

# 1. ディーゼル排気中ガス状成分曝露が花粉症様病態におよぼす影響

小林 隆弘 (国立環境研究所環境健康部)

飯嶋麻里子 (筑波大学医学研究科)

## 研究要旨

これまでにディーゼル排気曝露下で抗原を繰り返し点鼻投与すると鼻アレルギー反応が増悪することを見いだしてきた。そこで、ディーゼル排気、ディーゼル排気から粒子状成分を取り除いたガス状成分およびガス状成分の中に比較的多く含まれる  $\text{NO}_2$  を曝露し、鼻アレルギー様病態への影響を検討した。

雄性ハートレイ系モルモットに、清浄空気あるいは、 $1.6\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含むディーゼル排気(DE)、 $1.6\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含むディーゼル排気中のガス状成分(DEG)を1日12時間5週間曝露を行った。また、 $\text{NO}_2$ 曝露の影響に関する実験については清浄空気あるいは、0.1、0.3、1 ppmの $\text{NO}_2$ の1日24時間5週間連続曝露を行った。その間、曝露前(0週)から5週目まで1週間ごとに、抗原として1%卵アルブミン(OVA)生理食塩水溶液または生理食塩水を両側鼻腔内に投与し、投与後20分間に誘発されるくしゃみ回数と鼻汁分泌量を鼻アレルギー反応の指標として測定した。鼻アレルギー反応のもととなる抗体産生への影響は5週目の測定終了から24時間後に分取した血清を用いてOVAに特異的なIgG抗体を指標とした。また、鼻アレルギー反応による炎症状態と増悪作用の指標として鼻粘膜上皮および上皮下の好酸球の浸潤数を用いた。

$\text{NO}_2$ を含むガス状成分に多少ばらつきはあったが、DE曝露群は清浄空気曝露群に対して、抗原投与によって誘発されるくしゃみ回数および鼻汁分泌量の有意な増加が見いだされた。DEG曝露群は清浄空気曝露群に対して、抗原投与によって誘発される鼻汁分泌量の有意な増加が見いだされた。生理食塩水投与による物理的刺激に対するくしゃみ回数と鼻汁分泌量の増加は、いずれにおいても見いだされなかった。また、DE曝露群においてOVA特異的IgG抗体の増加傾向が見いだされた。DEG曝露群では、OVA特異的IgG抗体の増加はみられなかった。DE、DEG曝露群いずれにおいても、鼻中隔上皮、上皮下における好酸球浸潤数の有意な増加が見いだされた。

低濃度の0.1、0.3、1.0 ppm  $\text{NO}_2$ 曝露においては、くしゃみ回数および鼻汁分泌量の増加傾向は見られたが、有意な増加ではなかった。

以上のことから、DE、DEG曝露群いずれにおいても鼻アレルギー反応増悪作用がおきることが示唆された。また、DE曝露群に対し、粒子を取り除いたDEG曝露群では鼻アレルギー増悪作用が弱まることも見いだされた。0.1、0.3、1.0 ppm  $\text{NO}_2$ の曝露では、くしゃみ、鼻汁の分泌といった鼻アレルギー反応は有意な増加は見られなかった。

研究協力者氏名

なし

## A. 研究目的

近年のアレルギー疾患の増加は花粉飛散数やハウスダストなどの抗原となる物質の増加が一因と考えられるが、その他に食事内容の変化、住環境の変化、大気汚染物質などが関与している可能性が指摘されている。

これまでの研究から、ディーゼル排気の曝露下で抗原を繰り返し点鼻投与すると鼻アレルギー反

応が増悪することが見いだされている。ディーゼル排気中のどのような成分（ガス状物質あるいは粒子状物質）が、鼻アレルギー反応の増悪作用により影響をおよぼすかを明らかにすることが現在問題となってきた。

そこで、ディーゼル排気から粒子状成分を取り除き、ガス状成分のみとしたものを曝露し、ディーゼル排気の全成分の曝露の影響との比較を行った。また、 $\text{NO}_2$  はディーゼル排気中のガス状成分の中に比較的多く含まれており、大気環境中の濃度も横這い状態がつづいており改善が進んでない状態である。これまで、高濃度の  $\text{NO}_2$  曝露（1.0～10ppm）によりモルモットの鼻アレルギー反応が増悪する事を明らかにしてきた（平成11年度報告）。そこで今回、より低濃度（0.1～1 ppm）の  $\text{NO}_2$  に鼻アレルギー反応を増悪する作用があるか検討を行った。

## B. 研究方法

### 1) 実験計画

実験計画を Fig. 1 に示した。雄性のハートレイ系モルモットに、フィルターを通した清浄空気、あるいは、1.6mg/m<sup>3</sup>の粒子を含むディーゼル排気（DE）、1.6mg/m<sup>3</sup>の粒子を含むディーゼル排気中のガス状成分（DEG）を1日12時間5週間連続曝露を行った。また、 $\text{NO}_2$  曝露の影響に関する実験についてはフィルターを通した清浄空気、あるいは、0.1、0.3、1 ppm の  $\text{NO}_2$  の5週間連続曝露を行った。その間、0週から5週目まで一週間ごとに、抗原として卵アルブミン（OVA）または生理食塩水を両側鼻腔に各 40  $\mu$ l/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。5週目の測定終了24時間後に採取した血清を用いて、皮内反応によってOVAに特異的なIgG抗体価を測定した。また、鼻部を摘出し、切片を作成し鼻中隔上皮および上皮下の組織学的観察を行った。動物は各曝露濃度ごとに、抗原投与群では1群8匹、生理食塩水投与群では1群7匹を使用した。

### 2) 動物

雄性モルモットを、4週齢で日本 SLC 株式会社（浜松、日本）より購入した。動物は、温度 25  $\pm$  1 $^{\circ}$ C、湿度 55  $\pm$  5 %、明暗期 12 時間で飼育した。標準的モルモット餌である RC4（オリエンタル酵母コーポレーション 東京、日本）を使用し、餌、滅菌水ともに自由摂取させた。動物は一週間の馴化期間後、5週齢で実験に使用した。

### 3) 曝露方法

国立環境研究所曝露チャンバーを用いて曝露を行った。チャンバー内は温度 25  $\pm$  1 $^{\circ}$ C、湿度 55  $\pm$  5 %、空気流量は 110m<sup>3</sup> / h で飼育した。ガス状成分の濃度は、それぞれ化学発光を利用した分析計（Model 8850 Monitor Labs Inc, Germany）、（ML9841A Monitor Labs Inc, Germany）を用いて測定した。DE は、1.6mg/m<sup>3</sup>の粒子濃度、ガス状成分は、 $\text{NO}_x$ ; 12.13ppm、 $\text{NO}$ ; 10.03ppm、 $\text{NO}_2$ ; 1.08ppm、 $\text{SO}_2$ ; 0.13ppm の濃度で曝露を行った（Fig. 2）。DEG は、粒子を取り除き、ガス状成分は、 $\text{NO}_x$ ; 11.70ppm、 $\text{NO}$ ; 9.13ppm、 $\text{NO}_2$ ; 2.44ppm、 $\text{SO}_2$ ; 0.10ppm の濃度で曝露を行った（Fig. 3）。

$\text{NO}_2$  は、0.1、0.3、1 ppm の濃度で曝露を行った。

### 4) 点鼻投与

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 40  $\mu$ l/kg づつ投与した。