

【5-1457】黄砂とPM2.5による複合大気汚染の肺炎、アレルギー疾患増悪作用とメカニズム解明  
(H26~H28)

市瀬 孝道（大分県立看護科学大学）

## 1. 研究開発目的

(1)黄砂・PM2.5粒子と吸着成分の相互作用による肺炎・アレルギー喘息増悪作用とそのメカニズム解明

黄砂とPM2.5粒子の肺炎・アレルギー喘息への影響比較を行うと共に黄砂やPM2.5に吸着した成分のうち、粗大粒子や微小粒子との相互作用によって増悪作用を引き起こす成分を用いて、自然免疫から獲得免疫への一連の影響を調べ、肺炎とアレルギー喘息増悪メカニズムを解明することを目的とする。

1)北九州の煙霧時に採取したPM2.5の肺の炎症と気管支喘息増悪作用の検討

北九州で2011年4月煙霧時に採取したPM2.5の肺の炎症と気管支喘息増悪作用を加熱PM2.5と非加熱PM2.5によって比較し、PM2.5に含まれている成分と増悪作用との関連を明らかにすることを目的とする。

2)都市由来PM2.5と粗大粒子の肺の炎症と気管支喘息増悪作用の比較

中国瀋陽市で採取したPM2.5画分とPM10（粗大粒子）画分の肺の炎症と気管支喘息増悪作用の強さを比較することを目的とする。

3)都市由来PM2.5と黄砂由来PM2.5の肺の炎症と気管支喘息増悪作用の比較

人為由来の都市大気PM2.5と黄砂由来（砂成分）のPM2.5の肺の炎症と気管支喘息増悪作用の強さを比較することを目的とする。

4)都市由来PM2.5の肺の炎症惹起メカニズム解明に関する研究

LPS（グラム陰性菌成分）の阻害剤Polymyxin B（PMB）と抗酸化剤のN-Acetyl-L-cysteine（NAC）を用いて、マウス動物実験とマウスの骨髄細胞培養実験によって中国瀋陽市で採取したPM2.5の炎症惹起メカニズムを微生物成分と酸化的ストレスの面から調べることを目的とする。

5)都市由来PM2.5によるアレルギー増悪作用における酸化的ストレスの関与に関する研究

酸化的ストレスの面から都市大気PM2.5による肺の炎症とアレルギー増悪作用を検討することを目的とする。

6)黄砂及び都市大気粒子状物質の炎症・酸化的ストレス誘導に関わる細胞培養実験

黄砂と中国都市大気粒子状物質（<PM2.5, 粗大粒子, >PM10）を用いて、粒子の大きさの違いや構成成分の違いによる毒性影響とそのメカニズムを炎症や酸化的ストレスの面から細胞培養実験において明らかにすることを目的とする。

7)PM2.5や黄砂による免疫修飾作用機序の解明に関するin vitro研究

種々の粒子状物質や付着成分（微生物成分、タール）をマクロファージ様細胞（RAW264.7）や各種ノックアウトマウス由来の肺胞マクロファージ細胞に曝露して、免疫修飾作用機序を分子生物学手法によって解析することを目的とする。

8)カビ菌体成分β-グルカンと黄砂の気管支喘息増悪作用のモデル研究

黄砂に付着したカビ成分のβ-グルカン（BG）が気管支喘息を増悪させることを想定して、市販のBGと無菌黄砂を用いたモデル実験系にて、黄砂のアレルギー増悪作用を明らかにすることを目的とする。

9)グラム陽性菌体成分ペプチドグリカンと黄砂の気管支喘息増悪作用のモデル研究

黄砂に付着したグラム陽性菌のペプチドグリカン（PGN）が気管支喘息を増悪させることを想定して、市販のPGNと無菌黄砂を用いたモデル実験系にて、黄砂のアレルギー増悪作用を明らかにすることを目的とする。

(2) 黄砂と PM2.5 の肺炎・アレルギー喘息増悪機構における細胞ダメージ関連分子の関与に関する研究

1) 粒子状物質の化学的・物理的性状の解明

本研究では黄砂やPM2.5をサンプリングすると共に、得られた粒子状物質の化学的・物理的性状を明らかにすることを目的とする。

2) 粒子状物質の生体影響評価

粒子状物質に曝露されたマウスを用いた生体影響を、曝露マウスから調製した免疫担当細胞を中心に、細胞レベル・分子レベルで解明していくことを目的としている。

(3) 気道上皮細胞と免疫担当細胞を用いた黄砂と PM2.5 の肺炎・アレルギー増悪因子の探索とその増悪分子機構の解明

黄砂及びPM2.5粒子成分の気道上皮細胞や免疫担当細胞への影響を評価する共に、PM2.5構成成分でもある多環芳香族炭化水素類の1つである、ベンゾ[a]ピレン (BaP) との複合曝露による影響も評価し、黄砂とPM2.5の相互作用や影響を規定する要因の絞り込みと影響発現メカニズムの解明を図るとともに、バイオマーカーの同定や予防対策の確立に役立てる。

(4) 黄砂と PM2.5 のアレルギー性結膜炎の増悪作用とそのメカニズム解明

眼球結膜は大気に触れるため、大気中物質による直接的な影響をうける。本研究は、黄砂やPM2.5などの複合大気汚染物質による眼アレルギーの症状の増悪メカニズムを臨床研究ならびに動物実験により解明することを目標とする。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 黄砂・PM2.5 粒子と吸着成分の相互作用による肺炎・アレルギー喘息増悪作用とそのメカニズム解明

初年度は、個々の粒子の影響を調べるために、北九州で採取したPM2.5と飛来黄砂、中国瀋陽市で採取したサイズの異なる粒子 (<PM2.5, PM10, >PM10) を試料として、粒子サイズや構成成分の違いによる肺の炎症やアレルギー炎症増悪作用の違いとその誘因を、TLRシグナル伝達系の遺伝子欠損マウス等を用いて調べた。サイズが大きい粒子の方が微小粒子より影響が強く、その主な誘因は微生物成分 (LPS, BG, PGN) であることを明らかにした。化学成分を含むPM2.5は抗酸化剤のNACで肺の炎症やアレルギー炎症が抑制されることから、増悪要因に酸化ストレスの関与を見出した。現在、標準北京降下煤塵からPM2.5を精製しており、サブテーマごとにこの標準PM2.5による影響を調べる予定。

(2) 黄砂と PM2.5 の肺炎・アレルギー喘息増悪機構における細胞ダメージ関連分子の関与に関する研究

本課題で使用する黄砂とPM2.5の採取と物理学的性状と成分分析を実施した。また、クルードな黄砂・PM2.5曝露マウスのリンパ組織 (脾細胞) における液性因子・細胞ダメージ関連分子などの性質を解析した。PM2.5は免疫活性化機構を抑制し、また酸化ストレス関連分子HO-1の発現増加から、抑制機序に酸化ストレスの関与を明らかにした。今後、PM2.5に加え、黄砂や北京標準PM2.5を用いて細胞培養実験と動物投与実験を通して、酸化ストレス関連細胞ダメージイベントを中心に解析する。

(3) 気道上皮細胞と免疫担当細胞を用いた黄砂と PM2.5 の肺炎・アレルギー増悪因子の探索とその増悪分子機構の解明

本サブテーマでは黄砂及びPM2.5の粒径や成分の相違による健康影響の違いを、気道上皮細胞、脾細胞と抗原提示細胞を用いて、粒子に含まれる化学成分に注目して研究を進めている。初年度はベンゾ[a]ピレン (BaP) と黄砂もしくはPM2.5(ディーゼル粒子)の複合曝露を行い、液性因子発現、表面マーカー発現、細胞活性と細胞増殖能を評価した。BaPと粒子の複合曝露による気道上皮細胞への影響は殆どなく、脾細胞では細胞活性や細胞増殖を抑制し、抗原提示細胞では促進することを明らかに

した。現在、粒子と 1, 2-ナフトキノンなどの化学物質との複合曝露の影響を調べている。今後、北京標準 PM2.5 と化学物質との複合影響を酸化ストレスの面から調べる予定である。

#### (4) 黄砂と PM2.5 のアレルギー性結膜炎の増悪作用とそのメカニズム解明

初年度はスギ花粉によるマウスアレルギー性結膜炎モデルを用いて、黄砂・PM2.5 のアレルギー性結膜炎の増悪作用を調べた。スギ抗原と黄砂・PM2.5 の複合曝露は結膜浮腫と充血が持続し、角膜上皮びらんを起こしてアレルギー性結膜炎を悪化させることを明らかにした。現在はヒト結膜上皮細胞を培養し、培養液中にスギ花粉抽出液、黄砂、PM2.5 を添加して、培養結膜細胞に対する大気中粒子のアレルギー性結膜炎増悪作用を調べている。今後、北京標準 PM2.5 の影響も調べる予定である。

### 3. 環境政策への貢献（研究代表者による記述）

(1) 黄砂・PM2.5 粒子と吸着成分の相互作用による肺炎・アレルギー喘息増悪作用とそのメカニズム解明

- ①日本へ飛来が予測される中国都市大気の粒子状物質について、粒径の違い（<PM2.5、PM10、>PM10）による影響を同一重量にて比較した結果、肺の炎症や抗原に関わるアレルギー炎症への影響は、粒子サイズが大きいほど影響が強く、影響は付着微生物分量に依存していることを提示した。また、黄砂由来の PM2.5 は都市由来 PM2.5 より影響が強いことを提示した。
- ②PM2.5 の増悪要因は主に付着微生物成分の LPS と考えられた。しかし、抗酸化剤の NAC によって炎症やアレルギー炎症増悪作用が抑制されることから、その増悪に酸化ストレスが関わっている可能性を提示した。
- ③これらの研究成果を多くの科学雑誌に公表することで、粒子状物質の健康影響に関する国際的共通理解を形成したい。今後、多くの成果を公表し粒子状物質の危険性を警鐘して、国際的な PM2.5 や黄砂発生の低減策の取組みに繋げたい。本研究の成果は国内や国際的な PM2.5 や黄砂問題を解決するための環境政策上の基礎資料として役立てることができると考える。

(2) 黄砂と PM2.5 の肺炎・アレルギー喘息増悪機構における細胞ダメージ関連分子の関与に関する研究

- ①微小粒子（PM2.5）よりも粗大粒子（PM10）の方が炎症やアレルギー炎症を増悪する微生物成分が多く含まれていることを提示した。
- ②上記で記した分子を標的とし、末梢血での影響などを更に調べることで、ヒトでの健康影響評価などへ、応用することも今後可能となると考えられた。

(3) 気道上皮細胞と免疫担当細胞を用いた黄砂と PM2.5 の肺炎・アレルギー増悪因子の探索とその増悪分子機構の解明

疫学調査の結果に細胞・分子レベルでの生物学的妥当性を付与した。また、健康影響決定要因を絞り込むことにより、今後の予防対策の確立等に役立てる。さらに、国内や国際的な黄砂及び PM2.5 問題を解決するための政策上の基礎資料としても役立つと考える。

(4) 黄砂と PM2.5 のアレルギー性結膜炎の増悪作用とそのメカニズム解明

黄砂の直接的刺激に対しては、黄砂の回避治療が有効となり、間接的な黄砂中の微生物によるアレルギー反応には抗アレルギー治療が有効となりうることを提言することが可能となる。

### 4. 委員の指摘及び提言概要

黄砂や PM10 に付着している微生物由来の LPS やグルカンが肺炎や喘息などを増悪させる要因であるとの発見は重要であり、個々の研究は進展していると思われる。しかしながら、全体として黄砂、PM10（中国・日本）、PM2.5 のヒトへの健康影響評価における位置づけが示されていないため、黄砂と

PM2.5 の影響を評価するモデル（構造）が今一つ明快でなく、全体像が見え辛い。成果を環境政策にどう生かしているのかが不明である。

## 5. 評点

総合評点： A