

## (4) ディーゼル排気中粒子状物質曝露がアレルギー性鼻炎に及ぼす影響の解析

小林隆弘(国立環境研究所 環境健康研究領域), 青柳 元(東邦大学理学部), 飯嶋麻里子(筑波大学医学系)

### 要旨

これまでに開発した、ディーゼル排気からガス状成分を除去する装置を用い鼻部曝露装置に接続し1mg/m<sup>3</sup>濃度のディーゼル粒子を含むディーゼル排気から9割程度のガス状成分を除去したディーゼル粒子(1mg/m<sup>3</sup>濃度)をモルモットに3時間/日(5日/週)曝露し抗原(卵白アルブミン)の点鼻投与(1回/週)により惹起される花粉症用病態におよぼす影響についてくしゃみ回数および鼻汁漏出量を指標に検討した。1mg/m<sup>3</sup>の濃度においてもディーゼル排気中の粒子状成分の花粉症様病態を増悪させる作用は観察されなかった。その要因として曝露時間がこれまでディーゼル排気やディーゼル排気中のガス状成分の12時間曝露に比し、粒子状成分の鼻部曝露ということから拘束された円筒内で行うという制約から3時間曝露という曝露時間が4分の1に減少したことが影響が観察されなかった要因と考えられる。

### 目的

モルモットにディーゼル排気を曝露しながら抗原を投与すると、花粉症様病態が起きやすくなること、花粉症様病態が増悪すること、ディーゼル排気の曝露濃度に依存して症状の増悪すること、ディーゼル排気中のガス状成分のみの曝露実験においても弱い花粉症様病態を増悪することを見いだしてきた。そこで、ディーゼル粒子を曝露しアレルギー様症状への影響検討するため、ディーゼル排気からガス状成分を除去する装置を開発し、ディーゼル排気中粒子状物質曝露がアレルギー性鼻炎に及ぼす影響の解析を行うことを目的とした。昨年度までにディーゼル排気からガス状成分を除去する装置を開発した。粒子濃度があまり高くないことから鼻部曝露装置に接続し1mg/m<sup>3</sup>濃度のディーゼル粒子を含むディーゼル排気から9割程度のガス状成分を除去したディーゼル粒子の曝露を行うことに成功した。そこで、本装置を用い1mg/m<sup>3</sup>濃度のディーゼル粒子をモルモットに曝露し抗原(卵白アルブミン)の点鼻投与により惹起される花粉症用病態におよぼす影響について検討することを目的とした。

### 方法

#### 1 実験計画

実験計画を Fig.1 に示した .4 週齢で導入したモルモットを1週間馴化期間を置き5週齢とした。週5日、一日3時間それぞれの曝露群によって、DEP もしくは清浄空気を曝露した。抗原として OVA+生理食塩水(Saline) もしくは生理食塩水(Saline)のみを両側鼻腔内に各40µl/kg 注入し, 20分以内に誘発される

くしゃみ回数と鼻汁分泌量を測定した。

## 2 曝露方法

国立環境研究所の鼻部曝露実験装置を用いて曝露を行った。曝露装置の詳細は本報告(1)のディーゼル排気中粒子状物質曝露装置の性能に関する調査に記した。チャンパー内の主な大気汚染物質の濃度および温湿度はTable 1の通りであった。DEP濃度が0.92mg/m<sup>3</sup>のとき1.15ppmのNO<sub>2</sub>,および6.7ppmのNO濃度であると考えられるが実測ではそれぞれ0.12ppmおよび0.50ppmとなっておりディーゼル排気中のガス状成分はほとんどが除去されていると考えられる。

## 3 点鼻投与

針の付いていない1mlシリンジ(SS-01T,テルモ株式会社,東京)を用い,仰向けに固定したモルモットの両側鼻腔内に投与した。抗原として1%卵白アルブミン-滅菌生理食塩水溶液を両側鼻腔に各40μl/kgずつ投与した。また,物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性について検討するため,滅菌生理食塩水のみを,同様に投与した。点鼻投与は暴露前に1度行い,その後1週間ごとに1回,計6回行った。

## 4 くしゃみ回数の測定

抗原投与後,20分間において誘発されるくしゃみ回数を測定した。

くしゃみ回数は,首かせ式保定器によってモルモットを保定し,無麻酔下で,呼吸流速の急激な増加,肺内容量の減少,およびくしゃみの際の音声と肉眼的観察によって測定した。呼吸流速はニューモタコグラフ(no.3,Fleish,Instruments,Lausanne,Switzerland)を用いて,アンプ(carrier demodulator,model CD72,Validyne,Northridge,CA)を接続した差圧トランスデューサー(model MP4514,Validyne,Northridge,CA)でニューモタコグラフ前後の差圧を測定することにより求めた。肺内容量の変化は首以下の体部の体積変化を,箱内圧を差圧トランスデューサーで測定し,指標とした。また,くしゃみの音声はモルモットの口の前に小型マイクロフォン(RP3102,日本光電工業株式会社,東京)を置き,スピーカー(RX-D12,松下電器産業株式会社,大阪府)により拡声することにより確認した。

## 5 鼻汁量の測定

抗原投与後,20分間に鼻孔外に放出された鼻汁量を,あらかじめ重量を量ったおいたキムワイプに吸収させ重量の増加を測定し,鼻汁分泌の指標とした。

## 6 統計学的検討

値は平均値±標準誤差で示した。OVA抗原投与群においてDEP曝露個体とAir曝露個体との有意差比較検討はStudentのt検定を用いて行ったp<0.1 p<0.05をそれぞれ傾向および有意差があったとした。

## 結果

### 1 DEP 曝露下での抗原投与がくしゃみ回数、鼻汁分泌量に及ぼす影響

DEP 曝露下での抗原投与が、くしゃみ回数、鼻汁分泌量に及ぼす影響をそれぞれ Fig.2、4 に示した。清浄空気曝露群と比較して、DEP 曝露群は、くしゃみ回数、鼻汁分泌量ともに有意な増加は見られなかった。

### 2 DEP 曝露下での生理食塩水投与がくしゃみ回数、鼻汁分泌量に及ぼす影響

DEP 曝露下での抗原投与が、くしゃみ回数、鼻汁分泌量に及ぼす影響をそれぞれ Fig.3、5 に示した。清浄空気曝露群と比較して、DEP 曝露群は、くしゃみ回数、鼻汁分泌量ともに有意な増加は見られなかった。

## 考察

これまでのディーゼル排気曝露では、排気全体では  $0.3\text{mg}/\text{m}^3$  から花粉症様病態を有意に増悪させる影響が観察され、 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$  では2度の実験で1度はくしゃみ回数を有意に増加させる影響が観察されたが、2度目の実験ではくしゃみ回数を有意に増加させる影響は見いだされなく、比較的鋭敏な好酸球の浸潤や他の指標にも有意な差が見いだされなかったことより、 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$  では花粉症様病態を有意に増悪させるとは判断され難いことが示唆された。また、ディーゼル排気中のガス状成分の曝露においては  $0.3\text{mg}/\text{m}^3$  では花粉症様病態を有意に増悪させることはなかった。これらのことからディーゼル排気中の粒子状成分の関与する可能性が示唆された。今回の曝露実験ではディーゼル排気やディーゼル排気中のガス状成分の曝露において花粉症様病態を増悪させる作用を有する  $1\text{mg}/\text{m}^3$  の濃度においてもディーゼル排気中の粒子状成分の花粉症様病態を増悪させる作用は観察されなかった。その要因として曝露時間がこれまでディーゼル排気やディーゼル排気中のガス状成分の12時間曝露に比し、粒子状成分の鼻部曝露ということから拘束された円筒内で行うという制約から3時間曝露という曝露時間が4分の1に減少したことが影響が観察されなかった要因と考えられる。このため、粒子状成分をどのような形で曝露しこれまでの結果と比較するかについては今後の課題として残るものと考えられる。

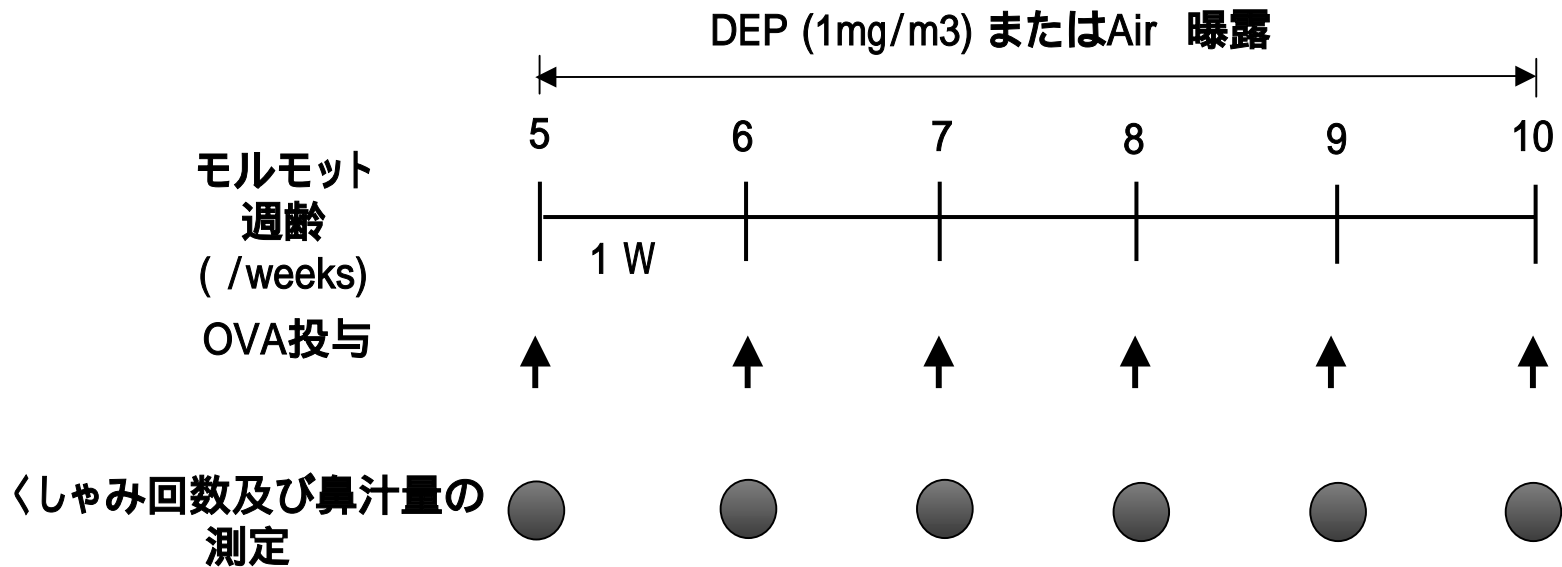


Fig.1 DEP曝露が抗原点鼻投与による花粉症様病態に及ぼす影響研究のプロトコル

	温度	湿度 %	NO <sub>2</sub> ppm	NO ppm	DEP濃度 mg/m3
平均值	23.0	46.9	0.12	0.50	0.92

**Table.1**

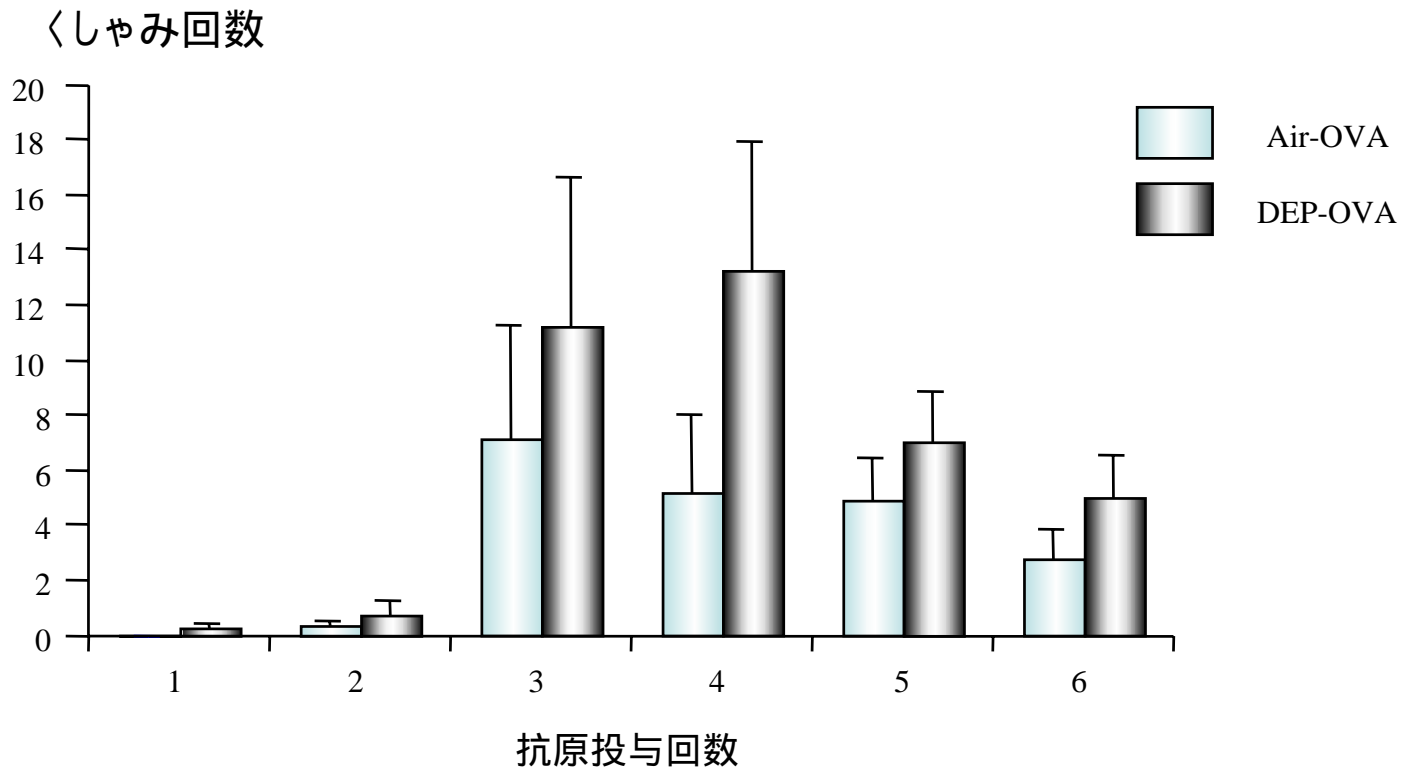


Fig.2 DEP曝露下での抗原投与が、くしゃみ回数に及ぼす影響

# くしゃみ回数

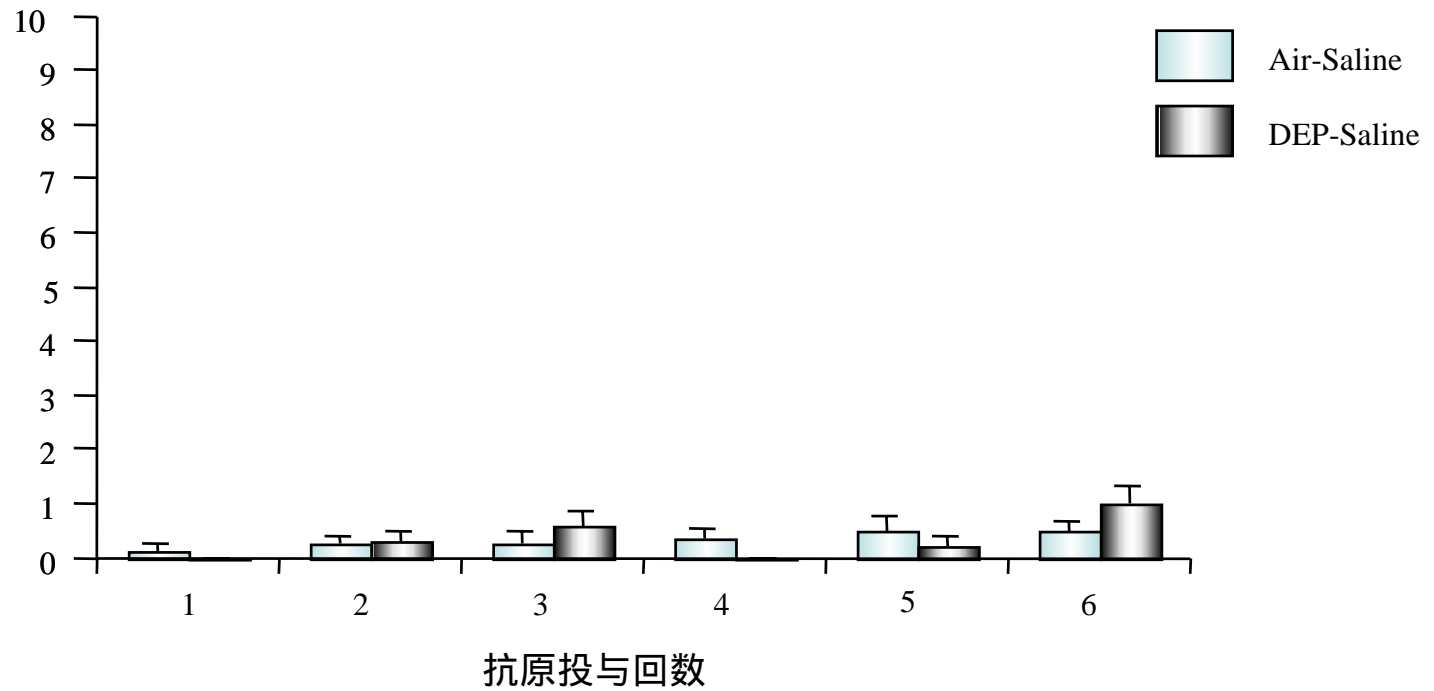


Fig.3 DEP曝露下での生理食塩水投与が、くしゃみ回数に及ぼす影響

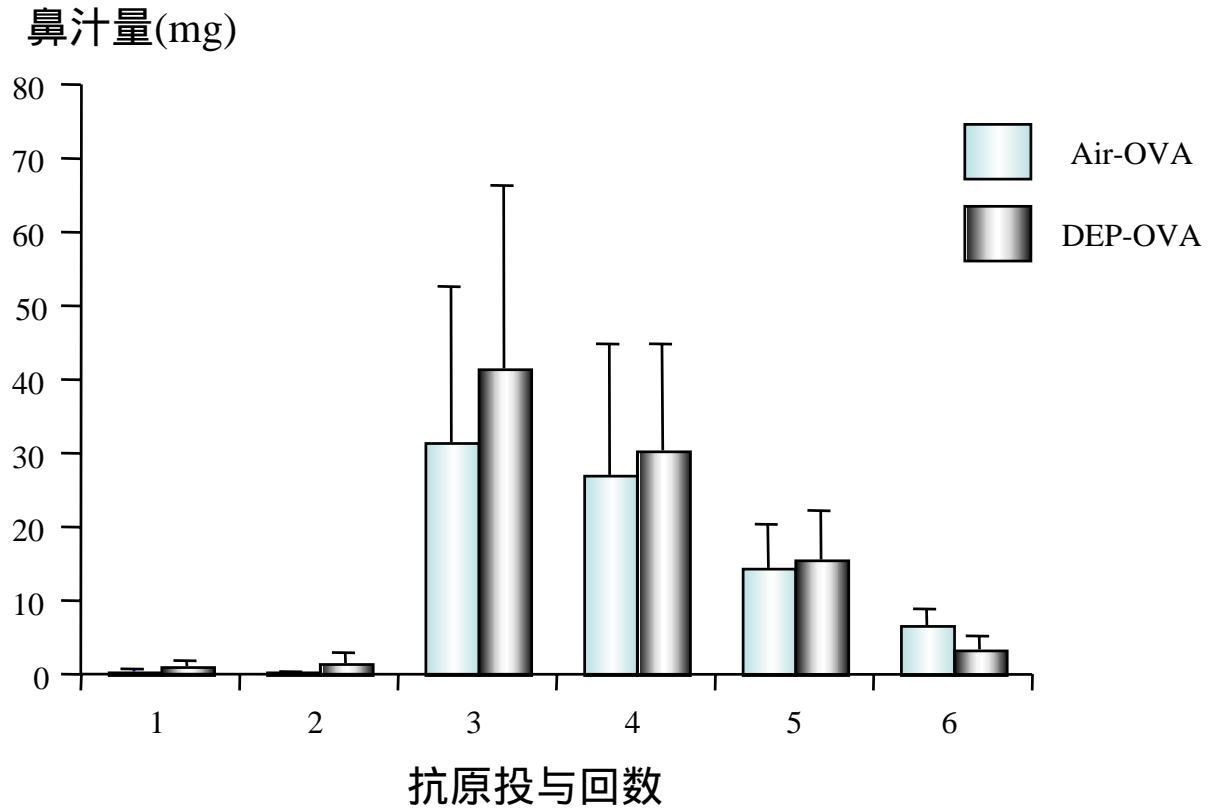


Fig.4 DEP曝露下での抗原投与が、鼻汁分泌量に及ぼす影響



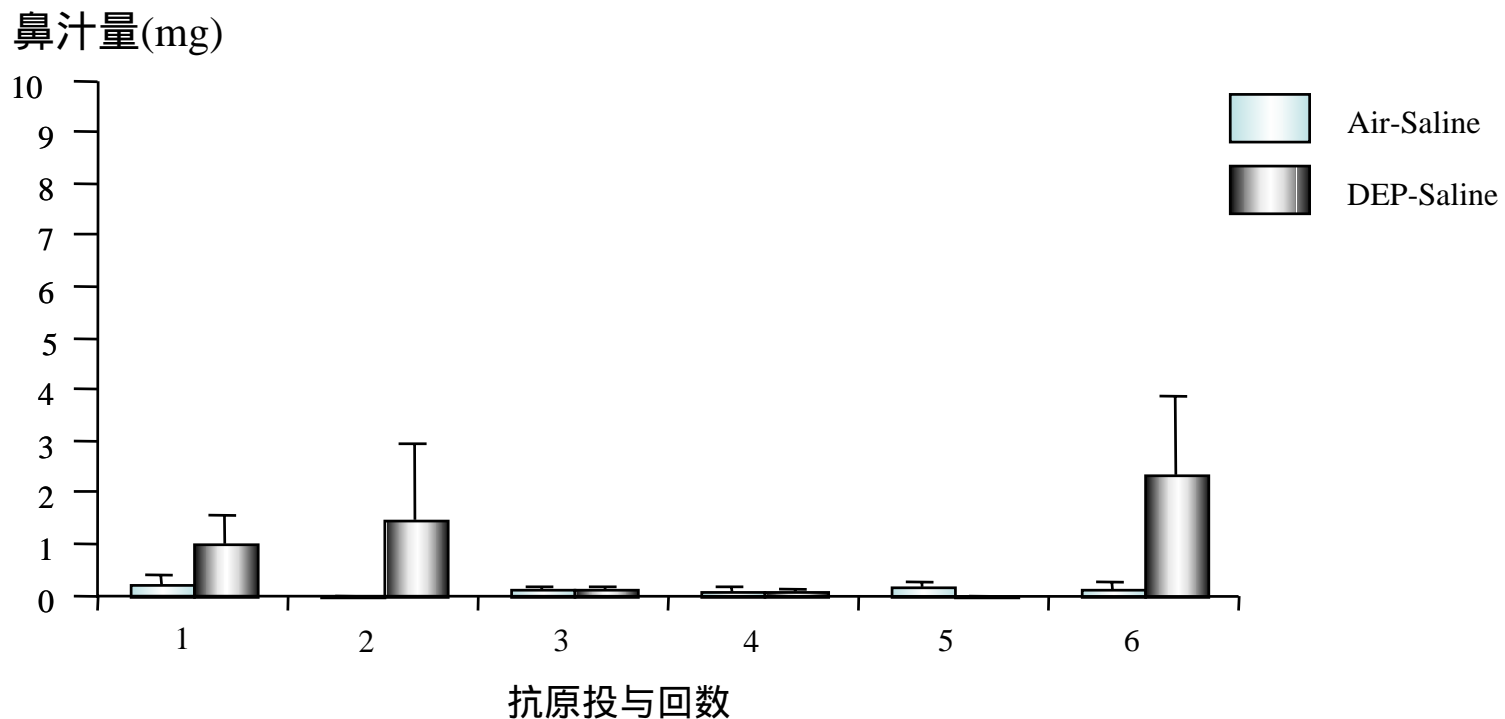


Fig.5 DEP曝露下で生理食塩水投与が、鼻汁分泌量に及ぼす影響