成15年7月23日・30日、平成16年7月22日・8月19日、平成17年8月18日・12月26日、平成18年5月16日・8月24日）実施した。

- i. 除粒子対照曝露 + vehicle（対照溶液）気管内投与
- ii. 除粒子対照曝露 + 細菌毒素（4μg/body）気管内投与
- iii. CAPs曝露 + vehicle（対照溶液）気管内投与

iv. CAPs 曝露 + 細菌毒素 (4 μ g/body) 気管内投与

すべての群で vehicle 群と同様の緩衝液を使用し、気管内投与量も 100 μ l/body と同量にあわせた。気管内投与 24 時間後にマウスをエーテル麻酔下で脱血・屠殺し、気管支肺胞洗浄 (BAL) を行った (各群 7~8 匹ずつ、計 31~32 匹)。気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の総細胞数、マクロファージ数、好中球数、好酸球数、単核細胞数をチュルク染色とディフクイック染色で算定した。洗浄後の摘出肺は、-80 $^{\circ}$ C で凍結保存した。後日、摘出肺をリン酸緩衝液でホモジナイズし、超遠心後の上清に含まれる炎症性サイトカイン、IL-1 β 、炎症性ケモカイン、MIP-1 α 、MCP-1、KC の濃度を ELISA で測定した。

(4. 2. 2) 統計解析

得られた生体影響指標データについて、生体影響指標別に、CAPs 曝露群と除粒子対照群間の生体影響指標差に関して、各実験回ごとの解析及び全実験回をプールした解析 (共分散解析) を行い、CAPs 曝露及び細菌毒素曝露と各生体影響指標との関連性について検討した。

(4. 3) 結果

(4. 3. 1) CAPs 曝露濃度

本 CAPs 曝露実験時の CAPs 質量濃度及び主要成分濃度は表 3.4.3-1 に示すとおりである。

本調査での CAPs 曝露濃度は 277~2,602 μ g/ m^3 であり、実験回によって濃度が大きく異なっていた。

(4. 3. 2) CAPs 曝露時の運転状況

本 CAPs 曝露実験時の CAPs 曝露時間等の運転状況は表 3.4.3-2 に示すとおりである。

本調査では 10 時前後より 5 時間連続曝露を基本としているが、平成 16~18 年度は CAPs 曝露システム 2nd ステージインパクトの目詰まり等により、連続曝露が行えなかった。

なお、CAPs 曝露実験時は CAPs 曝露チャンバー及び除粒子対照群チャンバーを設置している動物曝露室は照明を使用している。また、曝露実験にあたって実験動物の明期・暗期のコントロールは行っていない。

(4. 3. 3) 各実験回別結果

1. 平成 15 年 7 月 23 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露に比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球にも増加傾向を誘導した (図 3.4.3-1)。CAPs 曝露は、vehicle の経気道曝露群には有意な変化をきたさなかった。細菌毒素と CAPs 曝露を併用すると、細菌毒素と除粒子対照の曝露に比較し、好酸球数は有意に増加した。好中球数には有意な差は認められなかった。

肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露により増加した (図 3.4.3-2)。CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群に有意な変化をもたらさなかった。しかし、CAPs 曝露は、除粒子対照曝露に比較し、細菌毒素による炎症性ケモカイン (MIP-1 α 、MCP-1、KC) の肺におけるタンパク発現を有意に増加させた。

2. 平成 15 年 7 月 30 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露に比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させた (図 3.4.3-3)。CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群に有意な変化をもたらさなかった。細菌毒素と CAPs 曝露を併用すると、細菌毒素と除粒子対照曝露に比較し、好中球数と好酸球数は有意に増加した。

肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露により増加した (図 3.4.3-4)。CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群に有意な変化をもたらさなかった。CAPs 曝露は、除粒子対照曝露に比較し、細菌毒素による IL-1 β 、MCP-1、KC の発現を増加させる傾向を示した。

3. 平成 16 年 7 月 22 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle 経気道曝露に比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球にも増加傾向を誘導した (図 3.4.3-5)。CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群には有意な変化をきたさなかった。細菌毒素と CAPs 曝露を併用すると、細菌毒素と除粒子対照曝露に比較し、好中球数増加傾向を示した。しかし有意差を得るには至らなかった。一方好酸球数は、CAPs 曝露で除粒子対照曝露と比較して細菌毒素併存下で、有意な増加を認めた。

肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において細菌毒素の経気道曝露により増加した (図 3.4.3-6)。CAPs 曝露は、vehicle の経気道曝露群では変化をもたらさなかった。CAPs 曝露と細菌毒素を併用すると、除粒子対照曝露と細菌毒素の併用に比較し、同タンパク発現レベルにわずかな上昇傾向を認めたが、有意な差はみられなかった。

4. 平成 16 年 8 月 19 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露に比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球にも増加傾向を誘導した (図 3.4.3-7)。CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群には有意な変化をきたさなかった。細菌毒素と CAPs 曝露を併用すると、細菌毒素と除粒子対照曝露に比較し、好中球数増加傾向を示した。しかし、有意差を得るには至らなかった。一方、好酸球数は、CAPs 曝露と除粒子対照曝露を比較すると細菌毒素併存下で有意な増加を認めた。

肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において細菌毒素の経気道曝露により増加した (図 3.4.3-8)。CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群では変化をもたらさなかった。これらのタンパク発現レベルは、CAPs 曝露と細菌毒素の併用と、除粒子対照曝露と細菌毒素の併用とでは差は認めなかった。

5. 平成 17 年 8 月 18 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露に比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球及びマクロファージに関しても増加傾向を示した (図 3.4.3-9)。しかし、好酸球数の増加傾向以外に CAPs 曝露による影響は認められなかった。肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露により有意に上昇した (図 3.4.3-10)。しかし、CAPs 曝露による影響は認められなかった。CAPs 曝露と細菌毒素を併用すると、除粒子対照曝露と細菌毒素の併用に比較し、同タンパク発現レベルにわずかな抑制傾向を示した。

6. 平成 17 年 12 月 26 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露に比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球及びマクロファージに関しても増加傾向を示した (図 3.4.3-11)。しかし、CAPs 曝露による影響は認められなかった。肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において細菌毒素の経気道曝露により、vehicle 群に比較して有意に増加した (図 3.4.3-12)。一方、CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群では変化をもたらさなかった。CAPs 曝露と細菌毒素を併用すると、除粒子対照曝露と細菌毒素の併

用と比較し、同タンパク発現レベルに上昇傾向を認めたが、有意ではなかった。

7. 平成 18 年 5 月 16 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露と比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球及びマクロファージに関しても増加傾向を示した (図 3.4.3-13)。また細菌毒素併存下で、CAPs 曝露により除粒子対照曝露と比較して、これらの細胞数の増加傾向を認めた。特に好中球数においては統計的有意差を認めた。肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において細菌毒素の経気道曝露により、vehicle 群と比較して有意に増加した (図 3.4.3-14)。一方、CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群では変化をもたらさなかった。CAPs 曝露と細菌毒素の併用群と、除粒子対照曝露と細菌毒素の併用群では、同タンパク発現レベルに差は認めなかった。

8. 平成 18 年 8 月 24 日の CAPs 曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズムの解明に関する研究

除粒子対照群及び CAPs 曝露群において、細菌毒素の経気道曝露は、vehicle の経気道曝露と比較し、好中球の BALF 中への浸出を有意に増加させ、好酸球及びマクロファージに関しても増加傾向を示した (図 3.4.3-15)。しかし、CAPs 曝露による影響は認められなかった。肺組織中の IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC は、除粒子対照群及び CAPs 曝露群において細菌毒素の経気道曝露により、vehicle 群と比較して有意に増加した (図 3.4.3-16)。一方、CAPs 曝露は、vehicle 経気道曝露群では変化をもたらさなかった。CAPs 曝露と細菌毒素の併用群と、除粒子対照曝露と細菌毒素の併用群では、IL-1 β と MCP-1 で増加傾向、MIP-1 α と KC で有意な抑制を認めた。

(4. 3. 4) 統計解析結果

主たる結果を以下に示す。

- ①各回の実験をプールして解析した結果、炎症パラメータの中で、気管支肺胞洗浄液中の好酸球数についてのみ CAPs 曝露の有無との関連を認めた。すなわち、CAPs 曝露群は除粒子対照群と比較して、好酸球数が有意に増加していた (図 3.4.3-17 : $P < 0.05$)。
- ②細菌毒素曝露は炎症の各パラメータと有意に関連していたが、細菌毒素曝露と CAPs 曝露の交互作用項と、これらのパラメータとの有意な関連は認めなかった。
- ③4 群比較においては、細菌毒素曝露した 2 群が vehicle 曝露した 2 群と比較して、ほとんどのパラメータで有意な相関がみられた。特に好酸球に関しては、細菌毒素曝露かつ CAPs 曝露群が vehicle 曝露群との有意な関連に加えて、細菌毒素曝露群間で、CAPs 曝露との有意な関連がみられた (図 3.4.3-18)。
- ④さらに、CAPs 濃度が異なる実験毎にそれぞれ解析し、各実験における曝露 CAPs 濃度と、CAPs 曝露群と除粒子対照群の好酸球数の差をプロットしたところ、CAPs 濃度が高い日の実験ほど、除粒子対照群と比較して CAPs 曝露群で好酸球数が増加する可能性が考えられた (図 3.4.3-19)。

(4. 4) 考察

第 1 期の実験研究での諸検討で、抽出後 DEP 粒子が細菌毒素との併存により好中球性炎症と肺胞出血、肺水腫を顕著に増悪すること、このメカニズムには催炎症作用を有する IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC などのタンパクの局所発現の増強が重要と考えられること、PM_{2.5}抽出物や DEP 抽出物も細菌毒素による炎症細胞の浸潤を増強するが、これらの抽出物による増悪効果は抽出後 DEP 粒子と比較すると顕著ではないこと、この増悪効果は炎症性サイトカインやケモカインの発現増強以外のメカニズムを介して発現していること、細菌毒素の受容体である TLRs の発現も抽出後 DEP 粒子と細菌毒素の併用曝露によって最も顕著に増強すること、抽出後 DEP 粒子は細菌毒素の血中移行を増幅することなどを明らかにした。

しかし、これらの検討は気管内投与という経気道曝露手法を用いたものであり、呼吸を介した吸

入曝露手法を用いた微小浮遊粒子状物質の影響評価研究が必須と考えられた。そこで、本研究において、都市沿道における CAPs の吸入曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響を検討してきた。計 8 回の同様実験を施行した結果、細菌毒素に関連する炎症の中で重要である気道への好中球の浸潤に関しては、8 回中 6 回において CAPs 曝露による増悪傾向を認めた。そのうち 2 回において有意な差も確認した。よって、CAPs 曝露は、細菌毒素による肺炎を増悪させることが示唆された。有意差が全体としてつきにくかったことに関しては、細菌毒素の量（濃度）、CAPs の曝露時間及びタイミング等が挙げられるが、いずれにせよ曝露条件によっては同炎症を明らかに増悪することは示された。

興味深いことに、CAPs 曝露は、細菌毒素との併用により有意に気道への好酸球の浸潤をもたらすことが観察された。更には、統計学的にも曝露 CAPs 濃度が高いと好酸球数も増加する可能性が考えられた。ただし、1) これらの好酸球数の絶対数は（好中球等と比較して）とても少ないこと、2) 好酸球浸潤の CAPs 曝露による増悪は、概して好中球浸潤の増悪も伴っていることより、このメカニズムとしては、CAPs 曝露による（細菌毒素との相乗的な）血管内皮の傷害による同細胞の肺への漏出が挙げられる。ただし、好酸球遊走に重要なケモカインである *eotaxin* の肺での発現に両曝露で有意な差が無かったことより、*eotaxin* 以外の遊走因子がこの事象に関与していることも否定できない。

一方、肺局所における炎症性サイトカイン及びケモカイン発現に与える CAPs 曝露の影響は（曝露日によって）まちまちであった。つまり、細菌毒素併存下において除粒子対照曝露と比較して、CAPs 曝露はこれらのタンパク発現を有意に増強したり、増強傾向を引き起こしたり、また時には抑制傾向を引き起こしたりした。これには、CAPs の構成成分の相違が寄与している可能性があると考えられる。すなわち、実験日毎の CAPs 構成成分の種類による、これらのサイトカイン及びケモカインを産生・分泌している細胞・組織への作用の差異がこれらの結果を導き出したと考えられる。また、炎症性サイトカインやケモカイン発現と炎症細胞浸潤の結果の有意差が必ずしも同一でないことは、両者の経時的变化を検討する必要性を示すものかもしれない。

統計解析の結果では、細菌毒素との併存下で、CAPs 曝露と炎症の各パラメータとの間には、気道における好酸球浸潤以外は相関を認めなかった。今回の検討では特に、細菌毒素曝露と CAPs 曝露の相乗効果により、好酸球数が有意に増加することを認めた ($P < 0.05$)。PM 曝露による好酸球性気道炎症のメカニズムとして IL-5 の産生増加を示唆した報告がこれまで散見される [5]。しかし、今回の検討では IL-5、*eotaxin* といった好酸球を遊走・活性化しうるサイトカインの肺での発現と気管支肺胞洗浄液中の好酸球数とは相関がなかった。よって本事象に関しては、他の遊走因子（補体：C3、C5、脂質メディエーター：LTC4）や接着分子（ICAM、VCAM）等の関与が考えられる。また、PM 中に含まれる金属濃度と気道への好酸球浸潤の程度との正の相関を報告した疫学調査 [6] や、真菌に由来するグルカンやある種のキノン化合物が好酸球性炎症を惹起しうることを示した動物実験研究もある [7,8]。これらの要素が今回の実験で用いた CAPs 成分に含有されている可能性は否定できないが、今後の検討課題としたい。

（4. 5）結論

CAPs 曝露は、細菌毒素による気管支肺胞洗浄液中への炎症細胞浸潤を増悪させた。また、曝露日によって、炎症性タンパク（IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC）の肺局所における発現を増強させたが、この結果は気道への炎症細胞浸潤と相関はしていなかった。また、CAPs 曝露と炎症のパラメーターには、気道への好酸球浸潤について（CAPs 曝露により）増強する傾向を認めた以外、相関は認めなかった。以上より、本実験より CAPs 曝露は、時として細菌毒素と協調して肺での炎症・傷害を増悪しうることを示唆された。

引用文献

- 1 Dockery DW, Pope CA3rd, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris BGJr, Speizer FE. An association between air pollution and mortality in six U. S. cities. *N Engl J Med* 1993;329:1753-1759.
- 2 Dubowsky. SD, Suh H, Schwartz J, Coull BA, Gold DR. Diabetes, obesity, and hypertension may enhance associations between air pollution and markers of systemic inflammation. *Environ Health Perspect* 2006;114:992-998.
- 3 Takano H, Yoshikawa T, Ichinose T, Miyabara Y, Imaoka K, Sagai M. Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation and local cytokine expression in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:36-42.
- 4 Yanagisawa R, Takano H, Inoue K, Ichinose T, Sadakane K, Yoshino S, Yamaki K, Yoshikawa T, Hayakawa K. Components of diesel exhaust particles differentially affect Th1/Th2 response in a murine model of allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy* 2006;36:386-395.
- 5 Walters DM, Breyse PN, Wills-Karp M. Ambient urban Baltimore particulate-induced airway hyperresponsiveness and inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1438-443.
- 6 Palmer KT, McNeill Love RM, Poole JR, Coggon D, Frew AJ, Linaker CH, Shute JK. Inflammatory responses to the occupational inhalation of metal fume. *Eur Respir J* 2006;27:366-373.
- 7 Inoue K, Takano H, Oda T, Yanagisawa R, Tamura H, Ohno N, Adachi Y, Ishibashi K, Yoshikawa T. Candida soluble cell wall β -D-glucan induces lung inflammation in mice. (manuscript in submission).
- 8 Hiyoshi K, Takano H, Inoue K, Ichinose T, Yanagisawa R, Tomura S, Cho AK, Froines JR, Kumagai Y. Effects of a single intratracheal administration of phenanthraquinone on murine lung. *J Appl Toxicol* 2005;25:47-51.

表 3.4.3-1 CAPs 曝露条件

年度	月日	PM2.5濃度 μg/m ³	CAPs 粉じん濃度 μg/m ³	濃縮率 倍	NO濃度		NO ₂ 濃度	
					CAPs曝露 チャンバー ppb	外気 ppb	CAPs曝露 チャンバー ppb	外気 ppb
平成15年度	7月23日	74	2602	35	121	134	25	43
	7月30日	58	1279	22	61	58	1	10
平成16年度	7月22日	42	1840	44	13	23	30	47
	8月19日	18	277	15	37	37	3	9
平成17年度	8月18日	27	1149	43	36	32	20	23
	12月26日	12	352	29	65	70	35	38
平成18年度	5月16日	42	2134	51	56	85	37	55
	8月24日	43	1839	43	38	48	18	35

表 3.4.3-2 CAPs 曝露実験時の運転状況

年度	月日	CAPs曝露時間		運転状況
平成15年度	7月26日	10:30~15:30	5:00	連続
	7月30日	10:12~15:02	4:50	連続
平成16年度	7月22日	10:15~15:30	4:03	メンテ1回、一時停止1回
	8月19日	10:00~15:00	5:00	連続
平成17年度	8月18日	9:15~17:07	3:50	メンテ3回、一時停止2回、流量調整2回
	12月26日	10:25~15:25	5:00	連続
平成18年度	5月16日	9:25~16:29	4:13	メンテ4回、一時停止4回、流量調整4回
	8月24日	9:40~15:05	4:00	メンテ2回、一時停止1回、流量調整1回

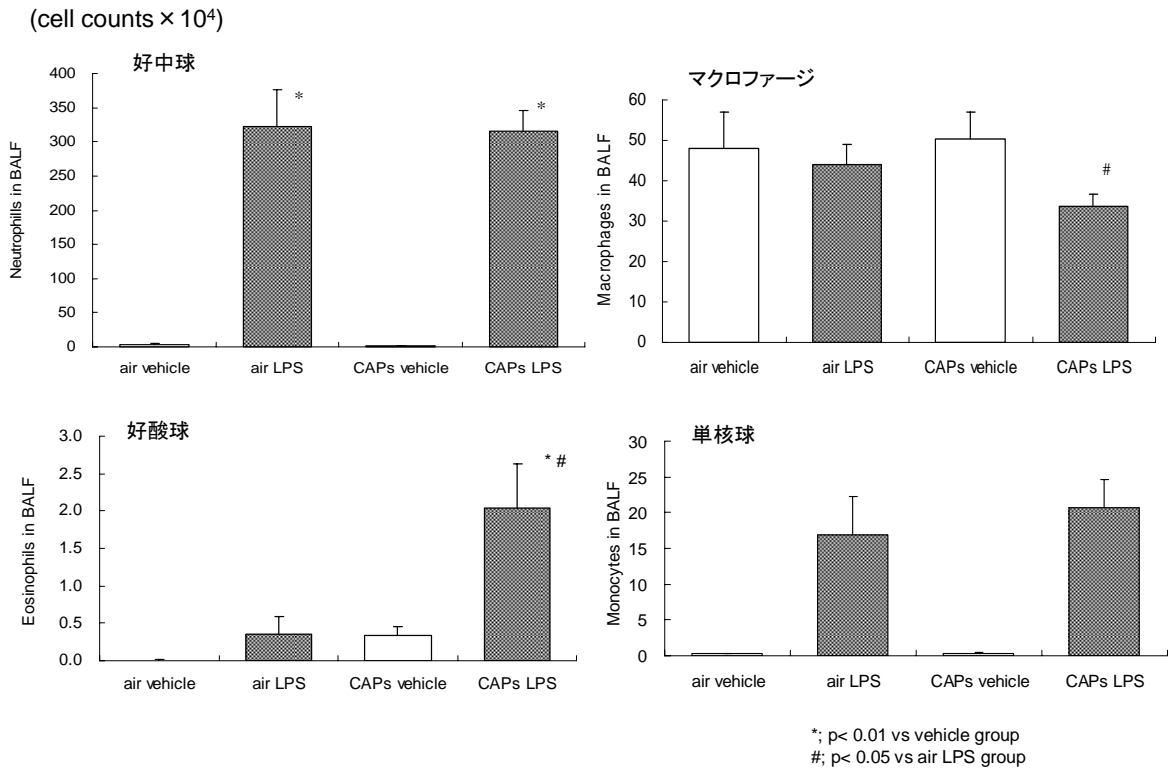


図 3. 4. 3-1 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (030724)

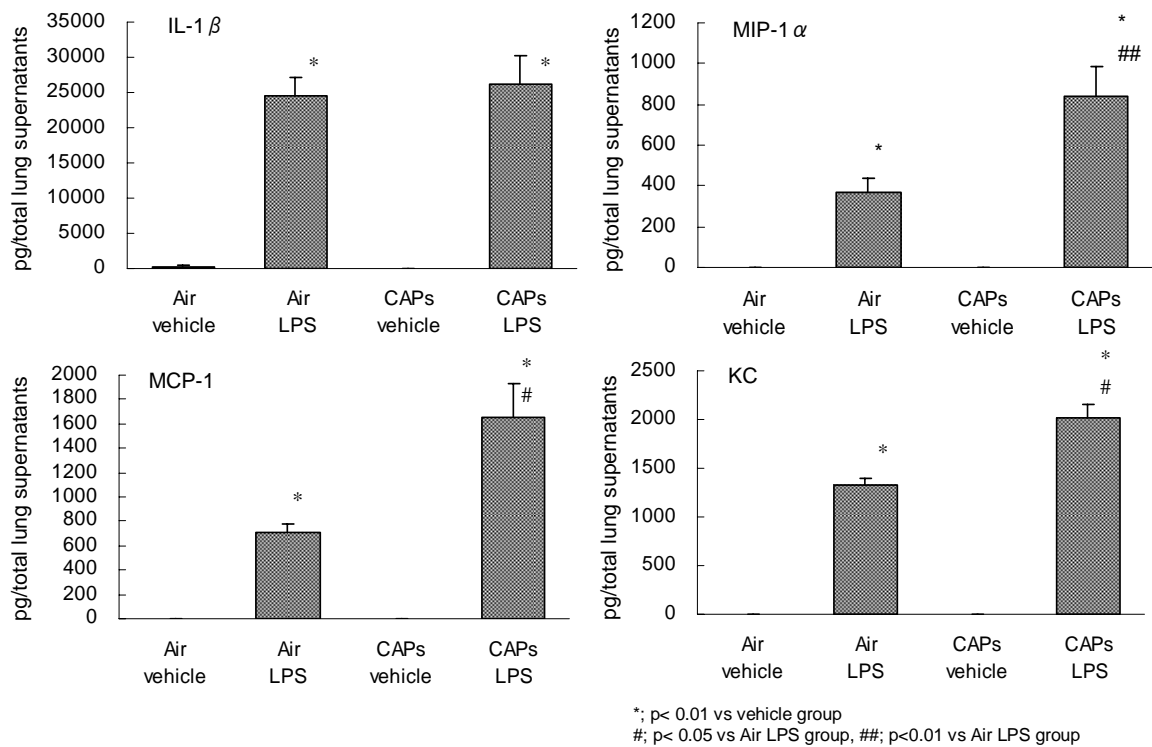


図 3. 4. 3-2 肺組織における炎症性タンパク発現 (030724)

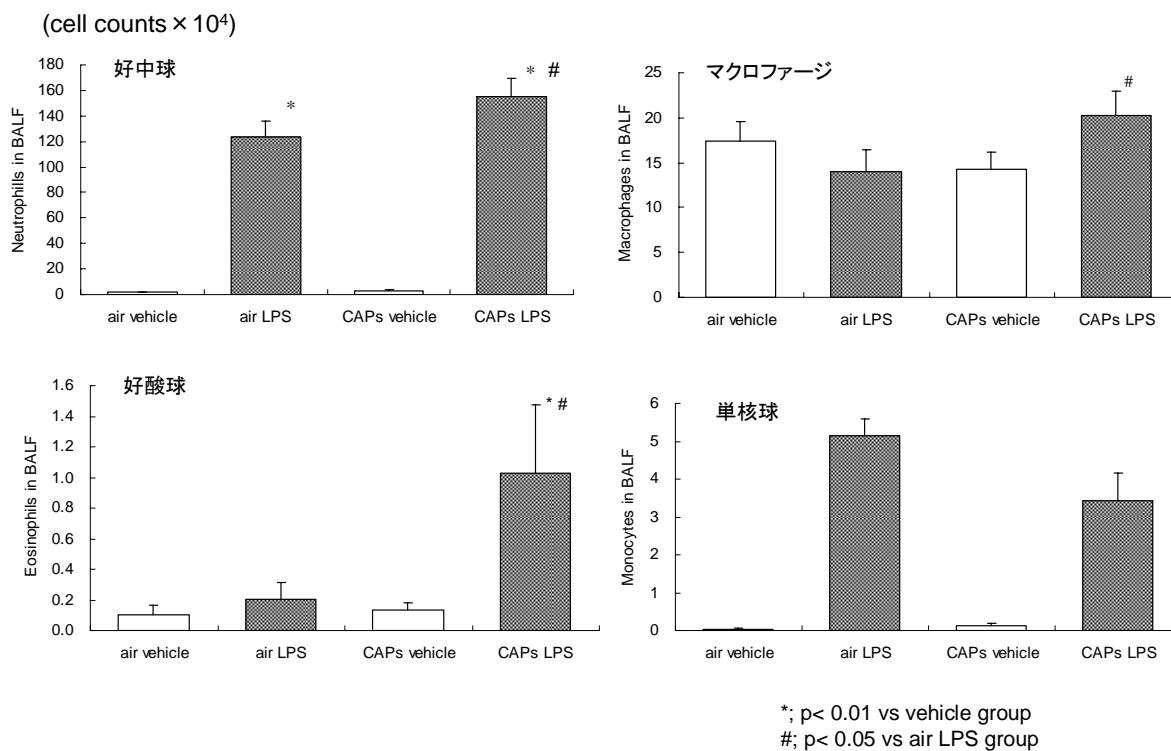


図 3.4.3-3 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (030731)

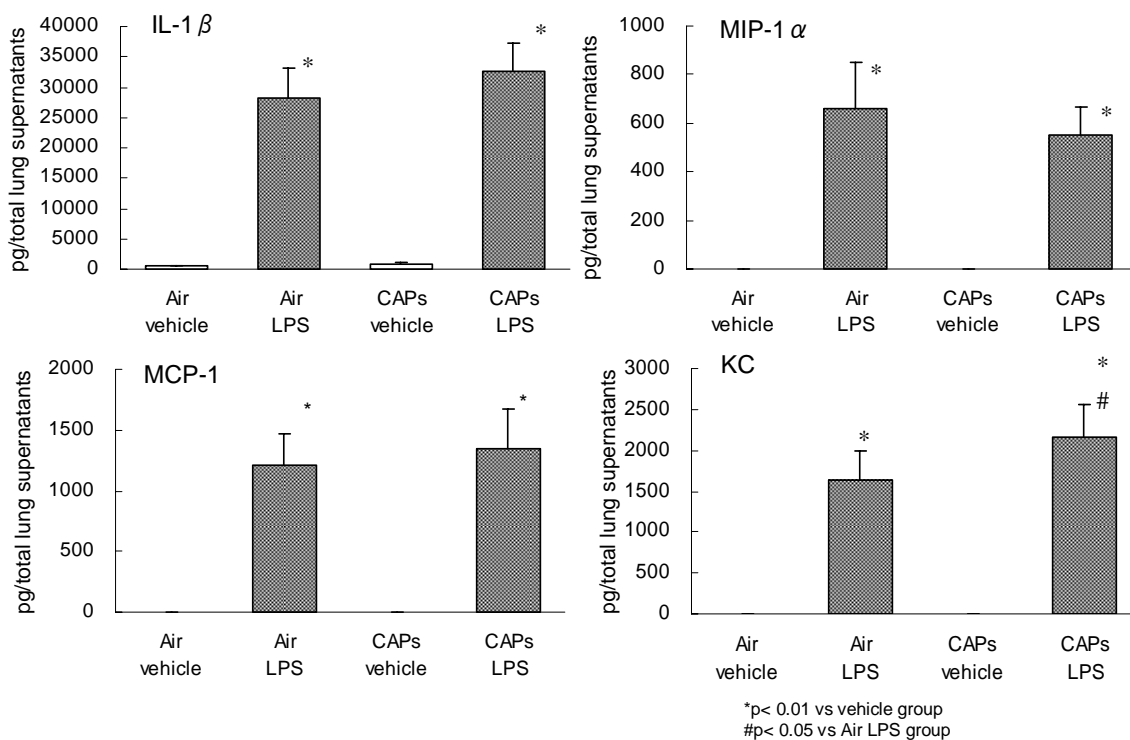


図 3.4.3-4 肺組織における炎症性タンパク発現 (030731)

(cell counts $\times 10^4$)

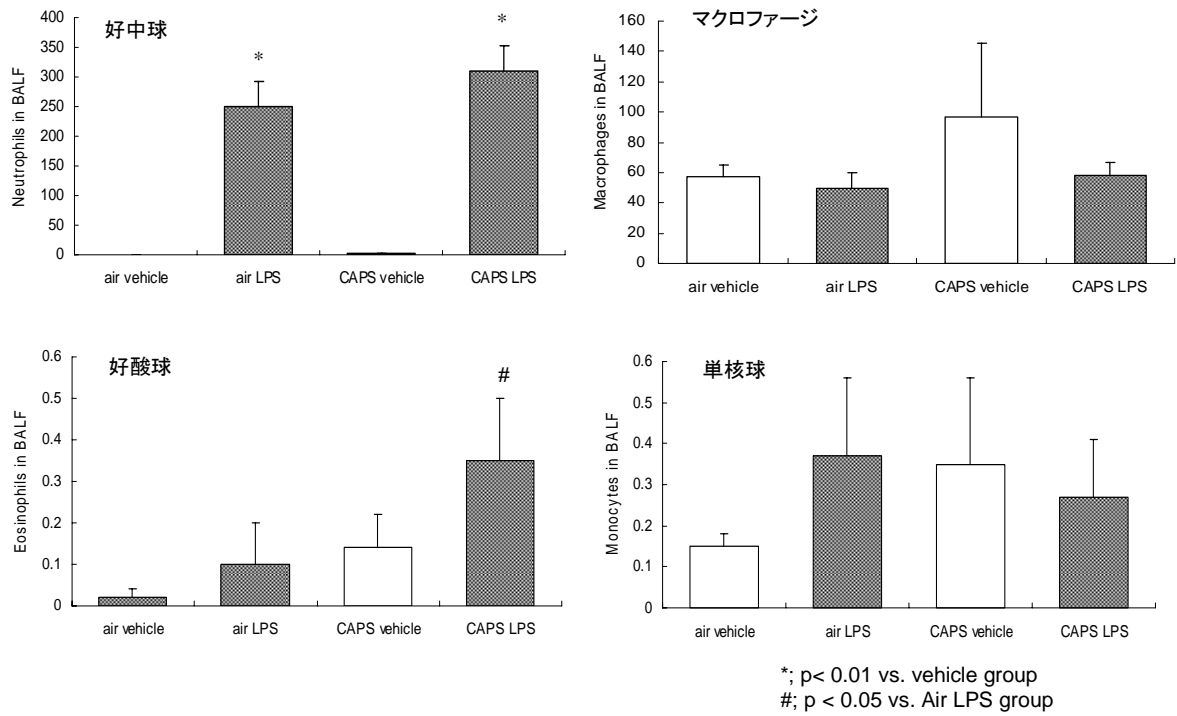


図 3.4.3-5 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (040723)

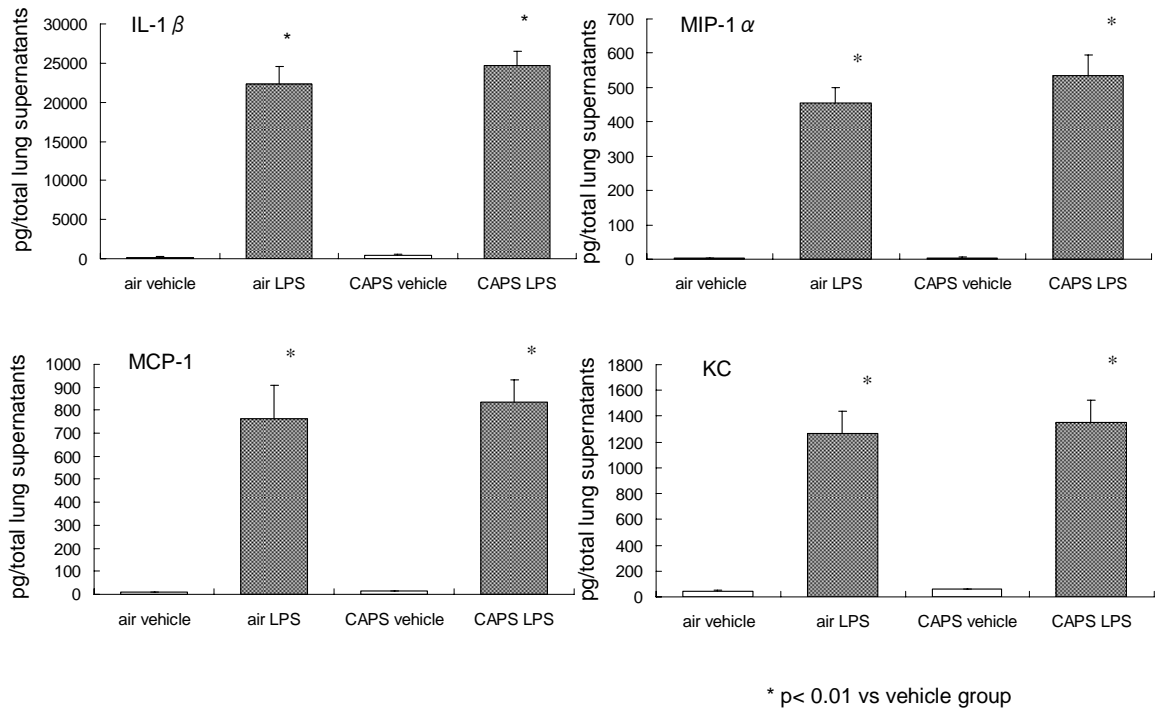


図 3.4.3-6 肺組織における炎症性タンパク発現 (040723)

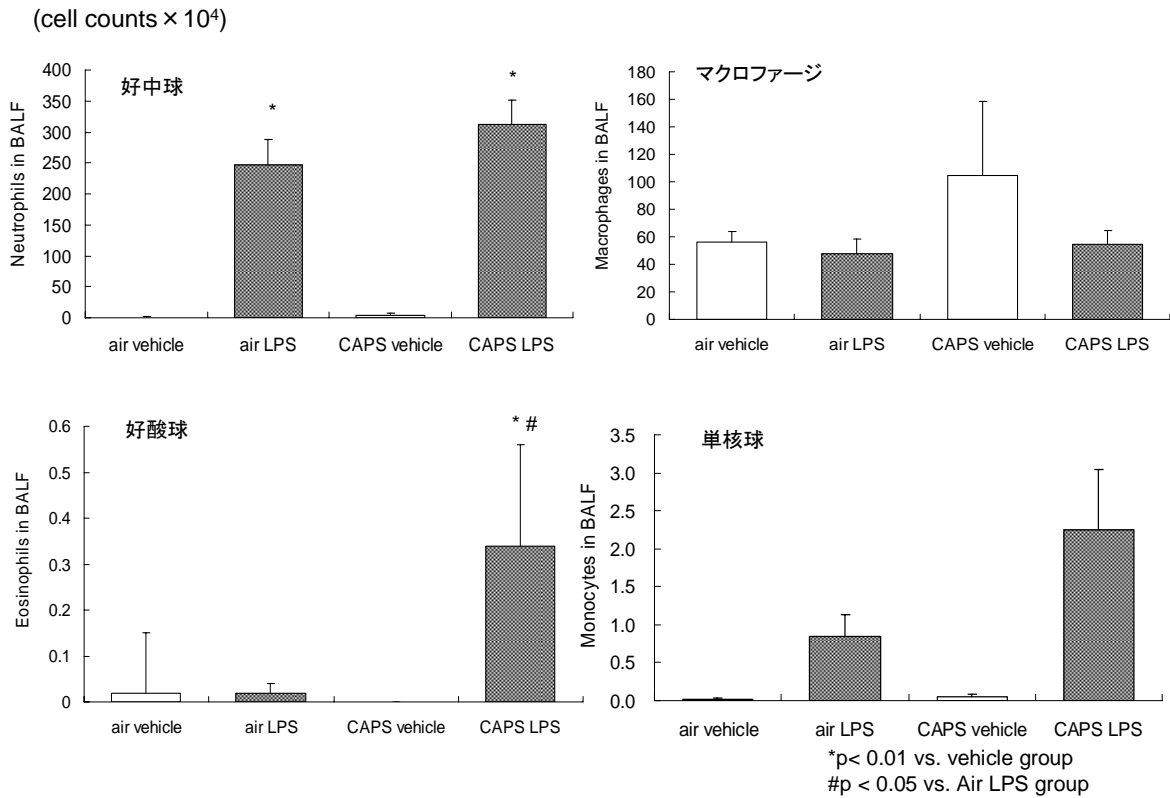


図 3. 4. 3-7 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (040820)

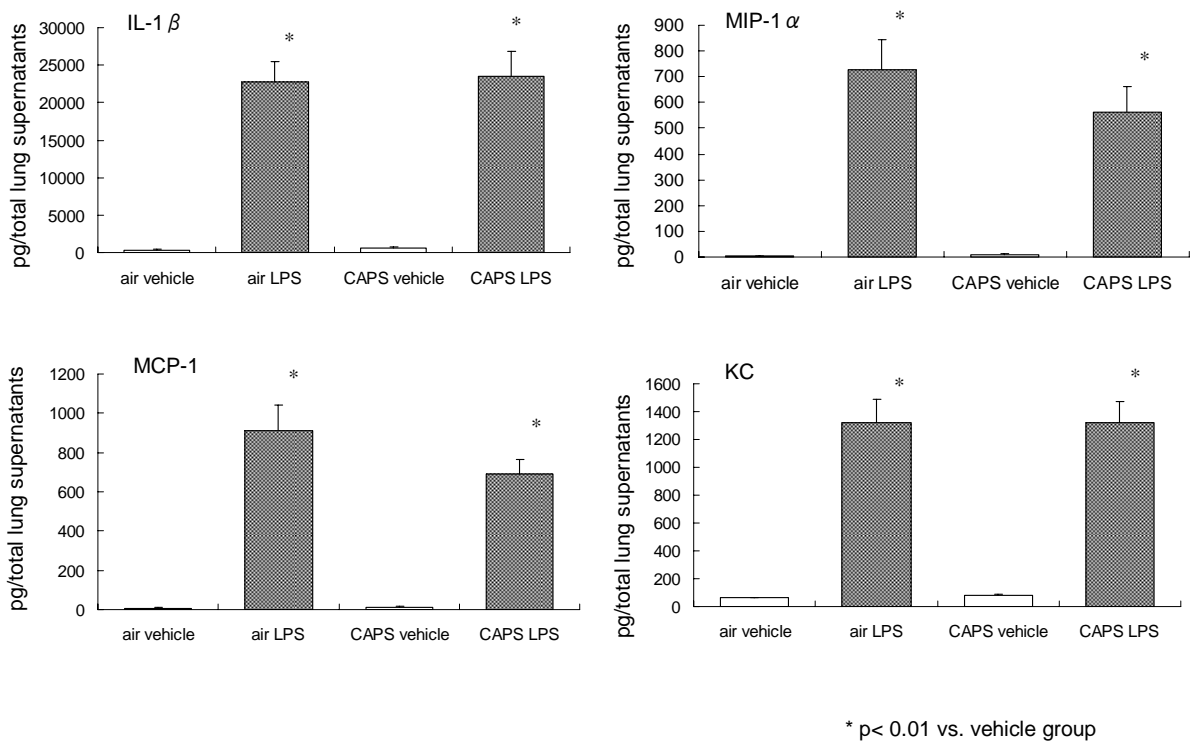


図 3. 4. 3-8 肺組織における炎症性タンパク発現 (040820)

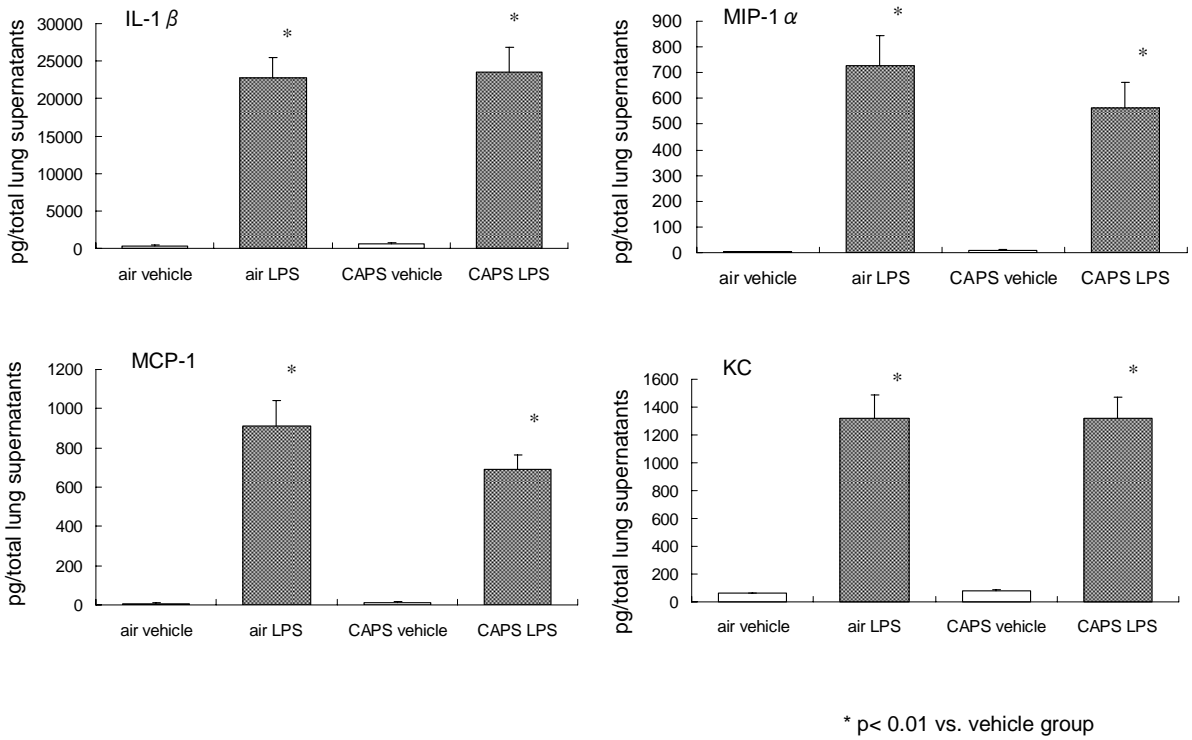


図 3.4.3-9 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (050819)

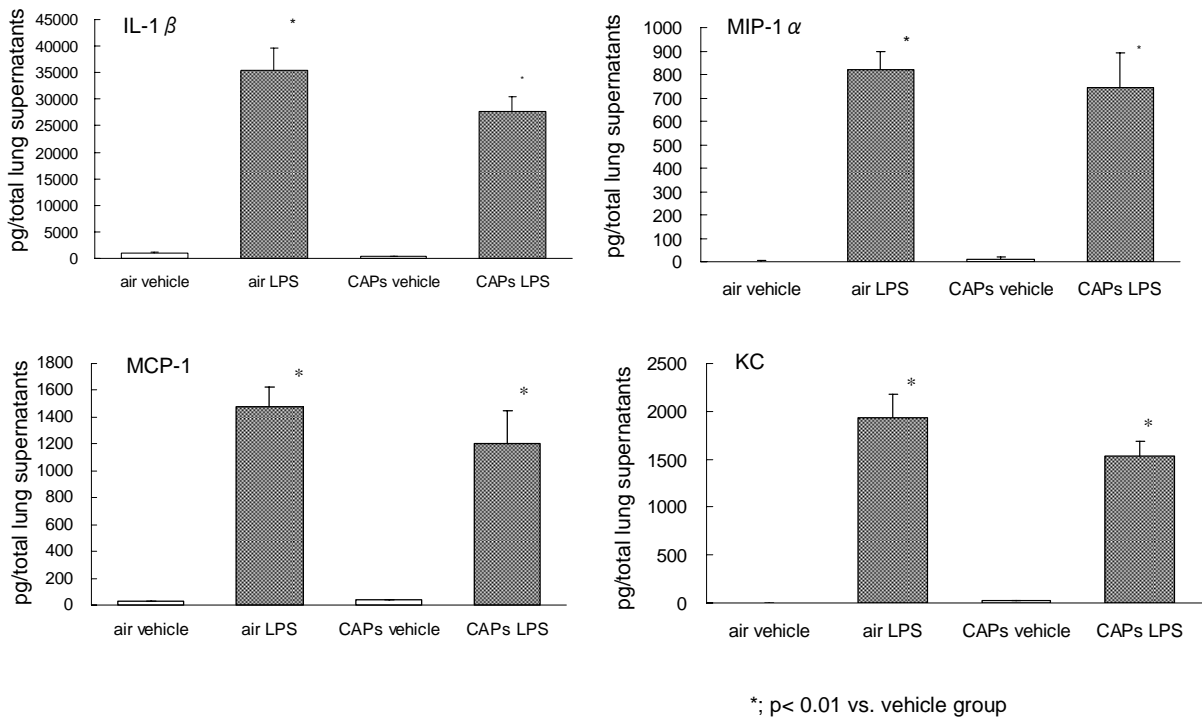


図 3.4.3-10 肺組織における炎症性タンパク発現 (050818)

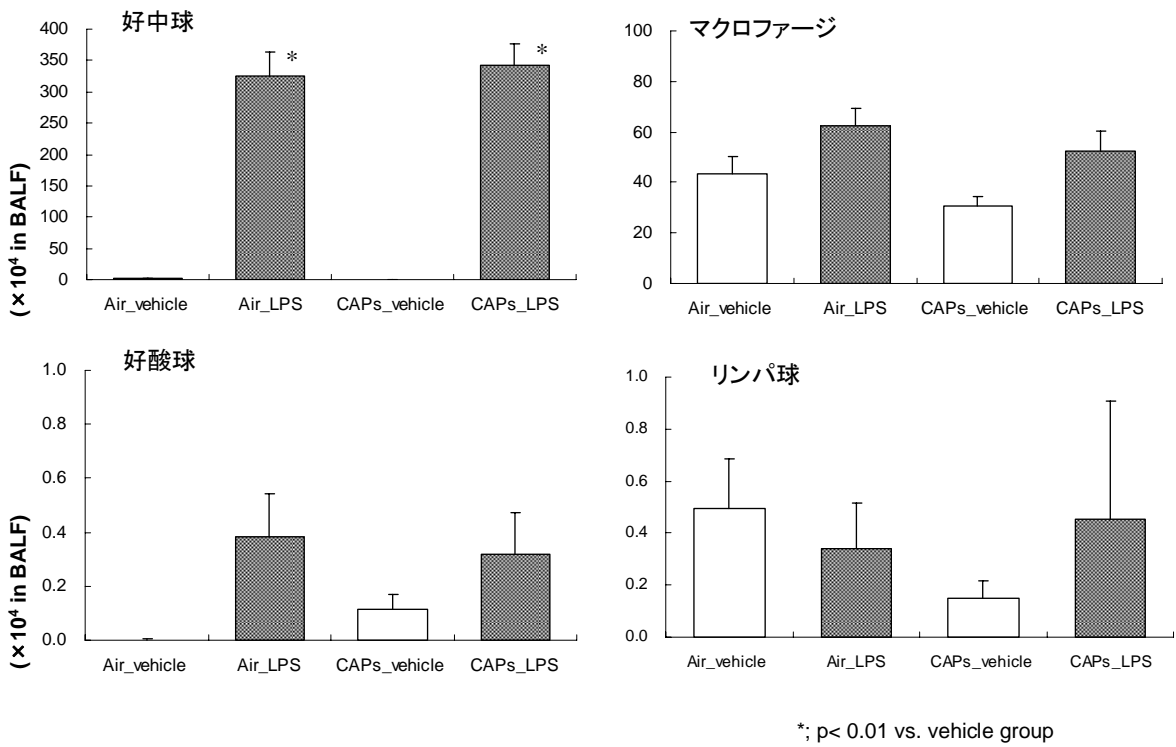


図 3.4.3-11 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (051227)

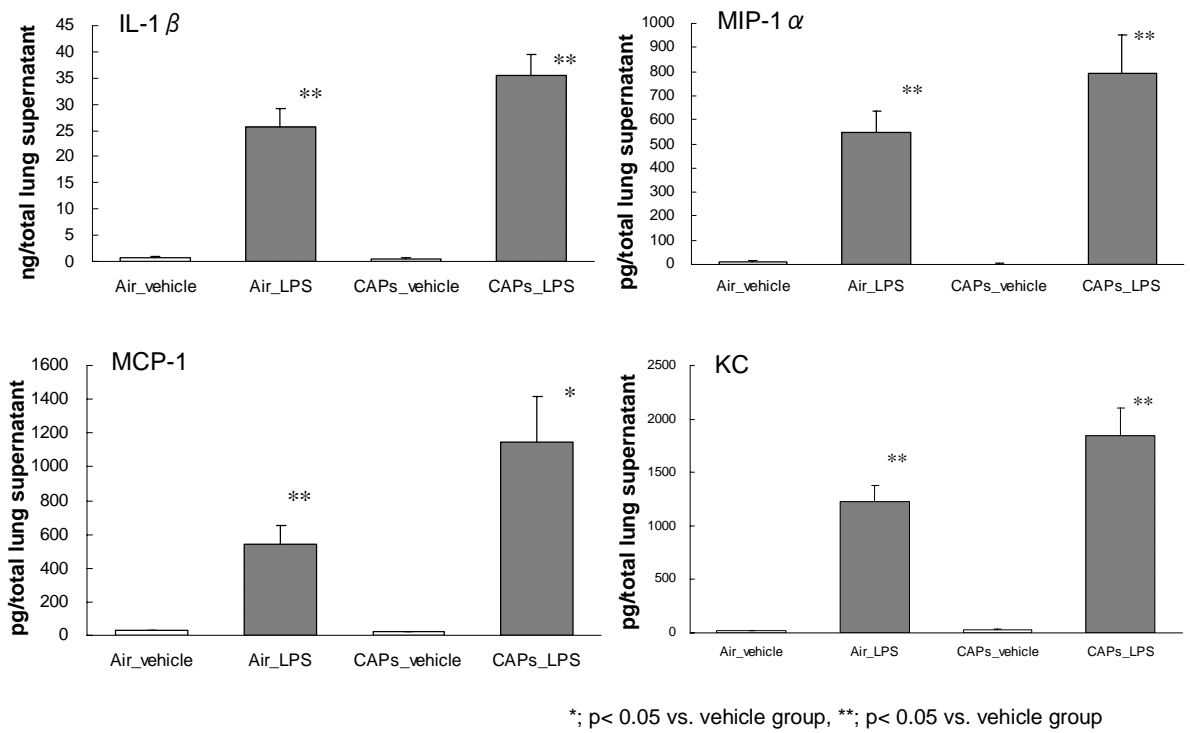


図 3.4.3-12 肺組織における炎症性タンパク発現 (051227)

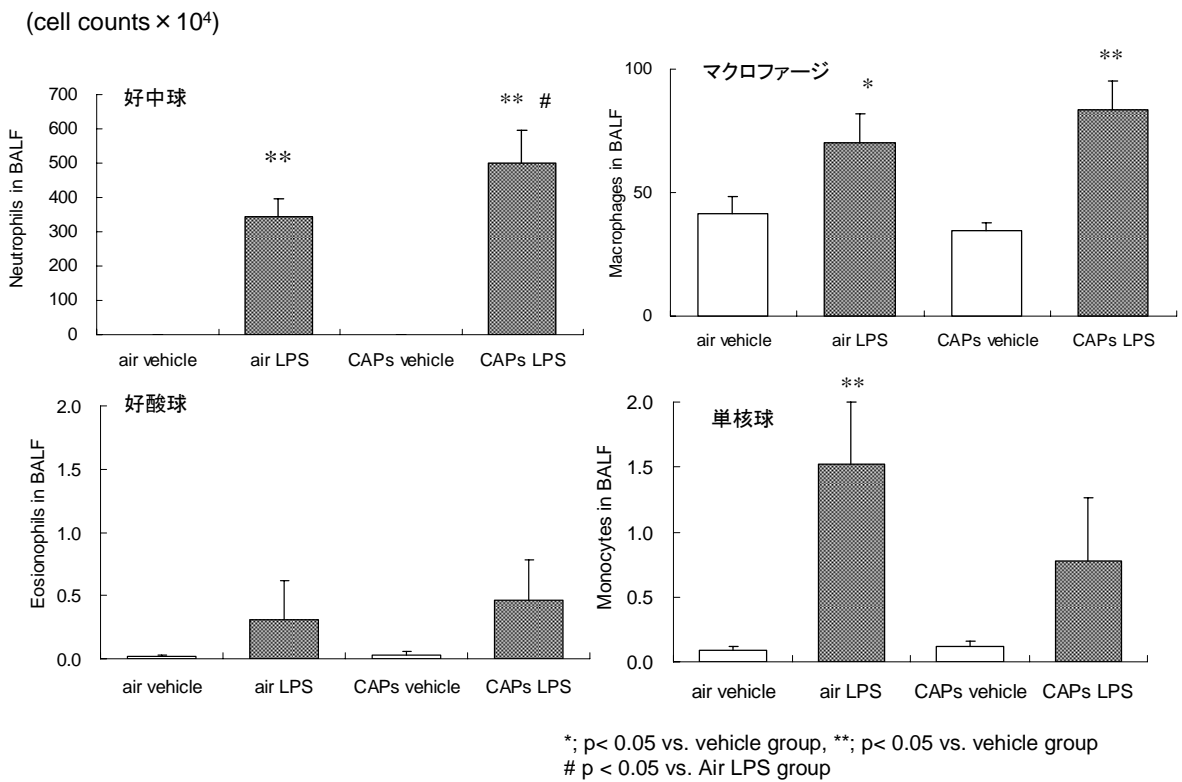


図 3. 4. 3-13 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (060517)

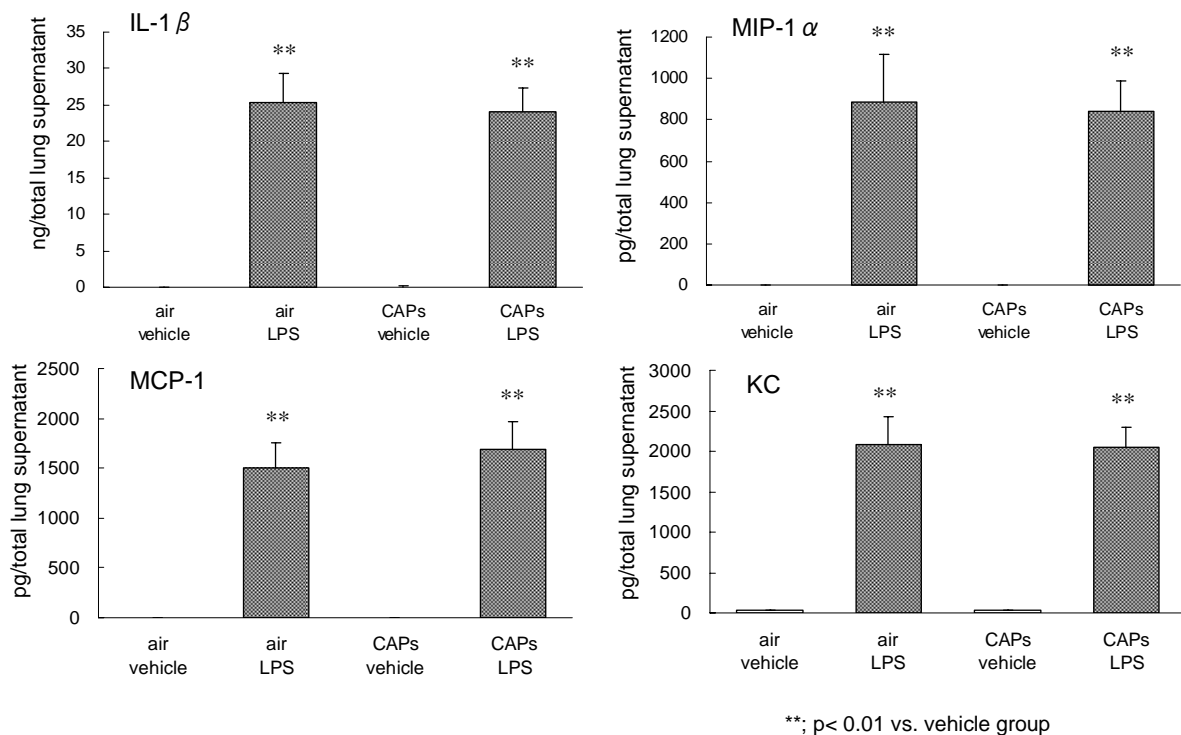
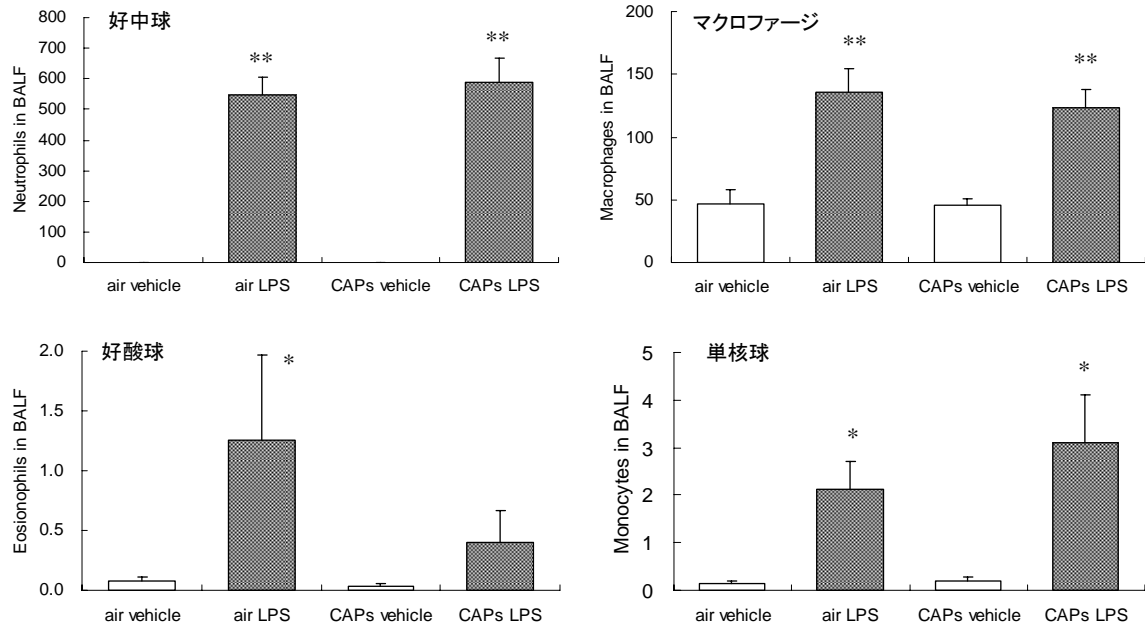


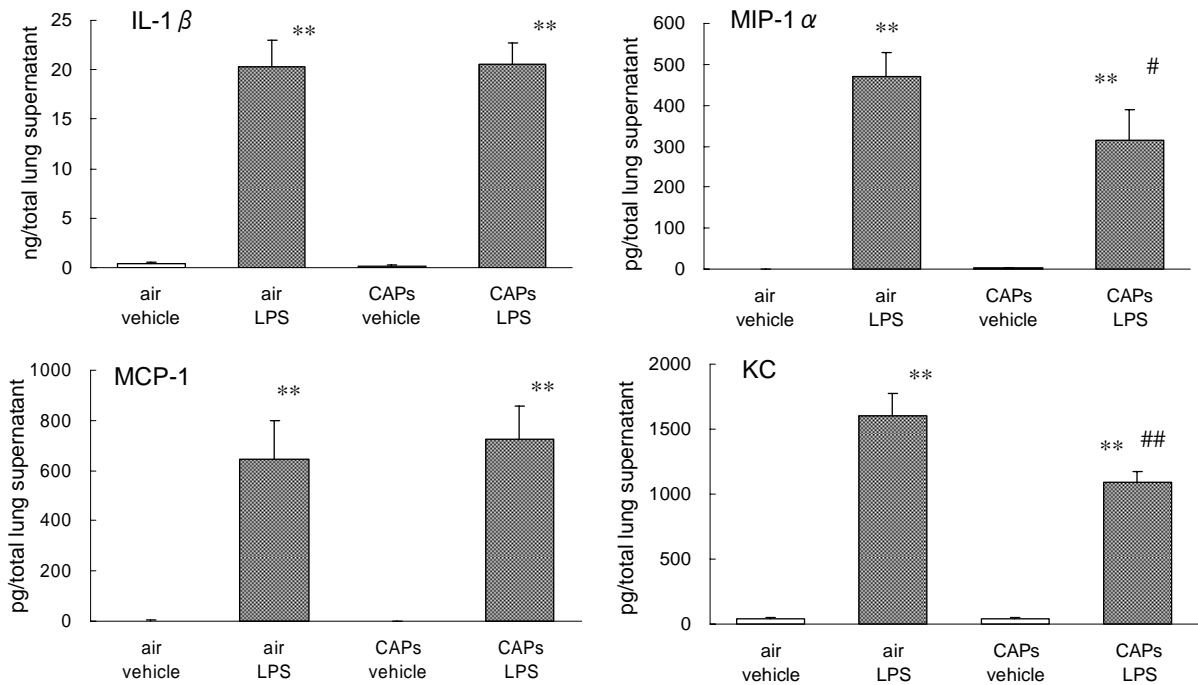
図 3. 4. 3-14 肺組織における炎症性タンパク発現 (060517)

(cell counts × 10⁴)



*; p < 0.05 vs. vehicle group, **; p < 0.05 vs. vehicle group

図 3.4.3-15 気管支肺胞洗浄液中の細胞分画 (060825)



*; p < 0.05 vs. vehicle group, **; p < 0.05 vs. vehicle group
p < 0.01 vs. Air LPS group

図 3.4.3-16 肺組織における炎症性タンパク発現 (060825)

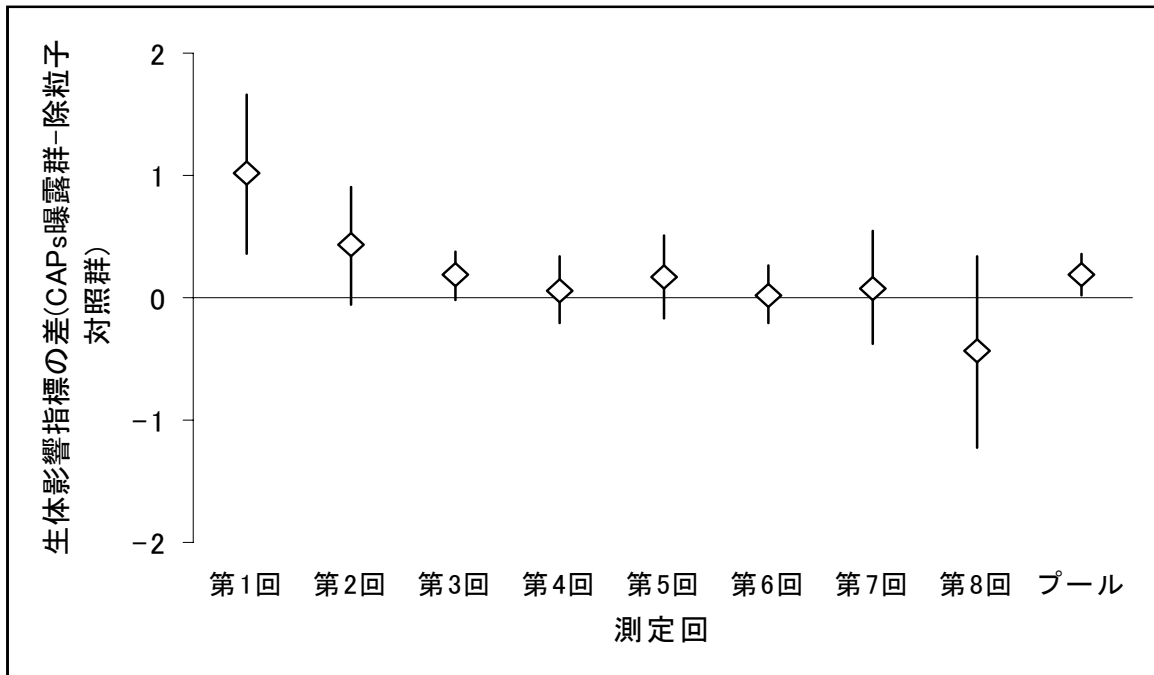
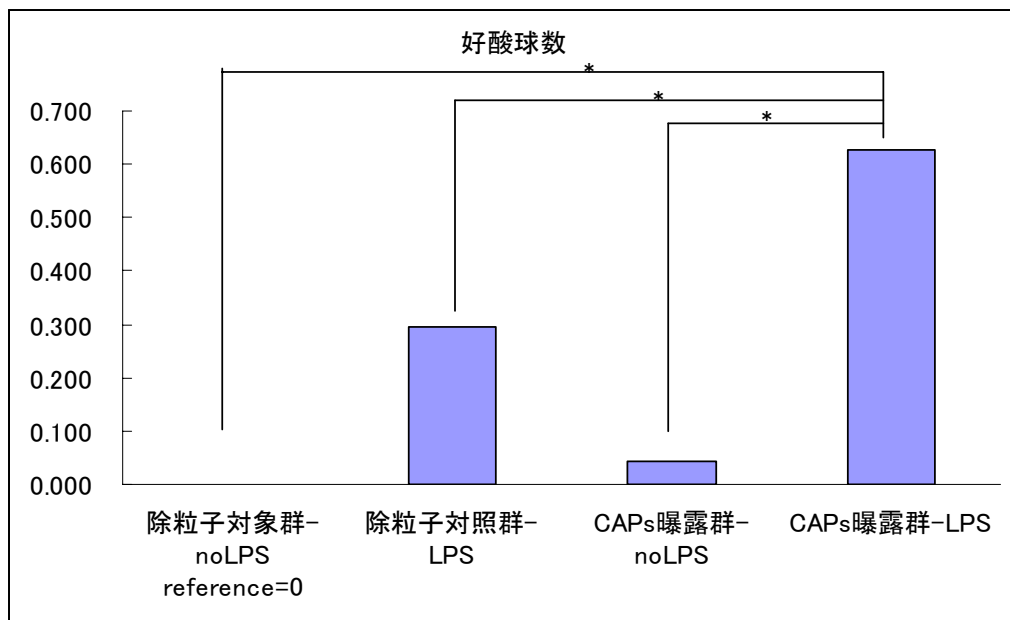


図 3.4.3-17 好酸球数(プール解析 : P=0.0003)



*; p < 0.05

図 3.4.3-18 好酸球数(プール解析の4群比較)

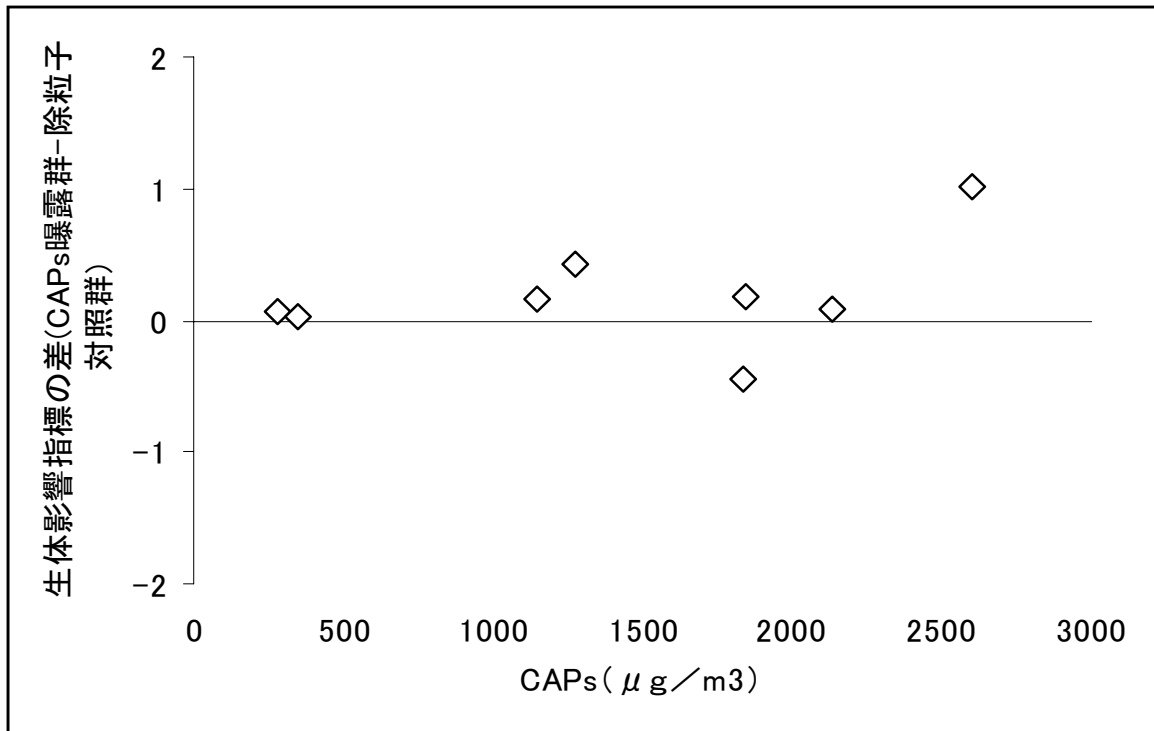


図 3.4.3-19 BAL 中好酸球数における各回の差と CAPs 濃度との関連