

平成12年度環境省委託業務結果報告書

大気汚染と花粉症の相互作用に関する基礎的調査研究

平成13年2月

財団法人 日本公衆衛生協会

大気汚染と花粉症の相互作用に関する基礎的調査研究

A) 動物実験研究

- | | |
|-------|-----------------------|
| 小林 隆弘 | 国立環境研究所環境健康部上席研究官 |
| 藤巻 秀和 | 国立環境研究所環境健康部生体機能研究室室長 |
| 細川 友和 | 星薬科大学薬学教育研究センター 助教授 |
| 今野 昭義 | 千葉大学医学部耳鼻咽喉科教授 |

B) 素因研究

- | | |
|-------|--------------|
| 常俊 義三 | 宮城県立看護大学客員教授 |
|-------|--------------|

目 次

A. 動物実験研究

1. ディーゼル排気中ガス状成分曝露が花粉症様病態に及ぼす影響.....	3
研究要旨.....	3
研究協力者氏名.....	3
A. 研究目的.....	3
B. 研究方法.....	4
C. 研究結果.....	6
D. 考 察.....	7
E. 結 論.....	8
F. 研究発表.....	8
G. 英文アブストラクト.....	8
2. ディーゼル排気ガス曝露の花粉抗原に対する免疫反応に及ぼす影響.....	32
研究要旨.....	32
研究協力者氏名.....	32
A. 研究目的.....	32
B. 研究方法.....	33
C. 研究結果.....	34
D. 考 察.....	35
E. 結 論.....	36
F. 研究発表.....	36
G. 英文アブストラクト.....	38
3. ディーゼル排気曝露がアレルギー性結膜炎に及ぼす影響	
ーディーゼル排気(D E)とディーゼル排気中ガス状成分(除粒子)の比較ー.....	46
A. はじめに.....	46
B. 実験方法.....	47
C. 実験結果.....	48
D. 考 察.....	49
参考文献.....	50

B. 素因研究

1. 花粉症の素因等に関する研究.....	61
研究要旨.....	61
研究協力者氏名.....	61
A. 研究目的.....	61
B. 研究方法.....	62
倫理面での配慮.....	62
C. 調査結果.....	63
D. 考 察.....	71
E. 結 論.....	73
文 献.....	74

A. 動物実験研究

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 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、 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 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。

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 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 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、 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 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 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/m³の粒子を含むディーゼル排気（DE）、1.6mg/m³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、 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 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 μ 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 110m³ / 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/m³の粒子濃度、ガス状成分は、 NO_x ; 12.13ppm、 NO ; 10.03ppm、 NO_2 ; 1.08ppm、 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、 NO_x ; 11.70ppm、 NO ; 9.13ppm、 NO_2 ; 2.44ppm、 SO_2 ; 0.10ppm の濃度で曝露を行った（Fig. 3）。

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 μ l/kg づつ投与した。

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。点鼻投与は曝露前に1度行い、その後1週間ごとに1回、計6回行った。

5) くしゃみ回数の測定

抗原投与後、20分間に誘発されるくしゃみ回数を測定した。

くしゃみ回数は、モルモットを首かせ式保定器によって固定し無麻酔下で、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、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 (CFDD77, ソニー株式会社、東京) によりくしゃみの音声を確認した。

6) 鼻汁量測定

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

7) 抗体価の測定

6回目の最終抗原投与24時間後、腋窩動静脈より採血を行った。採取した血液は、3500rpm、30分間で遠心し、血清を分取した。モルモット IgG₁測定キット (森永生科学研究所、横浜) を用いて、血清中の IgG₁抗体価の測定を行った。

8) 組織学的検討

6回目の最終抗原投与24時間後、腋窩動静脈の切断により放血致死させた後、鼻部を採取した。皮膚や筋肉を除去し、中性ホルマリンにより固定した。固定後、脱灰液 (Decalcifying Soln. B) により脱灰し、切り出した切片を、TP1050 (Leica, Germany) で前処理した後、Histo Embedder (CV5000 Leica, Germany) を用い、パラフィン包埋した。ミクロトーム (RM2155 Leica, Germany) を用いて作成した5 μ mの厚さの薄切切片を、1% Poli-L-Lysin を塗布したスライドガラス (松浪硝子工業株式会社、大阪) に張り付け、Auto Stainer XL (Leica, Germany) によってヘマトキシリン-エオジン染色した。好酸球の浸潤数は光学顕微鏡 (BX50, オリンパス) を用いてビデオマイクロメーター (オリンパス) により、鼻中隔上皮および上皮下の単位面積あたりの数を計測した。

9) 統計学的検討

値は平均値±標準誤差で示した。清浄空気曝露群と DE、DEG、または NO₂ 曝露群の有意差の比較検討は、Mann-Whitney の U 検定を用いて解析し、p 値が 0.05 未満を有意とした。

C. 研究結果

1) DE および DEG 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 4 に示した。

清浄空気曝露群に比し、DE 曝露群では 5 回目の抗原投与後にくしゃみ回数の有意な増加が見られた (Fig. 4)。DEG 曝露群では有意な増加は見いだされなかった (Fig. 4)。

2) DE および DEG 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 5 に示した。

清浄空気曝露群に比し、DE 曝露群では、2、4 回目の抗原投与後に鼻汁分泌量の有意な増加が見られた (Fig. 5)。DEG 曝露群では、5 回目の抗原投与後に鼻汁分泌量の有意な増加が見られた (Fig. 5)。

3) DE および DEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性に及ぼす影響をくしゃみおよび鼻汁分泌量を指標に検討した結果を Fig. 6-7 に示した。

DE および DEG 曝露群のくしゃみ回数は清浄空気曝露群に比し、有意な増加は見られなかった (Fig. 6)。また、DE および DEG 曝露群の生理食塩水投与後による鼻汁分泌量も有意な増加は見いだされなかった (Fig. 7)。

4) DE および DEG 曝露が抗原投与による抗体産生に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与による抗体産生に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 8 に示した。

清浄空気曝露群に比し DE 曝露群では、IgG₁ 抗体価の増加傾向 ($P < 0.09$) が見いだされた (Fig. 8)。DEG 曝露群では、IgG₁ 抗体価の増加は見いだされなかった (Fig. 8)。

5) DE および DEG 曝露が抗原投与による好酸球浸潤に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与によって誘発される好酸球浸潤に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 9 に示した。

DE および DEG 曝露いずれにおいても、清浄空気曝露群に比し鼻中隔上皮、上皮下において有意な好酸球浸潤数の増加が見られた (Fig. 9)。

6) DE および DEG 曝露が鼻粘膜組織に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が鼻粘膜組織に及ぼす影響について Fig. 10 に示した。

清浄空気曝露群 (Fig. 10-a) に比べ、DE 曝露群において鼻粘膜上皮の損傷、及び杯細胞の増加が見られた (Fig. 10-b)。DEG 曝露においては、DE 曝露群より影響は弱い、上皮損傷や肺細胞の増加が見いだされた (Fig. 10-c)。

7) NO₂ 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

0.1、0.3、1 ppm NO₂ 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 11-13 に示した。

清浄空気曝露群に比し、0.1、0.3、1 ppm NO₂ 曝露群いずれにおいてもくしゃみ回数の有意な増加は見いだされなかった (Fig. 11-13)。

8) NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 14-16 に示した。

清浄空気曝露群に比し、0.1、0.3、1 ppm NO₂ 曝露群いずれにおいても鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった (Fig. 14-16)。

9) NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性に及ぼす影響

NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性に及ぼす影響をくしゃみおよび鼻汁分泌量を指標に検討した結果を Fig. 17-22 に示した。

清浄空気曝露群に比し、0.1、0.3、1 ppm NO₂ 曝露群いずれにおいてもくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった (Fig. 17-19)。また、鼻汁分泌量においても、0.1、0.3、1 ppm NO₂ 曝露群いずれも有意な増加は見られなかった (Fig. 20-22)。

D. 考察

実験結果から、DE 曝露によって、抗原により誘発されるくしゃみ (Fig. 4)、及び鼻汁量 (Fig. 5) の有意な増加が見いだされた。また、DEG 曝露によって、鼻汁分泌量の有意な増加が見いだされた (Fig. 5)。これらのことから、DE および DEG 曝露によって、鼻アレルギー反応が増悪されることが明らかとなった。NO₂ を含むガス状成分に多少ばらつきはあったが、DE 曝露に比し、DEG 曝露群では鼻アレルギー様病態の増悪作用が弱まるということも明らかとなった。増悪作用の要因としては、抗体価の上昇、炎症細胞の浸潤、上皮の透過性の増加等の可能性がある。鼻粘膜の反応性は、生理食塩水のみを点鼻投与することにより誘発されるくしゃみ回数及び鼻汁分泌量を指標に検討したが、DE、DEG 曝露群では生理食塩水に対する物理的刺激での反応性の亢進は見いだされなかった (Fig. 6-7)。抗体価は、OVA 特異的 IgG₁ 抗体価について検討した。DE 曝露群では、IgG₁ 抗体価の増加傾向が見いだされた。DEG 曝露群においては、IgG₁ 抗体価の有意な増加は見られなかった (Fig. 8)。このことから、ガス状成分のみの DEG 曝露群に対し、ガス状成分と粒子状成分との混合物である DE は、より影響が強かった為抗体を介した反応が増加した可能性が考えられる。炎症細胞は、アレルギー性炎症の中心となる好酸球について検討を行った。DE、DEG 曝露群において、鼻中隔上皮、上皮下への好酸球浸潤数の顕著な増加が見いだされた (Fig. 9-10)。好酸球は、メジャーベーシックプロテインや好酸球カチオンニックプロテインなどを放出し上皮等に損傷を与えることが知られている。また、好酸球は IL-3、IL-5、GM-CSF などのサイトカイン産生による好酸球産生の増幅作用やロイコトリエン C₄、D₄ の産生による血管透過性や粘液分泌の亢進作用、顆粒蛋白やフリーラジカルの放出による肥満細胞の脱顆粒などを誘発し、アレルギー反応においての組織傷害の原因となる。上皮の損傷は透過性を上昇させ、刺激に対して過敏に反応しアレルギー反応を増悪させる可能性がある。

光学顕微鏡による観察の結果では清浄空気曝露群に比べ、DE、DEG 曝露をされたモルモットの鼻上皮の損傷が見られた (Fig. 10)。DE、DEG 曝露が、上皮に損傷を与えることで、上皮の透過性が増加することが考えられる。今回の実験では5週間という長時間曝露である為、透過性が上がり、刺激性物質や抗原である OVA が上皮を通過しやすい状況になり、その結果過敏や抗体産生の亢進が

おきる可能性が考えられる。

以上の事から、DE、DEG 曝露は、鼻粘膜に損傷を与え反応性の増加を引き起こし、それによって抗原刺激に反応しやすい状態となる。また、抗体が肥満細胞上に結合することで、抗原がくることにより脱顆粒を起こしやすい状態にさせる。また、好酸球の浸潤が増加することにより、上皮の損傷やそれに伴う透過性の増加をさらにひきおこす可能性がある。これらの反応により鼻アレルギー反応の増悪が引き起こされると考えられる。

低濃度のNO₂ (0.1, 0.3, 1 ppm) の曝露によって、抗原により誘発されるくしゃみ (Fig. 11-13)、及び鼻汁量 (Fig. 14-16) の増加傾向は有るものの有意な増加ではなかった。これらのことから、低濃度のNO₂ 曝露では、鼻アレルギー反応は増悪されないことが示唆された。高濃度のNO₂ (3, 10 ppm) の曝露では鼻アレルギー反応の増加が見られたことから、鼻アレルギー反応は濃度依存的に増悪することが示唆された。

鼻粘膜の反応性は、生理食塩水のみを点鼻投与することによる物理的刺激で誘発されるくしゃみ回数及び鼻汁分泌量を指標に検討した。清浄空気曝露群に対し、0.1, 0.3, 1 ppm NO₂ 曝露では、生理食塩水に対する物理的刺激での反応性の亢進は見られなかった (Fig. 17-22)。

1 ppm NO₂ 曝露群においては前回の曝露時においては増悪作用が見いだされたが、今回は見いだされなかった。閾値に近いところでは一貫した結果が出ないこともあることもあるが、再度検討する必要があると考えている。

E. 結論

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判明した。また、NO_x を含むガス状成分に多少ばらつきはあったが、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ということが明らかとなった。NO₂ 曝露群では、濃度が低いところでは鼻アレルギー増悪作用がなくなることが示唆された。また、NO₂ 曝露群の影響については濃度依存的な変化が見られることから、閾値濃度の推定が今後の重要な課題であると考えられる。

F. 研究発表

Kobayashi, T., Exposure to diesel exhaust aggravates nasal allergic reaction in guinea pigs. *Am.J. Respir. Crit.Care Med.*, 162: 352-356 (2000).

G. 英文アブストラクト

Exposure to diesel exhaust or gaseous component aggravates nasal allergic response induced by repeated antigen administration.

Takahiro Kobayashi^{*}, and Mariko K. Iijima[#] * Environ. Health Sci. Div., National Inst. for Environ. Studies, Tsukuba 305-0053, #Dept. of Medicine, Tsukuba Univ., Tsukuba 305-8575, Japan

It has been reported that exposure to diesel exhaust (DE) aggravates nasal allergic response. There were no reports whether gaseous component of DE could aggravate nasal allergic response induced by repeated antigen administration. The present study designed to clarify whether DE and gaseous component of DE (DEG) could aggravate nasal allergic response. *Methods:* Male hartley guinea pigs were exposed to filtered air, DE (containing 1.6 mg/m³ of particulates) or DEG for 5 weeks. During the exposure guinea pigs were challenged by inhalation of OVA or saline (6 times; once a week). Sneezes and nasal secretion were measured as an index of nasal allergic

response. Nasal responsiveness to physical stimuli, OVA-specific IgG, and infiltration of eosinophils in nasal epithelium and subepithelium were measured. *Results:* DE and DEG aggravate nasal allergic response after antigen challenge, and infiltration of eosinophils both in epithelium and subepithelium. *Conclusion:* These results indicated that DE and DEG aggravate nasal allergic response. The potency of the aggravation of DEG is lower than that of DE.

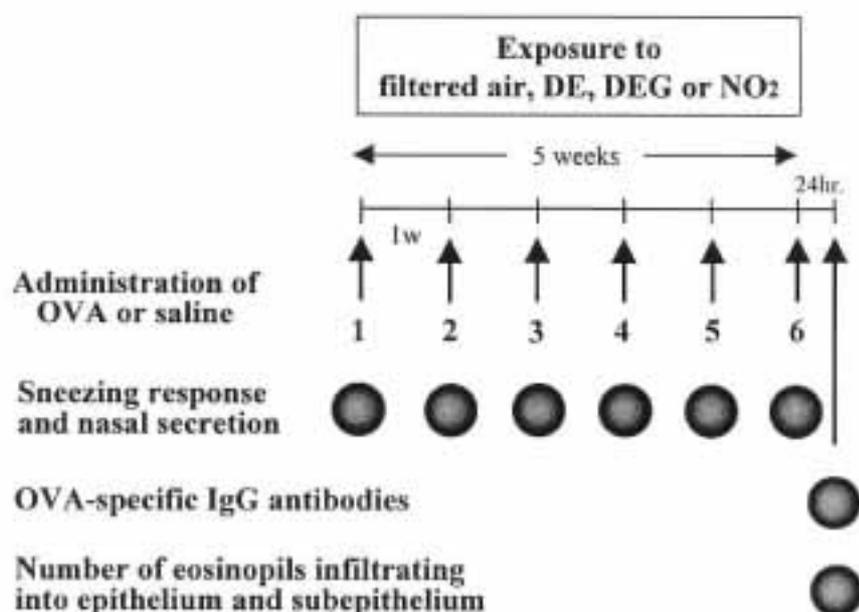


Fig.1 実験計画

モルモットに、フィルターを通した清浄空気、DE、DEG の1日12時間5週間曝露又はNO₂の1日24時間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 μ 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。

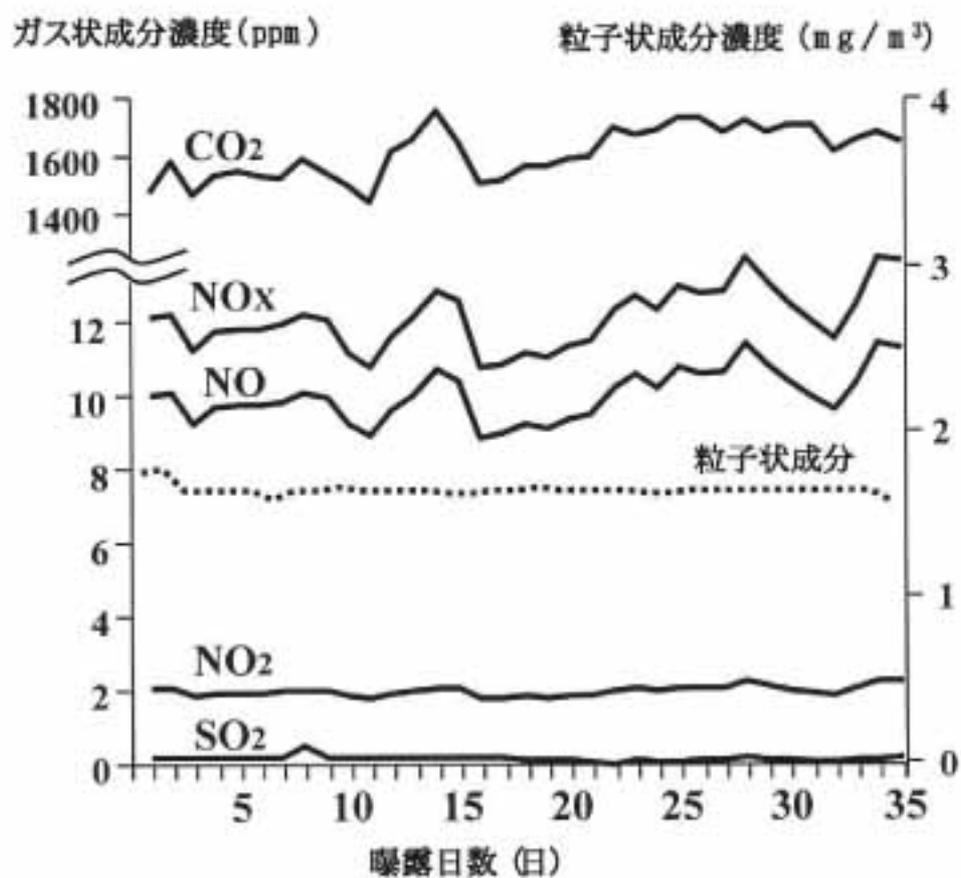


Fig.2 ガス濃度分析結果

DE曝露の粒子状成分およびガス状成分濃度を示した。
 粒子状成分は、 1.6 mg/m^3 の濃度で含まれている。

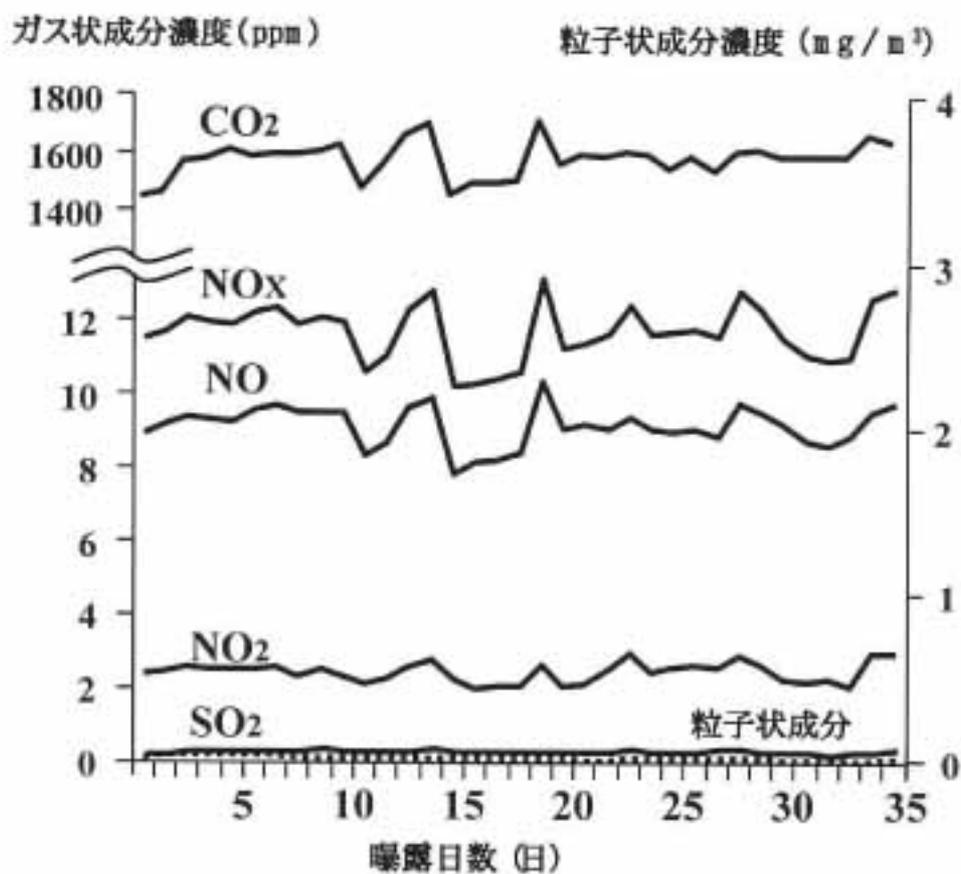


Fig.3 ガス濃度分析結果

DEG曝露の粒子状成分およびガス状成分濃度を示した。粒子状成分は、ほとんど取り除かれている。

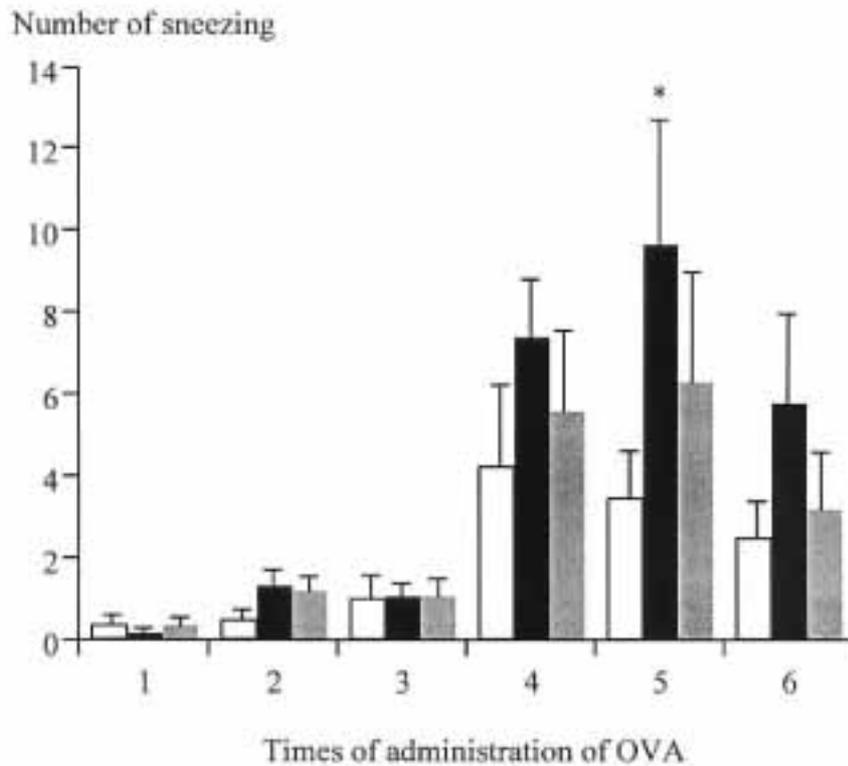
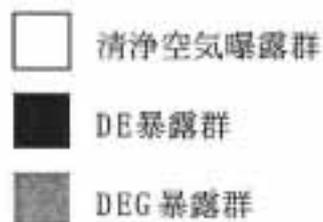


Fig.4 DEおよびDEG 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

DEおよびDEG 曝露がくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、DE曝露群では5回目の抗原投与後にくしゃみ回数の有意な増加が見られた。



* : $p < 0.05$ vs 清浄空気曝露・抗原投与群

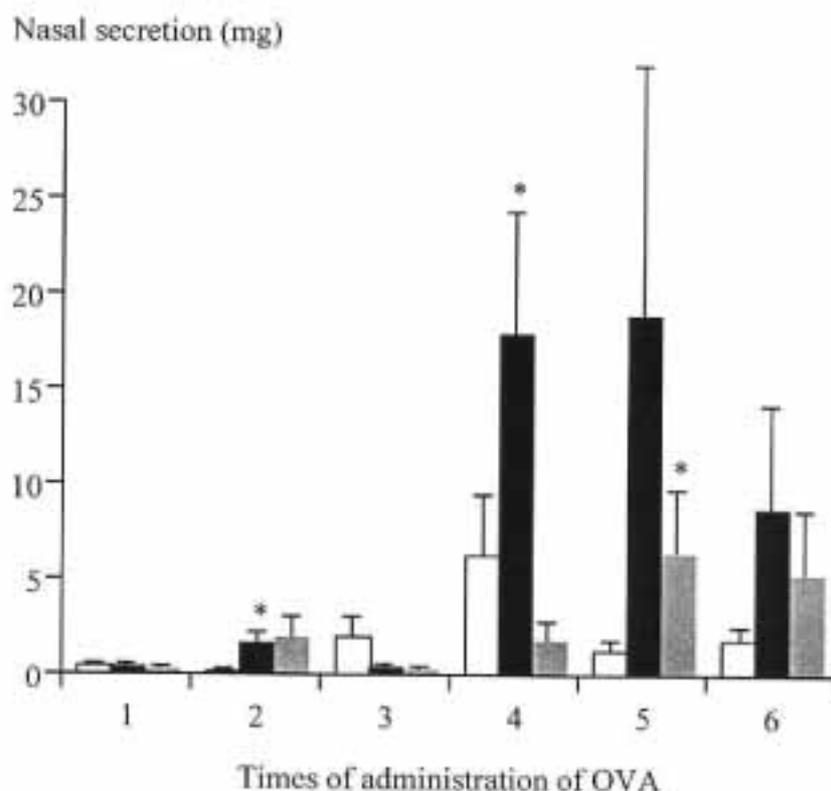


Fig.5 DEおよびDEG 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

DEおよびDEG 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、DE曝露群では2, 4回目、DEG 曝露群では5回目の抗原投与後に鼻汁分泌量の有意な増加が見られた。



* : $p < 0.05$ vs 清浄空気曝露・抗原投与群

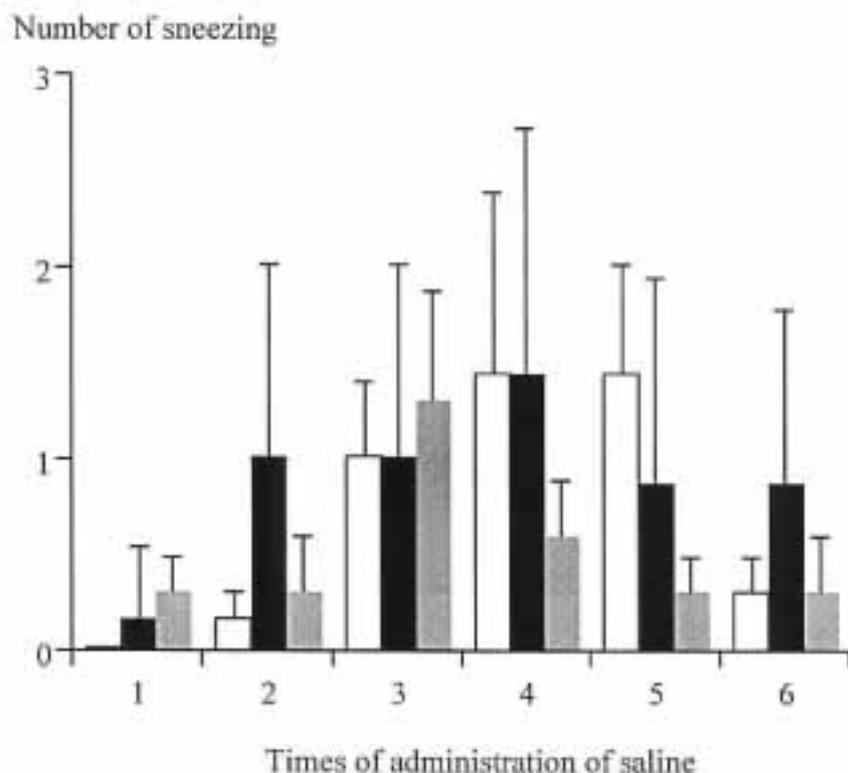
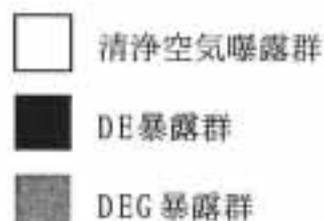


Fig.6 DEおよびDEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対するくしゃみ回数に及ぼす影響

DEおよびDEG 曝露が生理食塩水投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、DEおよびDEG 曝露群いずれにおいてもくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



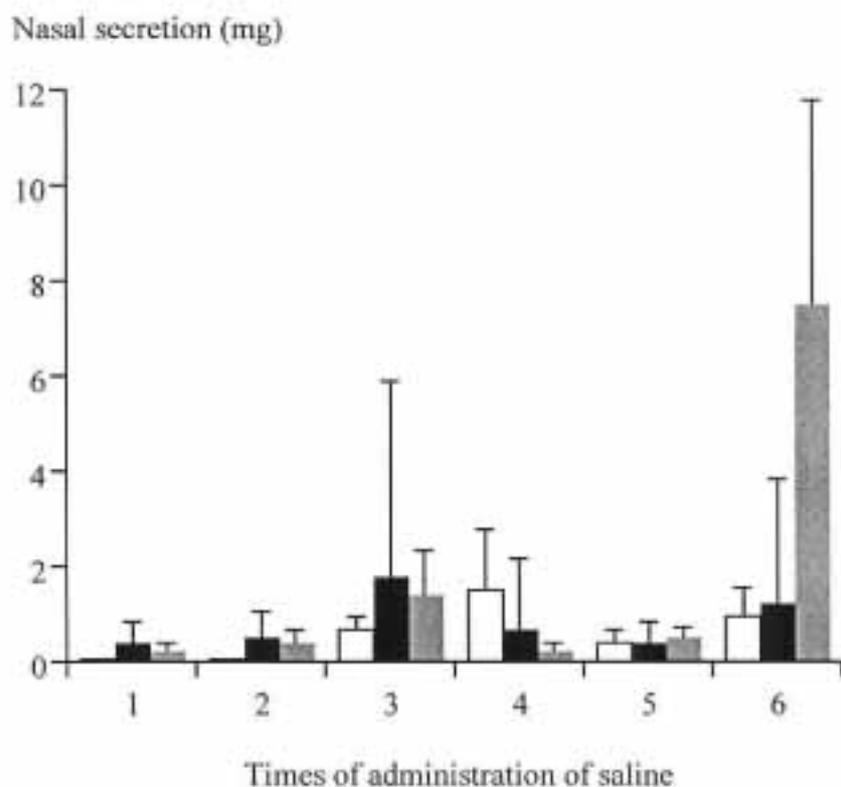


Fig.7 DEおよびDEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響

DEおよびDEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、DEおよびDEG 曝露群いずれにおいても鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。

- 清浄空気曝露群
- DE 曝露群
- DEG 曝露群

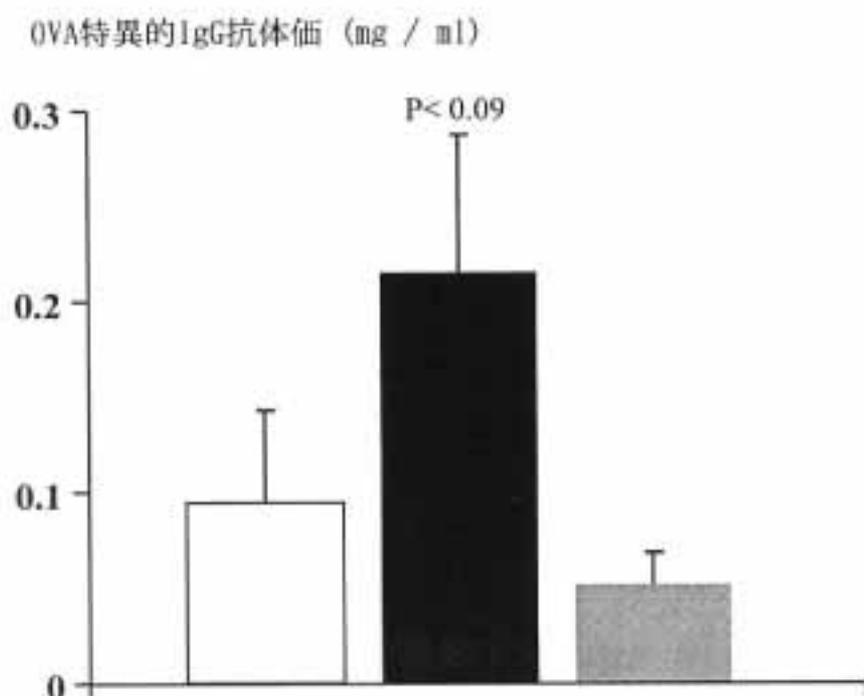
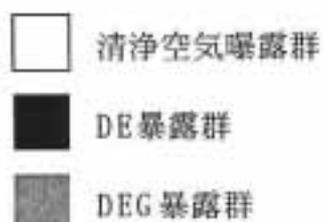


Fig.8 DEおよびDEG 曝露が抗原投与によるIgG抗体産生に及ぼす影響

DEおよびDEG曝露が抗原投与による抗原特異的抗体価に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、DE曝露においてIgG抗体価に増加傾向が見いだされた。DEG曝露では、増加は見いだされなかった。



好酸球浸潤数
($1 \times 10^3 \mu\text{m}^2$)

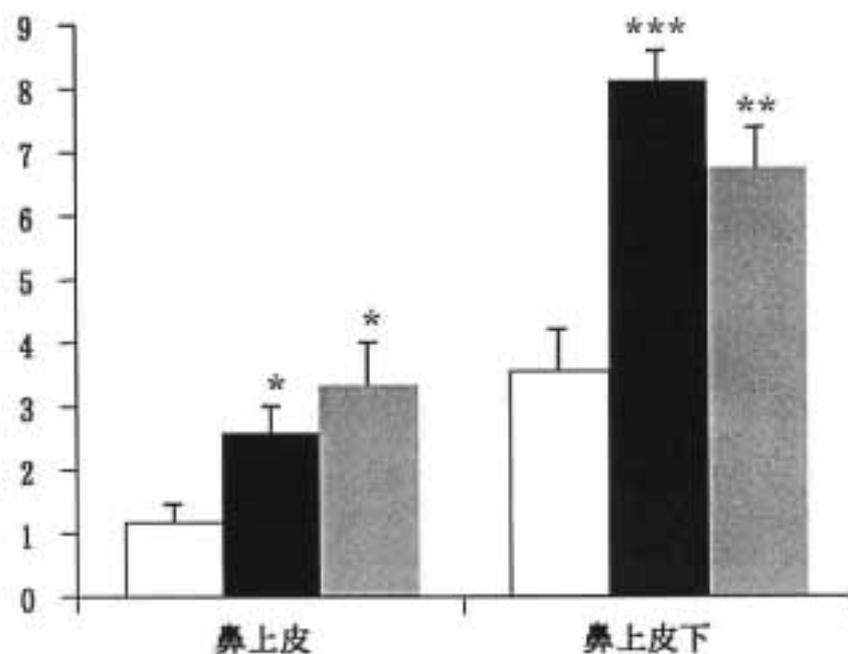
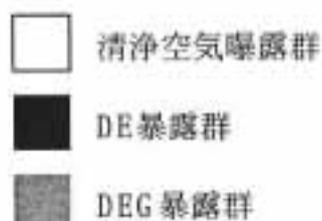


Fig.9 DEおよびDEG 曝露が抗原投与による好酸球浸潤に及ぼす影響

DEおよびDEG 曝露が好酸球浸潤数に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、DEおよびDEG 曝露いずれにおいても、鼻中隔上皮、上皮下に有意な好酸球浸潤数の増加が見られた。



* : p<0.05 vs 清浄空気曝露・抗原投与群
 ** : p<0.01 vs 清浄空気曝露・抗原投与群

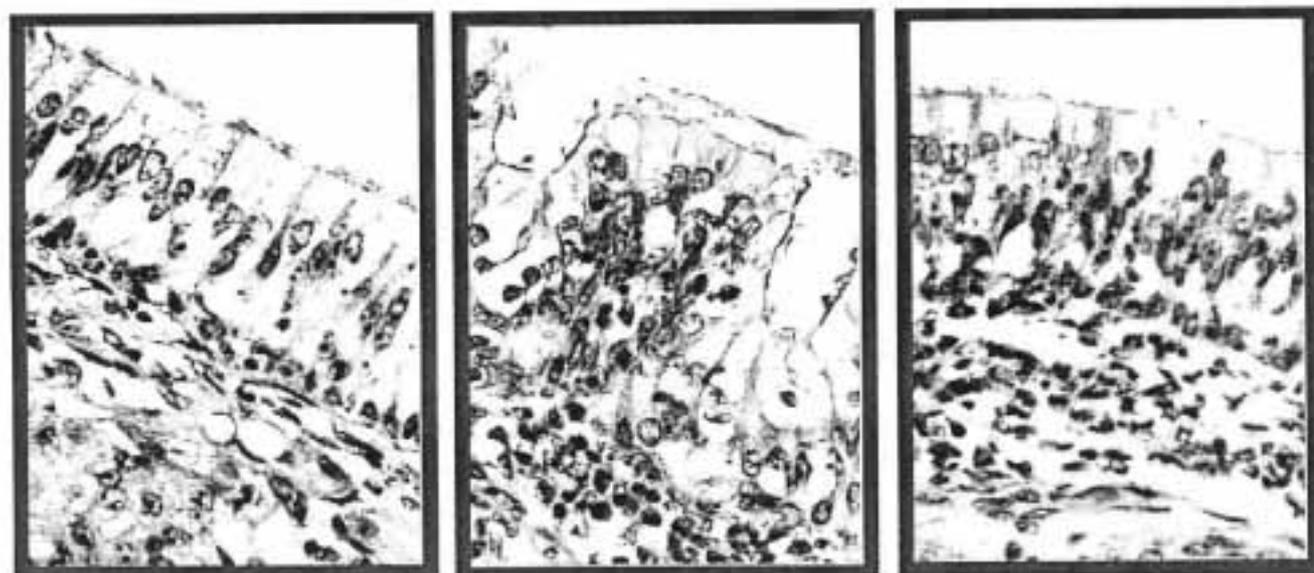


Fig.10-a 清浄空気曝露群

Fig.10-b DE 曝露群

Fig.10-c DEG 曝露群

Fig.10 DEおよびDEG 曝露が鼻粘膜組織に及ぼす影響

DEおよびDEG曝露が抗原投与による鼻粘膜組織に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群 (Fig.10-a) に比し、DEおよびDEG曝露 (Fig.10-b, c) は鼻中隔の鼻粘膜上皮に損傷、杯細胞の増加が見られた。

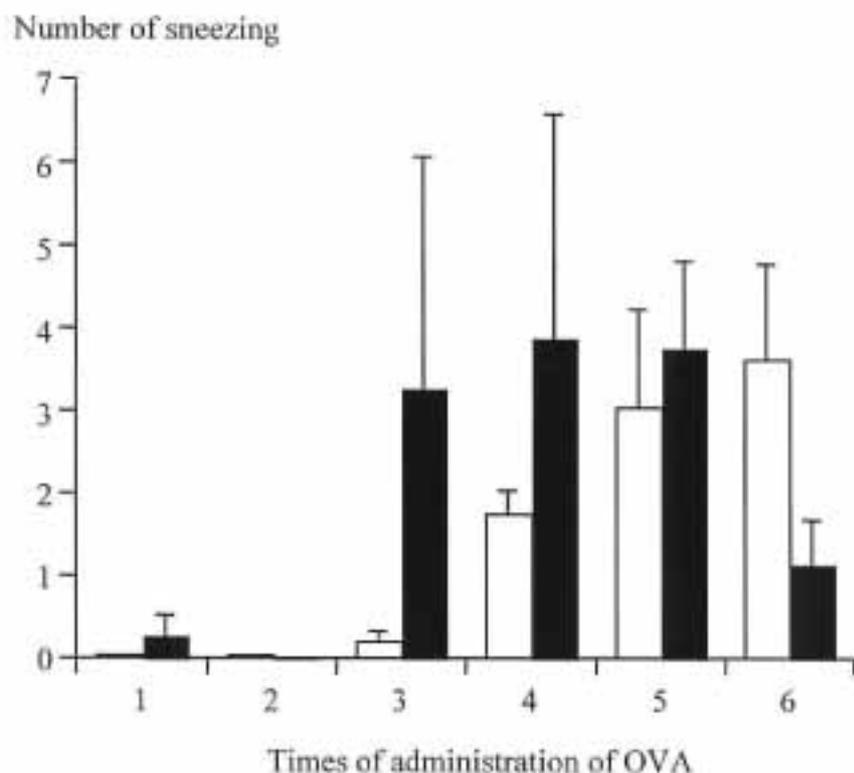
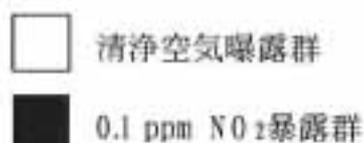


Fig.11 0.1 ppm NO₂曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

0.1 ppm NO₂曝露がくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、0.1 ppm NO₂曝露群ではくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



* : p<0.05 vs 清浄空気曝露・抗原投与群

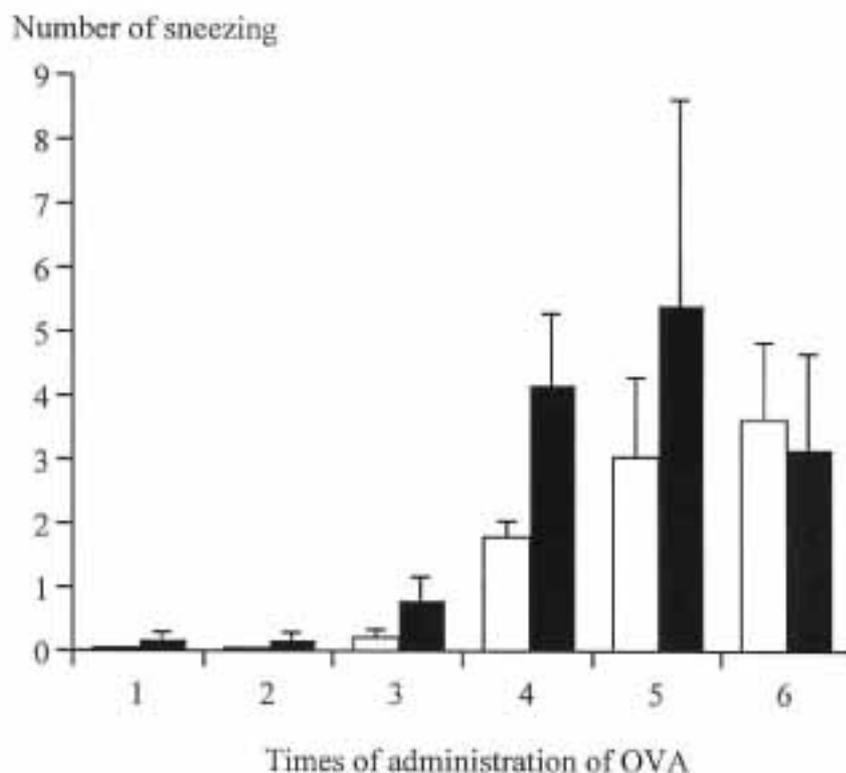
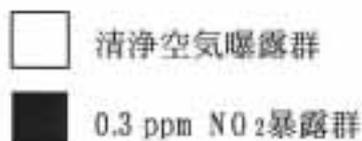


Fig.12 0.3 ppm NO₂曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

0.3 ppm NO₂曝露がくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、0.3 ppm NO₂曝露群ではくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



* : p<0.05 vs 清浄空気曝露・抗原投与群

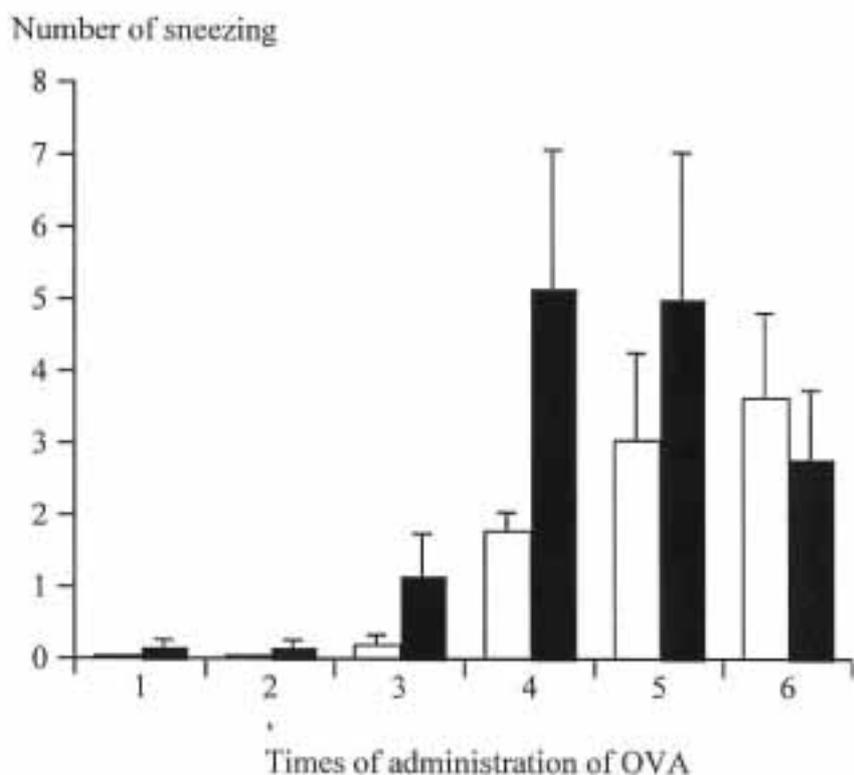
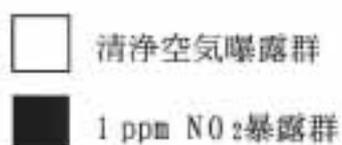


Fig.13 1 ppm NO₂曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

1 ppm NO₂曝露がくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、1 ppm NO₂曝露群ではくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



* : p<0.05 vs 清浄空気曝露・抗原投与群

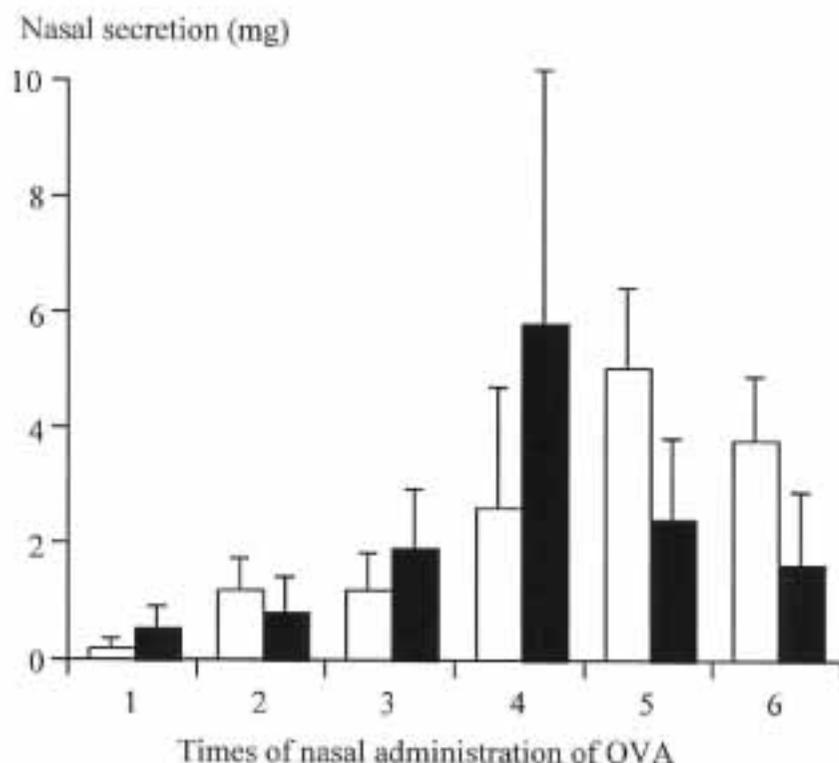
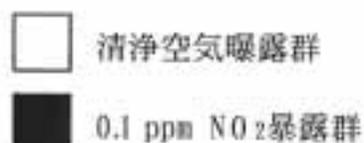


Fig 14 0.1 ppm NO₂ 曝露が抗原に投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

0.1 ppm NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、0.1 ppm NO₂ 曝露では、鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。



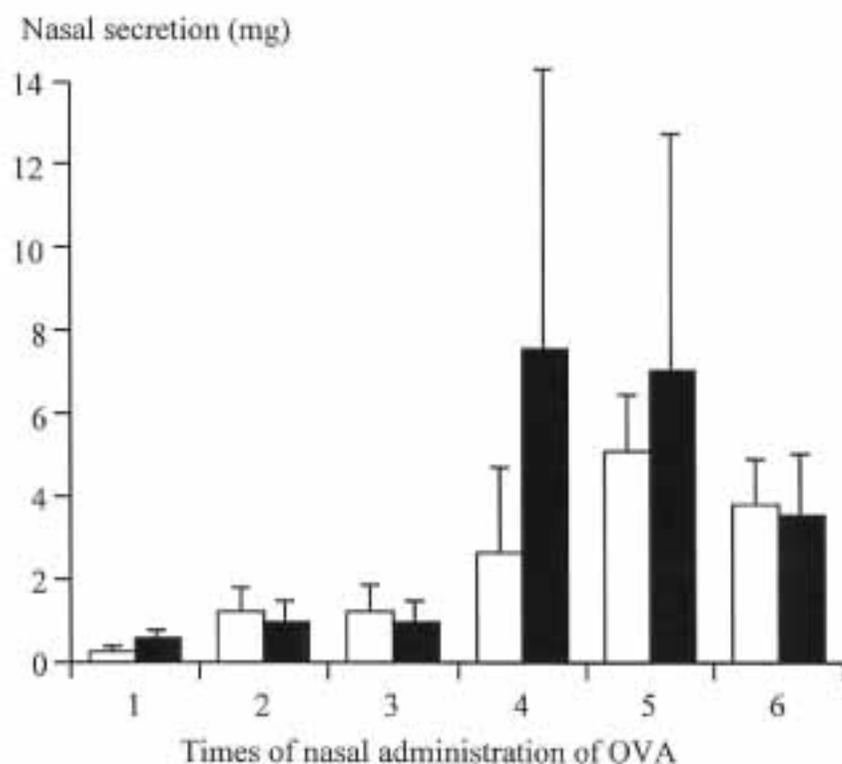
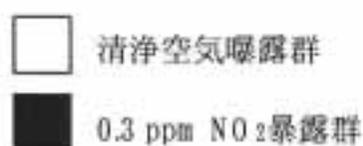


Fig 15 0.3 ppm NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

0.3 ppm NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、0.3 ppm NO₂ 曝露では、鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。



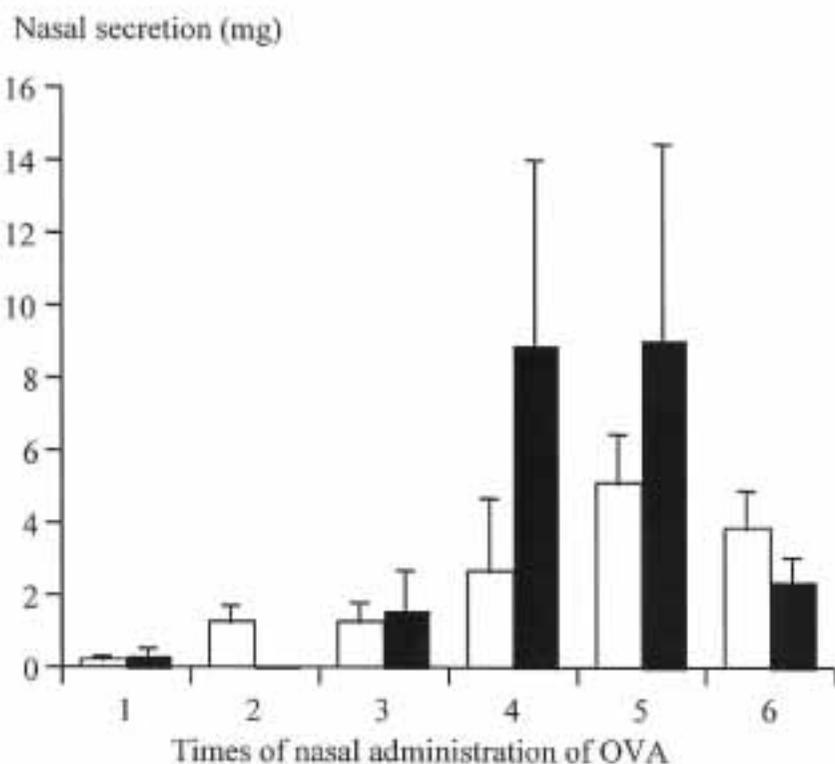
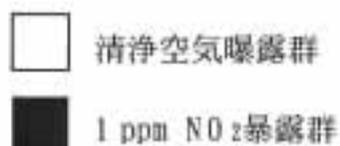


Fig 16 1 ppm NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

1 ppm NO₂ 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、1 ppm NO₂ 曝露では、鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。



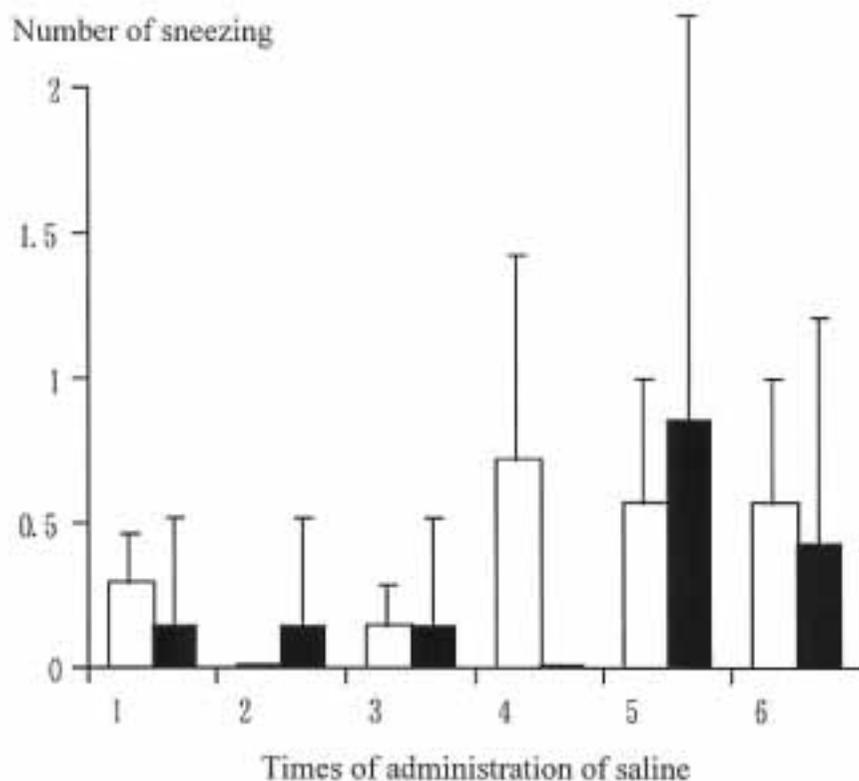
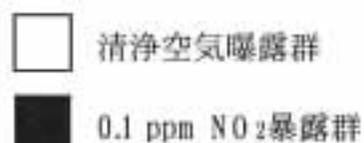


Fig.17 0.1 ppm NO₂曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対するくしゃみ回数に及ぼす影響

0.1 ppm NO₂曝露が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に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、0.1 ppm NO₂曝露群ではくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



* : p<0.05 vs 清浄空気曝露・抗原投与群

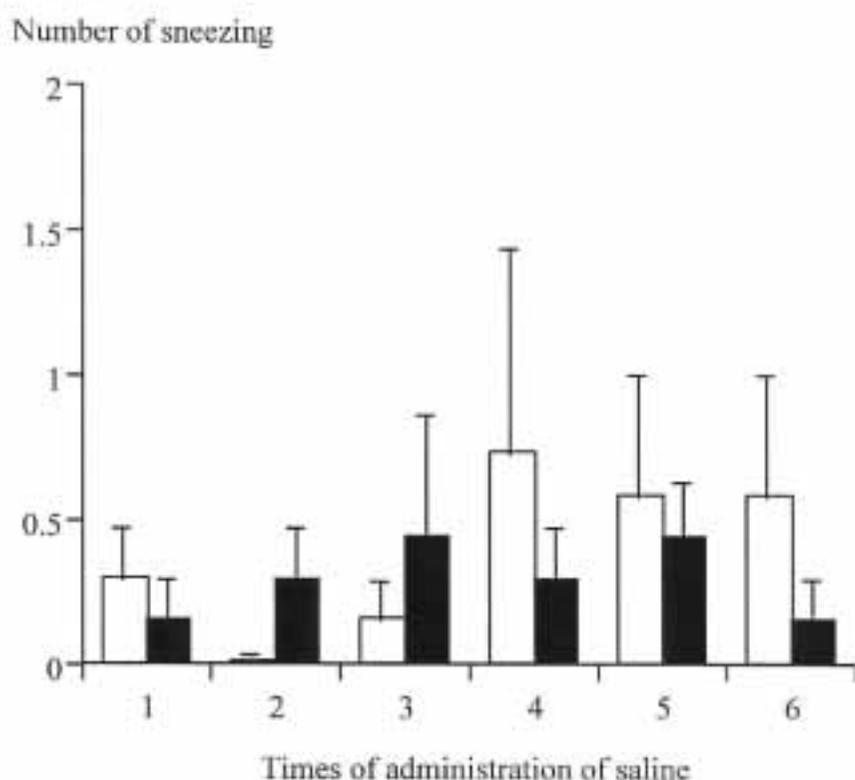
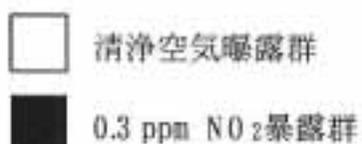


Fig.18 0.3 ppm NO₂曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対するくしゃみ回数に及ぼす影響

0.3 ppm NO₂曝露が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に及ぼす影響を検討した結果を示した。

清浄空気曝露群に比し、0.3ppm NO₂曝露群ではくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



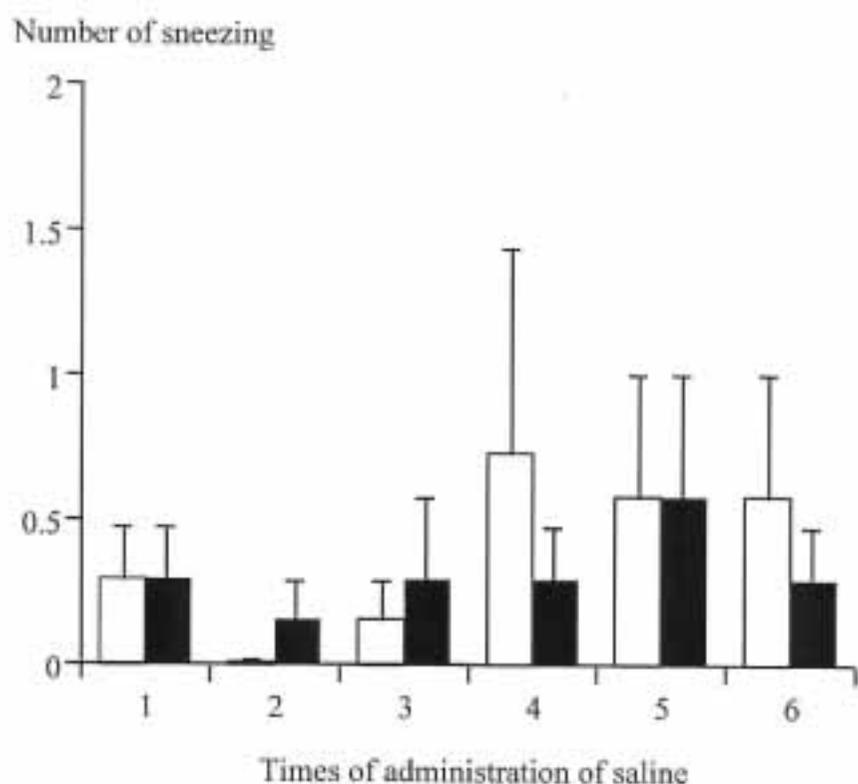
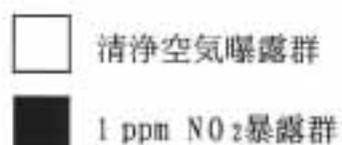


Fig.19 1 ppm NO₂曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対するくしゃみ回数に及ぼす影響

1 ppm NO₂曝露が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に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、1 ppm NO₂曝露群ではくしゃみ回数の有意な増加は見られなかった。



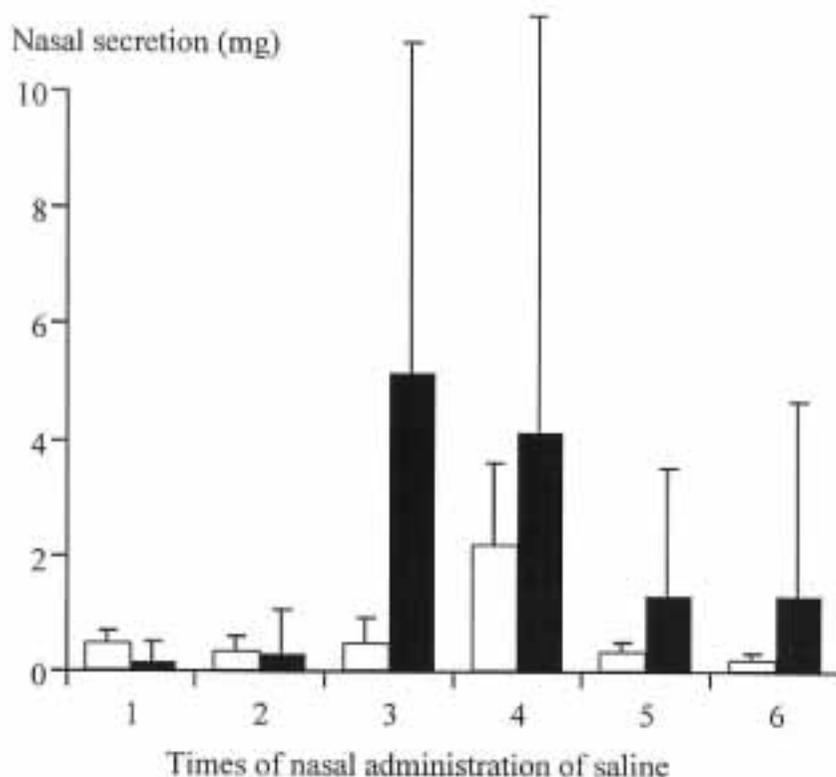
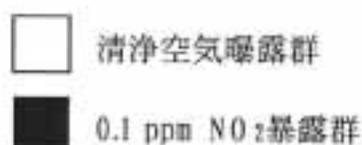


Fig 20 0.1 ppm NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響

0.1 ppm NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、0.1 ppm NO₂ 曝露では、鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。



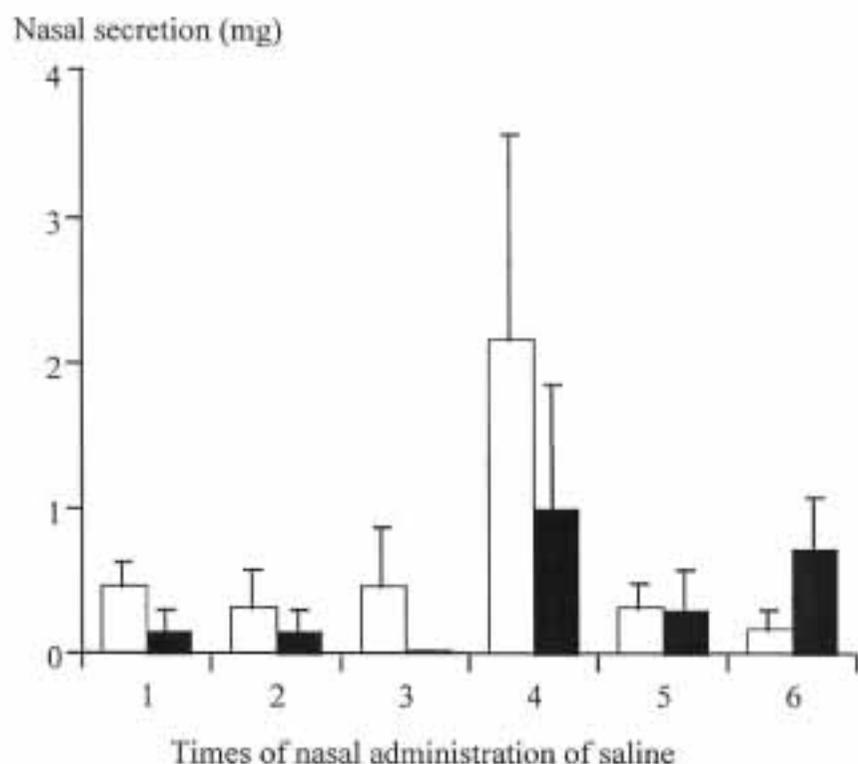
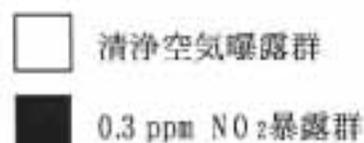


Fig 21 0.3 ppm NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響

0.3 ppm NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、0.3 ppm NO₂ 曝露では、鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。



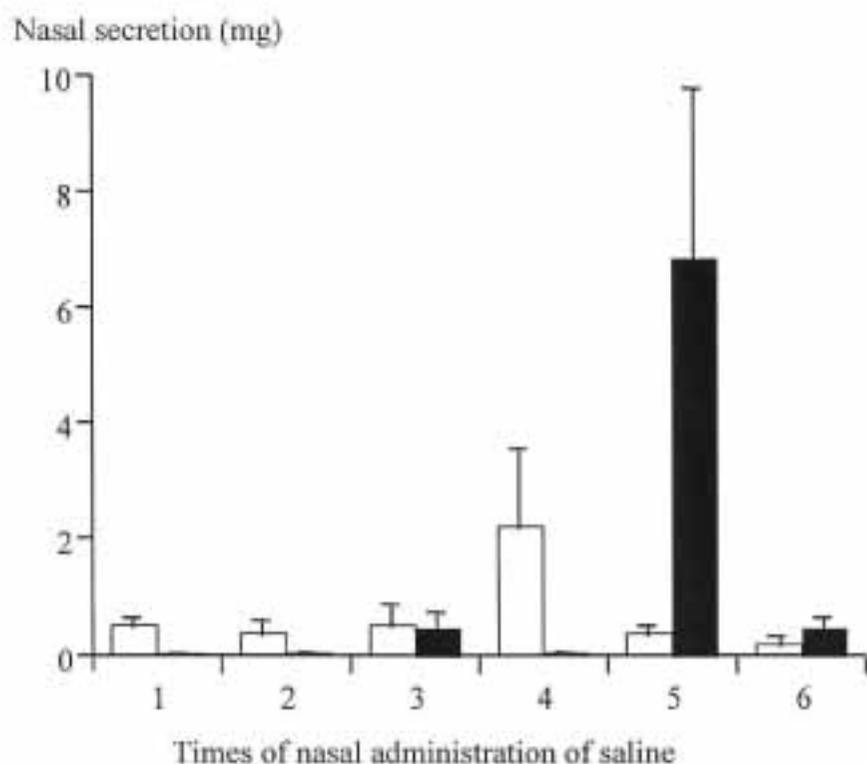
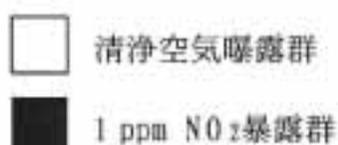


Fig 22 1 ppm NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響

1 ppm NO₂ 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を示した。清浄空気曝露群に比し、1 ppm NO₂ 曝露では、鼻汁分泌量の有意な増加は見いだされなかった。



2. ディーゼル排気ガス暴露の花粉抗原に対する免疫反応に及ぼす影響

藤巻 秀和（国立環境研究所環境健康部生体機能研究室・室長）

研究要旨

スギ花粉症の発症とディーゼル排気ガス(DE)暴露との関連について明らかにするために、スギ花粉抽出抗原(SBP)の点鼻投与により誘導されるアレルギー性炎症反応へのディーゼル排気ガス暴露の影響について検討した。ディーゼル排気粒子の影響を考察するために、DE暴露から粒子を除いた Gas 暴露群を設定して比較した。肺において、SBP 投与と5週間の 1.0 mg/m^3 の DE 暴露、あるいは Gas 暴露により肺胞洗浄液中への炎症性細胞の浸潤の増強がみられた。サイトカイン・ケモカインレベルでは差はみられなかった。SBP 抗原に対する免疫応答を抗原の侵入場所に近いリンパ節で調べたところ、細胞増殖の亢進、サイトカイン・ケモカイン産生の増加がみられた。DE 暴露と Gas 暴露を比較すると、 1.0 mg/m^3 のディーゼル粒子暴露濃度では、肺胞洗浄液中での炎症性細胞浸潤は Gas 暴露より DE 暴露で著しく、リンパ節での MCP-1 産生においても DE 暴露による増加が認められた。

研究協力者氏名：今井 透（東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科助教授）

宇井 直也（東京慈恵会医科大学耳鼻咽喉科助手）

A. 研究目的

スギ花粉症の発症とディーゼル排気ガス (DE) 暴露との関連について影響機構と量-反応関係を明らかにするために、花粉症の発症に重要な役割を果たしている免疫反応への DE 暴露の影響の解析を行っている。これまでに、動物実験やヒトでの研究から DE やディーゼル排気粒子 (DEP)、また DEP から抽出された芳香族炭化水素類の作用として、IgE や IgG₁ 抗体産生の亢進作用が認められること、サイトカインのインターロイキン 4 (IL-4) が蛋白、mRNA レベルで増加すること、鼻腔上皮細胞への好酸球の接着を促進すること、鼻腔反応性を亢進することなどが報告されている。定量的には、ディーゼル粒子濃度 1.0 mg/m^3 の 1 2 週間の DE 暴露で抗原特異的 IgE 産生の増強がおこること、 3.0 mg/m^3 の DE 暴露で組織学的に IL-5 の発現増加や好酸球の増加がみられること、 1.0 mg/m^3 の DE 暴露でモルモットにおけるヒスタミンに対する反応性の亢進がみられることが報告されている。しかしながら、大気環境に近い DE 濃度でのスギ花粉抗原の点鼻投与により誘導されるアレルギー性炎症反応への影響についてはあまり報告がみられない。一昨年度は、ディーゼル粒子濃度として 0.3 と 1.0 mg/m^3 の濃度で 6 週間暴露し、スギ花粉(JCP)そのものを点鼻投与したマウスの主に上気道での免疫反応の変動につい

て調べた。JCP のみの点鼻投与では効率の良い JCP 特異的免疫応答の誘導は困難であった。上気道でのリンパ節への影響としては、 1.0 mg/m^3 の濃度で CD4 陽性細胞の比率の低下がみられたが、CD4 陽性細胞数では差はみられなかった。昨年度は、ディーゼル排気ガスに含まれるガス状物質としての NO_2 の低濃度での上気道免疫系への影響について検討した。鼻部リンパ叢や頸部リンパ節(CLN)での T、B リンパ球重集団への影響はみられなかった。本年度は、ディーゼル粒子濃度として 1.0 mg/m^3 の濃度で5週間暴露し、スギ花粉抽出抗原(SBP)を点鼻投与したマウスの肺胞洗浄液と CLN でのサイトカイン、ケモカイン産生について検討した。また、DE 暴露から粒子状物質を除いたガス状物質 (Gas) 暴露の影響についても比較検討した。

B. 研究方法

1) 実験動物

3週令の BALB/c と C57BL/6J マウスを SLC より購入し、一群 8 匹で 4 週令より実験に用いた。今回の実験計画は、国立環境研究所の動物実験倫理安全委員会の承認を得ている。

2) DE 暴露と抗原投与

DE 暴露は、総排気量 2,740cc、4気筒直噴式ディーゼルエンジンを 1,500 回転/min、トルク 10Kg/m の条件で運転し、12 時間/日の間欠暴露での 5 週間暴露を行った。清浄空気暴露群、DE 暴露群、DE 暴露ガスからフィルターを通して除粒子(Gas)暴露群のそれぞれの汚染物質濃度は、表 1 のようであった。抗原としては、SBP (慈恵会医科大学遠藤朝彦先生供与) を暴露開始前に $100 \mu\text{g}/\text{mouse}$ の濃度で腹腔内投与し、以後 2 週後、5 週後に $50 \mu\text{g}/\text{mouse}$ の点鼻投与を行った。最終投与の翌日 (DE 暴露終了 1 日後)、エーテル麻酔下で採血、肺胞洗浄液、CLN の採取を行った。

3) サイトカイン・ケモカイン産生

肺胞洗浄液中の炎症性細胞の浸潤については、細胞数を算定後サイトスピン標本を作成し、ディフクイック (国際試薬) で染色して調べた。洗浄液中のケモカイン量は、monocyte chemoattractant protein (MCP)-1、macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α 、MIP-2 (いずれも R&D Systems) について ELISA キットで測定した。Eotaxin は、murine eotaxin (Pepro Tech EC LTD.)、anti-mouse eotaxin、biotinylated anti-mouse eotaxin antibody (R&D Systems) を用いてのサンドイッチ ELISA で測定した。リンパ節細胞は、細胞数を算定後脾臓細胞より調整した抗原提示細胞を加えて SBP と共に培養し、24、48 時間後の培養上清中サイトカイン・ケモカイン量を ELISA キットを用いて測定した。IL-4、IL-5、IFN- γ は Endogen 社のものを使用した。また、72 時間培養後 MTT アッセイにより細胞増殖を測定した。

4) フローサイトメトリー分析

CLN 中のリンパ球の表面抗原の分析は、PE 標識 anti-mouse CD3e hamster IgG、PE 標識 anti-mouse CD4 rat IgG2b、FITC 標識 anti-mouse CD45R/B220 rat IgG2a、FITC 標識 anti-mouse CD8a rat IgG2a と対照抗体を用いて Becton Dickinson FACSCalibur flow cytometer で行った。

5) 統計処理

データは平均値±SE (n=8) で表示し、対照群と暴露群との平均値の差の検定は、F 検定と Student の t-test で行った。

C. 研究結果

1) 低濃度 DE 暴露、あるいは Gas 暴露による炎症性細胞の肺への浸潤

BALB/c マウスの肺胞洗浄液中における炎症性細胞の変動が表 2 a に C57BL/6J マウスでの変動が表 2 b に示してある。BALB/c マウスにおける洗浄液中の総細胞数は、DE 暴露群と Gas 暴露群で有意に増加していた(**P<0.01)。DE 暴露群では、マクロファージ(Mφ)、好中球(Ne)、好酸球(Eo)の増加がみられ、Gas 暴露群では、マクロファージ、好中球、リンパ球(Ly)の増加がみられた(*P<0.05; **P<0.01)。C57BL/6J マウスにおける洗浄液中の総細胞数も、DE 暴露群と Gas 暴露群で有意に増加した(**P<0.01)。DE 暴露群では、マクロファージ、好中球、好酸球の増加がみられ、Gas 暴露群では、マクロファージのみの増加であった。C57BL/6J マウスでは Gas 暴露した BALB/c マウスでみられた好中球とリンパ球の増加は認められなかった。

肺胞洗浄液中のケモカイン産生では、両系統のマウスにおいて MCP-1 と MIP-1αの産生はみられなかった。MIP-2 産生においては、C57BL/6J マウスの DE 暴露群で増加傾向がみられたが、BALB/c マウスではほとんど変動がみられなかった (図 1 a)。Eotaxin 産生では、両系統のマウスの DE 暴露群で増加傾向が示されたが、統計学的に有意な増加ではなかった (図 1 b)。

2) 低濃度 DE 暴露、あるいは Gas 暴露のリンパ節への影響

リンパ節細胞の数においては、BALB/c マウスと C57BL/6J マウスとで対照群と比べ暴露による差はみられなかった (表 3)。BALB/c マウスでは、CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞の比率に差はみられなかった。また、CD3 陽性で T 細胞レセプターが α、β の細胞と γ、δ の細胞の比率においても有意な差はみられなかった。やや後者の比率が Gas 暴露群で低下の傾向がみられた。一方、C57BL/6J マウスでは Gas 暴露群における CD4 陽性細胞の有意な低下がみられ(*P<0.05)、CD3 陽性で T 細胞レセプターが α、β の細胞においても有意な低下が認められた。CD3 陽性で γ、δ のレセプターを保持する細胞の比率においては低下傾向がみられたが有意ではなかった。

抗原特異的なリンパ節細胞の増殖反応を調べると、BALB/c マウスの CLN 細胞は DE 暴露群、あるいは Gas 暴露群由来のもので有意な増加がみられた (図 2 a, *P<0.05; **P<0.01)。C57BL/6J マウスでは Gas 暴露群由来のもののみで増加がみられた (図 2 b, *P<0.05)。In vitro での SBP 刺激による CLN 細胞からのサイトカイン産生においては、IL-4 と IFN- γ においては産生がみられなかった。48 時間後の IL-5 産生では、C57BL/6J マウスの -SBP の Gas 暴露群で有意な増加がみられた (図 3, P<0.05)。BALB/c マウスでは、+SBP の Gas 暴露群で増加が認められた (P<0.05)。DE 暴露群ではいずれも有意な IL-5 産生の増加はみられなかった。

ケモカイン産生に関して、BALB/c マウスの CLN における MCP-1 産生は 24 時間後では SBP 刺激した DE 暴露群、Gas 暴露群で有意な増加が認められた (図 4 a, **P<0.01)。48 時間後では、-SBP の DE 暴露群、Gas 暴露群と +SBP の DE 暴露群で有意な増加がみられた (図 4 b, *P<0.05; **P<0.01)。一方、C57BL/6J マウスの CLN における 48 時間後の MCP-1 産生は SBP 抗原刺激の有無にかかわらず DE 暴露群、Gas 暴露群で対照群と比べ差はなかった (図 5)。MIP-1 α 産生では、BALB/c マウスの場合、24 時間後では +SBP の Gas 暴露群で有意な増加がみられ (図 6 a, *P<0.05)、48 時間後では -SBP の DE 暴露群と Gas 暴露群とで有意に増加した (図 6 b, **P<0.01)。48 時間後の +SBP の Gas 暴露群でも増加傾向はみられた。C57BL/6J マウスの MIP-1 α 産生では、48 時間後の Gas 暴露群で -SBP と +SBP でともに有意な増加が認められた (図 7, *P<0.05)。

D. 考察

一昨年、昨年とスギ花粉そのものを点鼻する実験系で低濃度 DE 暴露、あるいは NO₂ 暴露のマウスの上気道での免疫系への影響を検索した。しかしながら、抗原特異的反応の誘導が弱いために汚染物質暴露による影響はほとんど観察できなかった可能性が考えられた。また、新たな評価手法の検討の必要性も示唆された。そこで、本年度は、抗原としてスギ花粉そのものより外来蛋白としてより生体で認識が可能な花粉抽出液を用いた。また、サイトカインとともに炎症性細胞の誘導や細胞間での情報伝達にも関与しているケモカインの産生について検討した。さらに、DE 暴露の影響に関して感受性要因についても検討するために、IgE 反応性の高い BALB/c マウスと低い C57BL/6J マウスを用いて比較した。

1 mg/m³ の DE 暴露により肺胞洗浄液中への炎症性細胞の顕著な浸潤が認められ、Gas 暴露群と比較すると DE 暴露群の方が増加が著しかった。BALB/c マウスと C57BL/6J マウスでの DE 暴露、Gas 暴露に対する反応性の比較では、Gas 暴露に対する反応性に違いがみられた。BALB/c マウスのほうではマクロファージ以外にも好中球、リンパ球が増加したが、C57BL/6J ではマクロファージのみであった。肺胞洗浄液中のサイトカイン・ケモカイン産生では、両マウス間で暴露に対する反応の差はみられなかった。

次に、抗原が生体内に侵入するときに重要な防御を担っている局所の免疫反応への影響を調べるためにリンパ節でのリンパ球集団の動きや機能について検討した。その結果、SBP 抗原に対する増殖反応では、BALB/c マウスでは DE 暴露と Gas 暴露で増加がみられたが、C57BL/6J マウスでは Gas 暴露でのみ増加がみられ系統間差が認められた。In vitro でのサイトカイン産生では、好酸球の誘引や活性化に関与する IL-5 産生が Gas 暴露で有意に増加する結果が得られた。一方、ケモカイン産生においては、BALB/c マウスで MCP-1 産生は DE 暴露の方が Gas 暴露に比べより増加する傾向がみられた。C57BL/6J マウスでは MCP-1 産生に差はみられなかった。MIP-1 α 産生では、両系統のマウスで DE 暴露に比べより Gas 暴露で増加する傾向がみられた。これまでに、ディーゼル排気粒子や排気ガス暴露したマウスでサイトカインレベルでは、IgE 産生の亢進に関与する Th2 タイプの IL-4 や IL-5 産生が増加し、反対に IgE 産生に抑制的に働く Th1 タイプの IFN- γ 産生は抑制されるか変化がみられないことが報告されている。最近になって、炎症性細胞の誘導に関与するケモカインにおいても、MCP-1 は Th2 タイプの反応を増強させ、MIP-1 α は Th1 タイプの反応の増強に関与することが報告されている。今回のリンパ節細胞でのケモカイン産生の結果は、DE 暴露では MCP-1 産生が促進され、Gas 暴露では MIP-1 α 産生が促進される傾向を示唆するものであり、DE 暴露による花粉抗原に対するアレルギー性炎症反応への影響を評価する上で、また、DE 暴露に含まれる粒子状物質とガス状物質の役割を明らかにする上でも重要な知見と思われる。

E. 結論

低濃度 DE 暴露とスギ花粉抗原である SBP の点鼻投与により肺への炎症性細胞の浸潤、及び局所のリンパ節での細胞増殖の促進、ケモカイン産生の亢進がみられた。また、粒子を除いた Gas 暴露でも同様な傾向がみられたが、ケモカインの種類やマウスの系統の違いにより増強作用の程度は異なっていた。

F. 研究発表

1) 論文発表

- 1-1 藤巻秀和：アレルギーと環境。ファルマシア 2000；36：207-210.
- 1-2 藤巻秀和：大気汚染物質の免疫系への影響。アレルギー・免疫 2000；7：70-76.
- 1-3 藤巻秀和：ディーゼル排気微粒子と Th1/Th2 バランス。臨床免疫 2000；34：747-751.
- 1-4 藤巻秀和：スギ花粉による感作と環境因子。アレルギー科 2001；11：103-108.
- 1-5 Fujimaki H, Ui N, Ushio H, Nohara K, Endo T: Roles of CD4⁺ and CD8⁺ T-cells in adjuvant activity of diesel exhaust particles in mice. Int Arch Allergy Immunol 2001(in press)
- 1-6 Fujimaki H, Ushio H, Nohara K, Ui N: Induction of the imbalance of helper T-

cell functions in mice exposed to diesel exhaust. *The Science of the Total Environ* 2001(in press)

2) 学会発表

- 2-1 宇井直也、藤巻秀和、今井 透、森山 寛：スギ花粉点鼻マウスへの LPS 投与の影響。 第 12 回日本アレルギー学会春季臨床大会 2000；293.
- 2-2 藤巻秀和、宇井直也、遠藤朝彦：ディーゼル排気暴露による NC/Nga マウスの免疫応答修飾。 第 41 回大気環境学会 2000；263
- 2-3 藤巻秀和、宇井直也、遠藤朝彦：大気汚染物質暴露によるマウスケモカイン産生の亢進。 第 41 回大気環境学会 2000；264.
- 2-4 宇井直也、藤巻秀和、野原 修、今井 透、遠藤朝彦、森山 寛：マウスのスギ花粉抗原に対する耐性誘導の検討。 第 50 回日本アレルギー学会 2000；959.
- 2-5 藤巻秀和、宇井直也、遠藤朝彦：ディーゼル排気暴露の CC ケモカイン産生に及ぼす影響。 第 50 回日本アレルギー学会 2000；981.
- 2-6 Fujimaki H, Ui N, Fujimiya Y, Endo T: Allergic inflammation of the airways in mice exposed to diesel exhaust. XVII International Congress of Allergology and Clinical Immunology 2000; 107.

G. 英文アブストラクト

Effect of diesel exhaust on cedar pollen-induced immune response in mice

Hidekazu Fujimaki

To clarify the relationship between induction of cedar pollinosis and inhalation of diesel exhaust, the effects of whole diesel exhaust (DE) and diesel gas exhaust (Gas) excluding particulate matters on cedar pollen-induced immune response were investigated. Exposure to DE or Gas for 5 weeks in BALB/c and C57BL/6J mice immunized with sugi basic protein induced inflammatory cells in lung lavage fluid, but there is no significant induction at cytokine and chemokine levels. Cell proliferative response in cervical lymph node cells from mice exposed to DE and Gas was increased. Interleukin -5 and monocyte chemoattractant protein-1 production were significantly greater in cervical lymph node cells from DE-and Gas-exposed mice than it was in the control. Different pattern of cytokine and chemokine production in cervical lymph node cells from different strain of mice was induced by exposure to DE and Gas.

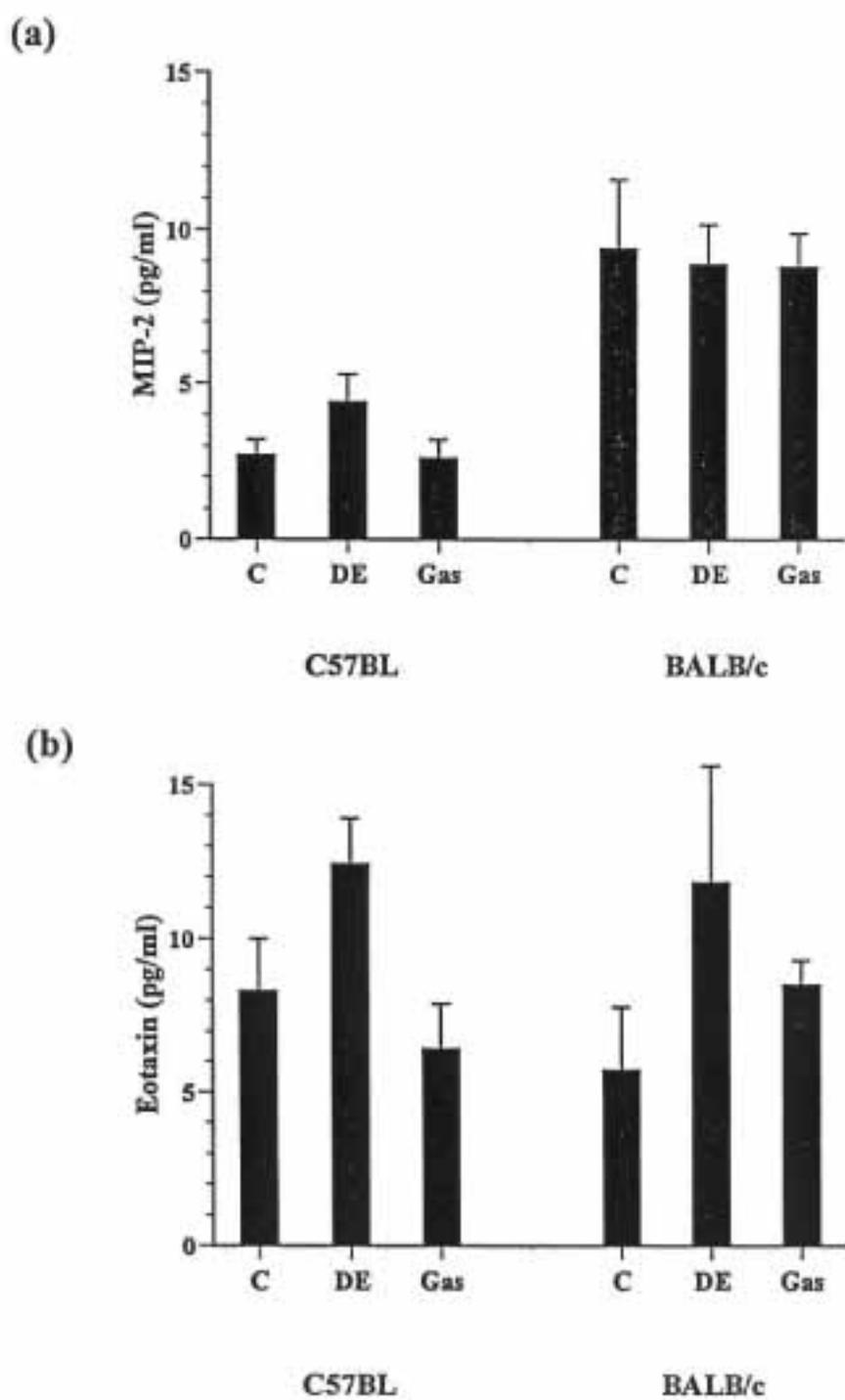


図1 SBP 点鼻投与と DE 暴露、Gas 暴露したマウスの肺胞洗浄液中の(a)MIP-2、
(b)Eotaxin 産生

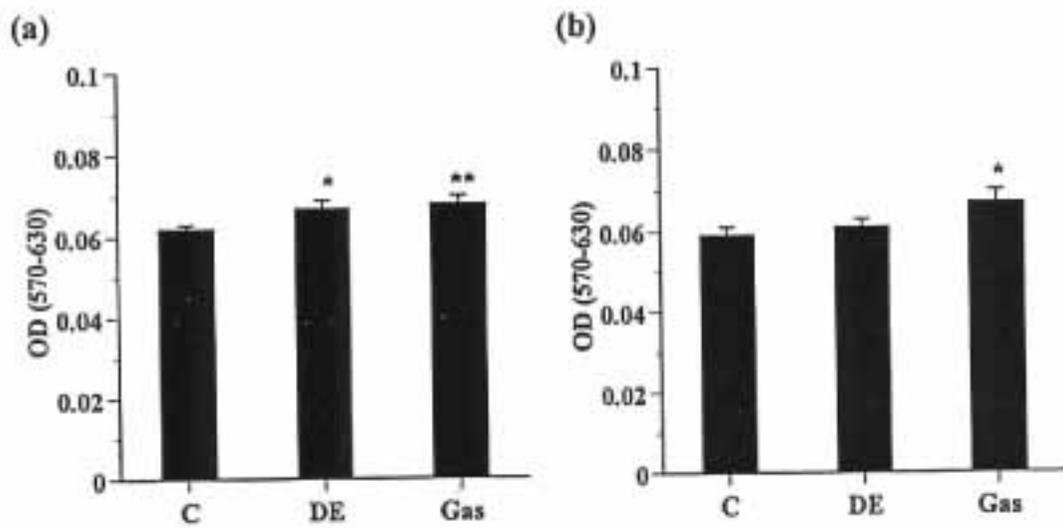


図2 DE暴露、Gas暴露した(a)BALB/cと(b)C57BL/6JマウスにおけるSBP特異的リンパ節細胞の増殖反応

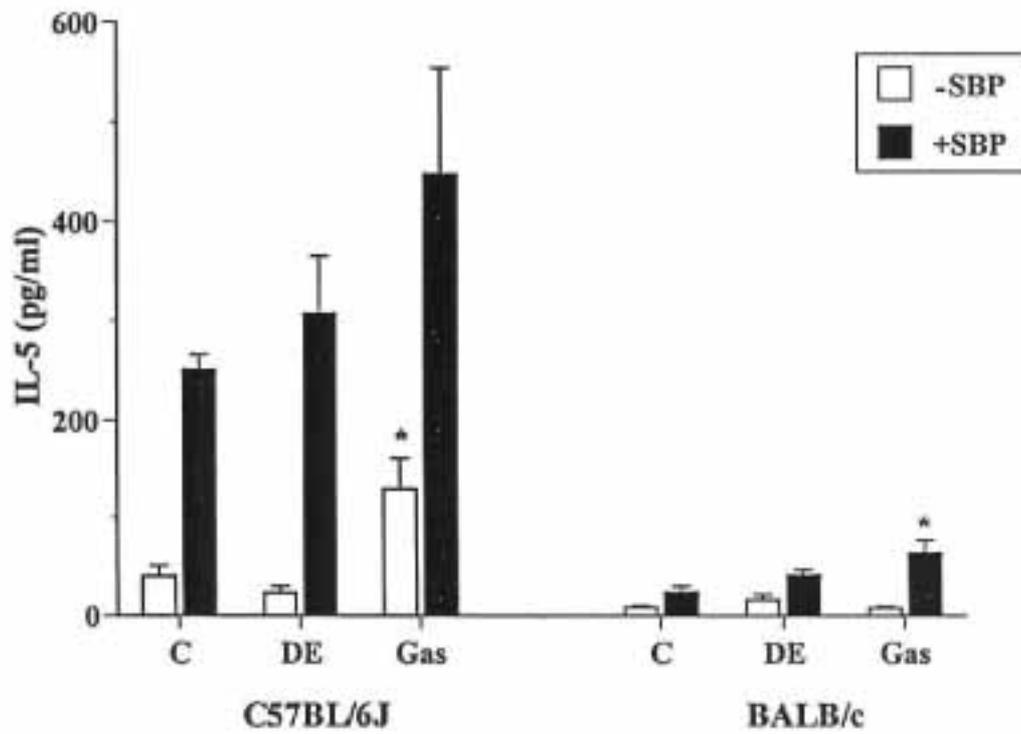


図3 DE暴露、Gas暴露したBALB/cとC57BL/6Jマウスのリンパ節細胞からのSBP刺激によるIL-5産生

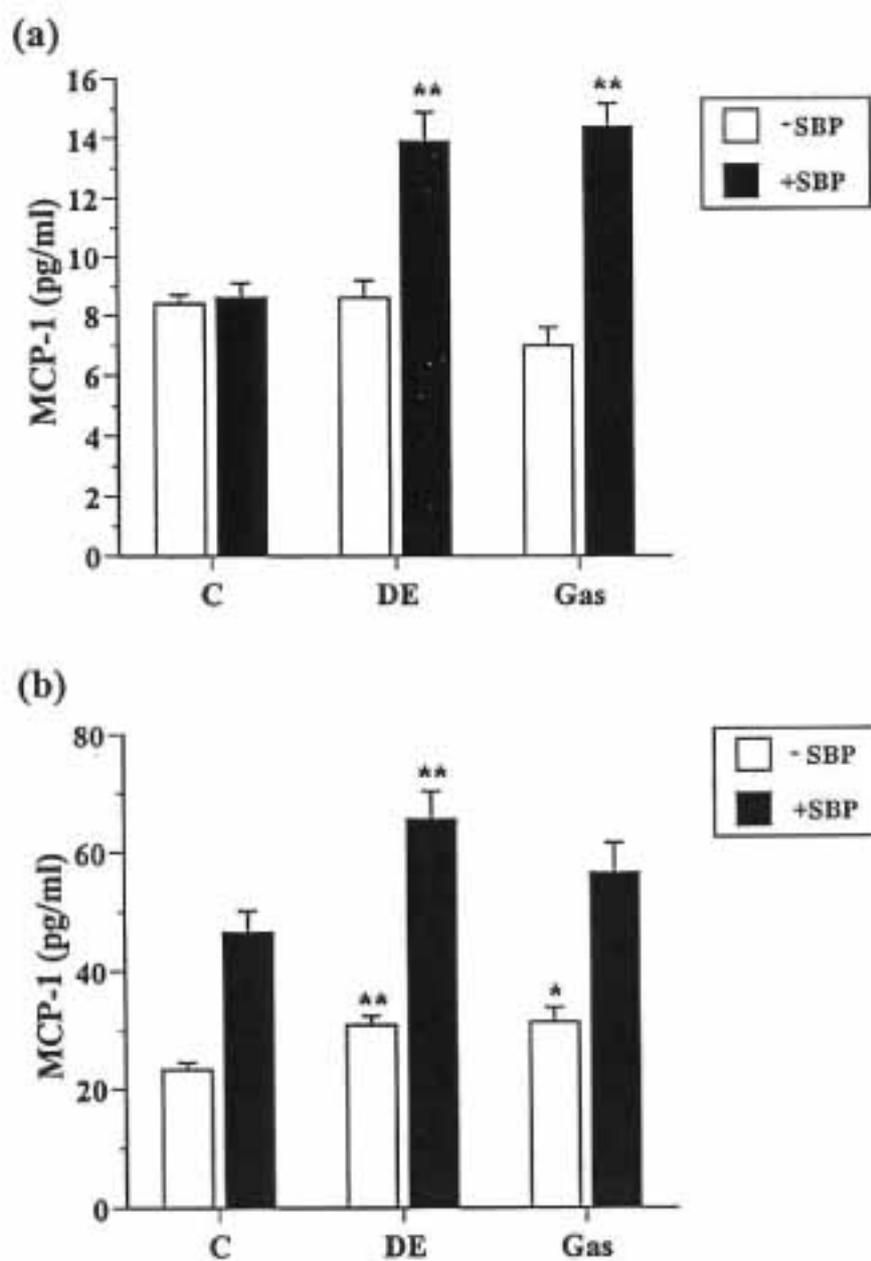


図4 DE暴露、Gas暴露したBALB/cマウスのリンパ節細胞からのSBP刺激による(a)24時間後と(b)48時間後のMCP-1産生

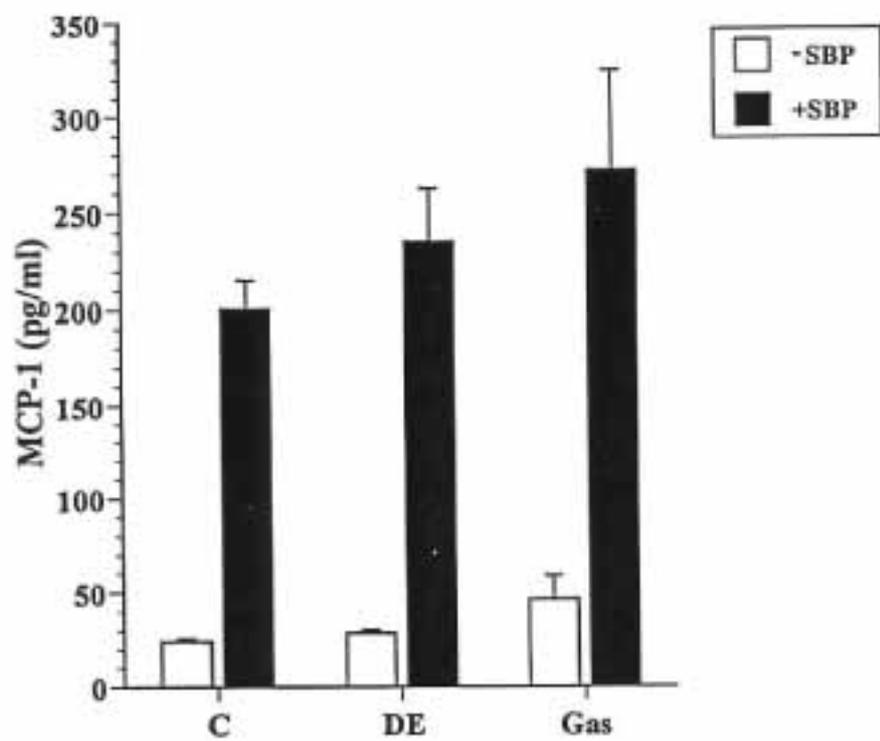


図5 DE暴露、Gas暴露したC57BL/6JマウスのCLNにおける48時間後のMCP-1産生

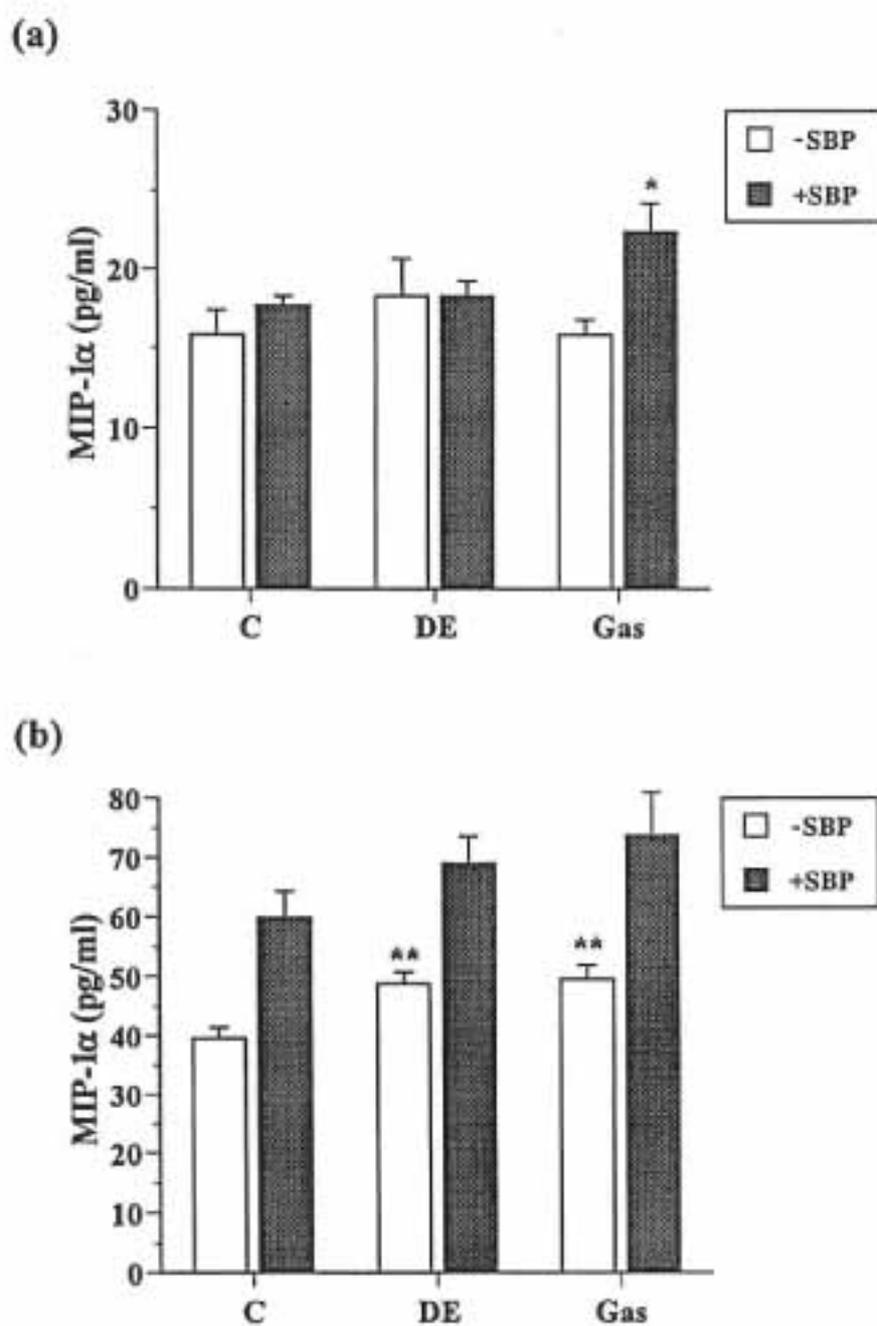


図6 DE暴露、Gas暴露したBALB/cマウスのリンパ節細胞からのSBP刺激による(a) 24時間後と(b) 48時間後のMIP-1 α 産生

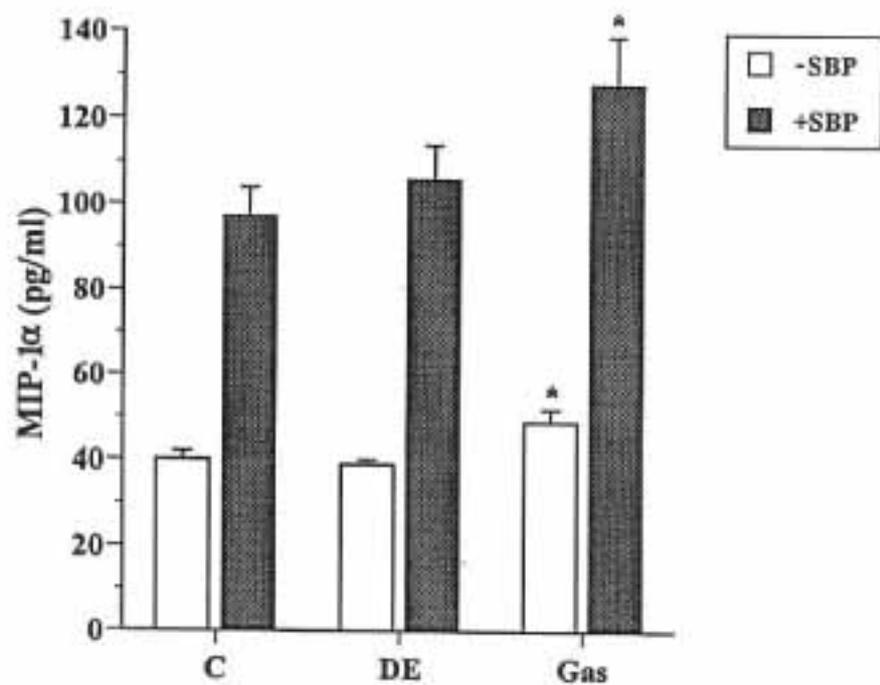


図7 DE 暴露、Gas 暴露した C57BL/6J マウスの CLN における 48 時間後の MIP-1 α 産生

3. ディーゼル排気暴露がアレルギー性結膜炎に及ぼす影響

ーディーゼル排気 (DE) とディーゼル排気中ガス状成分 (除粒子) の比較ー

細川 友和 (星薬科大学 薬学教育研究センター)

小林 隆弘 (国立環境研究所 環境健康部)

樺島麻里子 (筑波大学 バイオシステム科)

A. はじめに

近年、花粉症、アトピー性皮膚炎に代表されるアレルギー性疾患が増加しており、大きな社会問題となっている。我国における花粉症はその 80%以上が日本スギによるものであるといわれている¹⁾。これらアレルギー性疾患の増加の要因として、大気汚染物質との関連が指摘されている²⁾。

我々はこれまでに、アレルギー性結膜炎に及ぼす 0.05、0.1、0.3 および 1.0 mg/m³ の粒子濃度の DE 暴露を 35 日間行いその影響を検討した。その結果、DE の 0.05 mg/m³ の低濃度ではアレルギー性結膜炎に影響を及ぼさないが、0.1 mg/m³ の濃度では結膜血管透過性に影響はみられないものの、結膜炎スコアについては暴露 4 週目で増強が認められた。0.3 および 1.0 mg/m³ の DE 濃度は単独では炎症スコアおよび結膜血管透過性に影響を与えないが、OVA 感作動物における結膜炎スコアおよびアレルギー性結膜炎時の血管透過性亢進に対する著明な増強が認められた (平成 8、9、10 年度報告書)。したがって、これまでの結果を総合して考えると DE の 0.1 mg/m³ の濃度がアレルギー性結膜炎の増悪因子として最小濃度である可能性が考えられる。昨年度は、ディーゼル排気中のガス状物質である NO₂ に焦点を絞って検討した。NO₂ は喘息患者において気道過敏性を増大するなど、呼吸器系における NO₂ の関与については多くの報告がある³⁾¹⁰⁾ が、NO₂ がアレルギー性結膜炎の増悪因子として働くか否かについては全く報告がないことから、モルモットに NO₂ 暴露を行いながら抗原の点眼感作によるアレルギー性結膜炎を起こさせ、NO₂ 暴露の影響を検討した。その結果、NO₂ は単独では結膜内色素漏出量に影響を与えない濃度でも、OVA 感作動物において 3 および 10 ppm の濃度の暴露により結膜内色素漏出量を増強することが明らかとなった。

今年度は、ディーゼル排気中の粒子 (DEP) の影響を検討するために、粒子の存在するディーゼル排気とフィルターで粒子を除去したディーゼル排気中ガス状成分 (除粒子) とを比較検討した。ディーゼル排気の濃度はこれまでにデータの蓄積がある 1.0 mg/m³ (DEP 濃度として) とした。

B. 実験方法

1) 実験動物

実験には体重 414~550 g の Hartley 系雄性モルモットを用いた。モルモットは室温 $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿室で 12 時間サイクルの明暗条件下で、また標準的なモルモット餌 (ORC4, Oriental Yeast Co. LTD, 東京) および滅菌水を与えて飼育した。

モルモットは 1 群 6 匹とし、合計 36 匹を用いた。

2) ディーゼル排気 (DE) の暴露

DE の暴露は、国立環境研究所の AC 系暴露チャンバーを用いて行った。ディーゼル排気ガスは、総排気量 2,740 cc、4 気筒直噴式ディーゼルエンジンを用い、エンジンを動力計上で定常運転 (回転数 1,500 rpm, トルク 10 kg/m) して供給した。燃料は硫黄分 0.2% の市販軽油を使用した。

排出する DE を清浄空気で希釈 (DE 中の DEP 濃度として 1.0 mg/m^3) し、22 時から翌日 10 時までの 12 時間の DE 間欠暴露を 35 日間行った。

第 1 チャンバー (ACC) には、清浄空気を供給した。第 2 チャンバー (ACG-1) には、DEP 濃度として 1.0 mg/m^3 の DE を暴露した。第 3 チャンバー (ACG-2) には、フィルターを用いて粒子を除去した DE (除粒子 DE) を暴露した。

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)、(MI.9841A Monitor Labs Inc, Germany) を用いて測定した。表 1 に空気および暴露排気のガス濃度分析結果を示した。

3) アレルギー性結膜炎の誘発

アレルギー性結膜炎は ovalbumin (OVA) の点眼による能動感作および点眼チャレンジにより誘発した。OVA 抗原溶液 (0.75%) は、1 回に $10 \mu\text{l}$ とし、動物の両眼に 7 日間隔で計 6 回点眼した (図 1)。

2 回目 (初回感作から 1 週間後) から 5 回目まで、充血、浮腫等の結膜炎症状を点眼後 30 分間観察し、表 2 に示した結膜炎の症状に対するスコアにより評価した。

4) 結膜内血管透過性の測定

アレルギー性結膜炎の指標として、結膜内への Evans blue 色素の漏出を測定した。

(1) 実験スケジュール

モルモットを urethane (1.6 g/kg , i.p.) 麻酔下で背位固定し、Evans blue 色素 (EB, 30 mg/kg , i.v.) の投与後 20 分に heparin 溶液 (600 U/kg , i.v.) を投与してから瀉血のために灌流液を用いて頭部の灌流を行った (図 2)。

(2) 灌流および結膜組織の摘出

動物を開胸後、18 ゲージ針を左心室に刺入し、100 ml の灌流液を灌流ポンプ (東京理科器械, TYPE1011) を用いて灌流した。この際、灌流した液が体外に排出されるようにするために右心耳を切開した。また、灌流液が上半身のみには流れるように胸部下行大動脈を鉗子を用いて閉塞した。

灌流液の調製は次のように行った。すなわち、60℃の温浴上で 0.05 M sodium citrate 水溶液を約 100 ml 採り、paraformaldehyde の 5 g を溶解した。次に、これに 0.05 M citric acid monohydrate 水溶液および 0.05 M sodium citrate 水溶液を徐々に加えて pH 3.5 に調整し、全量を 500 ml とした。

灌流終了後、眼瞼の周囲の毛を刈り落とし、眼瞼周囲を幅約 5 mm に切断してから眼瞼の先を約 2 mm 残して眼瞼周囲を切り落とした。摘出した結膜組織はプラスチックの容器に入れて直ちに湿重量を測定した。

(3) 結膜内色素漏出量の測定

色素漏出量の測定は Katayama ら¹¹⁾の方法に準じて行った。摘出した組織は湿重量を測定後、細切し、試験管内に入れた後、1 M KOH 溶液 2 ml を加え、パラフィルムで蓋をしてから 37℃で、24 時間インキュベートして溶解させた。その後、Evans blue 色素を抽出するために 0.2 M リン酸・アセトン混液 (5:13) 3 ml を加え、2 時間室温で放置し、遠心分離 (3000 rpm, 15 分) 後、波長 620 nm で上清の吸光度を測定した。濃度はあらかじめ Evans blue 色素の標準溶液により作製した検量線を用いて求めた (図 3)。

5) 血清中 IgG₁ 濃度の測定

結膜内色素漏出量の測定前に麻酔下の動物の心臓穿刺により採血した。採取した血液は、3,000 rpm、30 分間で遠心分離し、血清を分取した。

血清中の抗原特異的 IgG₁ 濃度は EIA サンドイッチ法を用いて測定した。測定にはモルモット Total IgG₁ 測定キット (森永生科学研究所) を用いた。

6) 使用薬物

実験には次の薬物を使用した: urethane (Sigma), Evans blue (Merck), heparin sodium (ノボインダストリー), citric acid (和光純薬), sodium citrate (和光純薬), paraformaldehyde (和光純薬), potassium hydroxide (和光純薬), phosphoric acid (和光純薬), acetone (和光純薬)

7) 統計処理

実験結果は平均±標準誤差 (S.E.) で表した。1 群はすべて 6 匹とした。統計学的処理は、Dunnnett 法による多重検定を行った。

C. 実験結果

1) アレルギー性結膜炎の症状に対するスコア

Air 群、DE の 1.0 mg/m³ 群、DE の除粒子群について暴露実験を行った (1 群 6 匹)。OVA の対照である生理食塩液を点眼した動物において Air 群、DE の 1.0 mg/m³ 群、DE の除粒子群の各群の結膜炎症状スコアは 5 項目の合計で表した。4 週間の観察期間において 2 週目まではそれぞれ 0 であったが、3 週目から 4 週目においては 0.5 から 3.2 の間を推移し、DE の 1.0 mg/m³ 群の 4 週目では有意な変化を示した (図 4)。

一方、OVAで感作した動物におけるスコアは、Air群、DEの1.0 mg/m³群、DEの除粒子群の各群とも1週目から4週目においてはAir群で0.5±0.2 (n=6) ~ 5.3±1.1 (n=6)、DEの1.0 mg/m³群で1.5±0.2 (n=6) ~ 8.2±1.0 (n=6)、DEの除粒子群で1.3±0.3 (n=6) ~ 6.5±0.5 (n=6)であり、Air群よりもDEの1.0 mg/m³群、DEの除粒子群で強く認められた(図5)。

2) 結膜内色素漏出量

結膜内色素漏出量を検討した結果(1群6匹)を図6および図7に示した。

生理食塩液を点眼した動物における結膜内色素漏出量は、Air群で6.2±0.8 ng/mg tissue (n=6)、DEの1.0 mg/m³群で5.1±0.6 ng/mg tissue (n=6)、DEの除粒子群で5.5±1.3 ng/mg tissue (n=6)であり、各群の間に有意な差がみられなかった(図6)。

一方、OVA感作動物のアレルギー性結膜炎における結膜内色素漏出量は、Air群で12.6±1.3 ng/mg tissue (n=6)、DEの1.0 mg/m³群で29.9±4.3 ng/mg tissue (n=6)、DEの除粒子群で16.6±2.3 ng/mg tissue (n=6)であり、Air群と比較してDEの1.0 mg/m³群で色素漏出量の有意な増強が認められた(図7)。

3) 血清中IgG₁濃度

生理食塩液を点眼した動物における血清中IgG₁濃度は、Air群で59.7±2.4 mg/ml tissue (n=6)、DEの1.0 mg/m³群で49.5±4.3 mg/ml (n=6)、DEの除粒子群で64.3±4.1 mg/ml (n=6)であり、各群の間に有意な差がみられなかった(図8)。

一方、OVA感作動物のアレルギー性結膜炎における血清中IgG₁濃度は、Air群で87.7±10.9 mg/ml (n=6)、DEの1.0 mg/m³群で111.0±11.9 mg/ml (n=6)、DEの除粒子群で98.0±12.0 mg/ml (n=6)であり、Air群と比較してDEの1.0 mg/m³群で増加傾向がみられた(図9)。

D. 考 察

ディーゼル排気がアレルギー性結膜炎を増悪することが、これまでの我々の検討で示唆される。この増悪に関与する要因として、ディーゼル排気中の粒子状成分とガス状成分が挙げられる。昨年は、ディーゼル排気中のガス状成分の1つであるNO₂について検討を行い、その結果、NO₂は結膜内色素漏出量に単独では影響を与えない濃度でも、OVA感作動物において3および10 ppmの濃度で結膜血管透過性を増強することが明らかとなった。そこで、今年度はディーゼルエンジンからの排気ガスを2つにわけ、一方は粒子が存在する状態(DEP濃度として1.0 mg/m³)とし、他方はフィルターを通して粒子を除去した排気ガスのみとして暴露実験を行った。さらに、エンザイムイムノアッセイにより血清中のIgG₁濃度を測定した。

Air群、DEの1.0 mg/m³群、DEの除粒子群につき、それぞれOVA点眼処置群、OVAの対照として用いた生理食塩液の点眼群の計6群について暴露実験を行った結果、生理食塩液を点眼した群においては、Air群、DEの1.0 mg/m³群、DEの除粒子群ともに結膜炎症状スコア、結膜内色素漏出量および血清中のIgG₁濃度に有意差はみられなかった。一方、OVA感作動物のアレルギー性結膜炎における結膜炎症状スコアおよび結膜内色素漏出量については、DEの1.0 mg/m³暴露群でAir群と比較して増強が認められた。しかし、DEの除粒子群では

結膜炎症状スコアにおいて一部の時期に Air 群と比較して増強がみられたが、結膜内色素漏出量については Air 群と比較して有意な差はみられず、粒子を除去することによりアレルギー性結膜炎に対する増悪はみられなくなった。

昨年の NO₂ 暴露実験では、NO₂ は 3 ppm の濃度でアレルギー性結膜炎における血管透過性の亢進を増強した。今回暴露した DE 除粒子群の NO₂ 濃度は 2.89±0.14 ppm であり、ほぼ 3 ppm の濃度であったが、アレルギー性結膜炎の血管透過性を増強しなかった。この相違については、今回の暴露が 22 時から翌日 10 時までの 12 時間間欠暴露であったのに対し、昨年の NO₂ 暴露実験は 24 時間の連続暴露であったことの違いに起因するものと考えられる。いずれにしても、NO₂ は暴露濃度や暴露時間の増加によりアレルギー性結膜炎の血管透過性を増悪する因子となりえると思われるが、少なくとも今回の結果から、アレルギー性結膜炎を増悪する要因として DE 中のガス状成分よりも粒子の方がより強く関与することが考えられる。

Air 群、DE の 1.0 mg/m³ 群、DE の除粒子群のそれぞれの動物から採取した血清中の抗原特異的 IgG₁ 濃度を EIA 法で測定した結果、OVA 感作動物において DE の 1.0 mg/m³ 群で Air 群と比較して増加傾向がみられたが、Air 群、DE の 1.0 mg/m³ 群および除粒子群の間で有意な差はみられなかった。したがって、DE の 1.0 mg/m³ 群で認められたアレルギー性結膜炎の増悪に血清中すなわち全身レベルでの IgG₁ 濃度が直接関与していることは考えにくい。本実験が眼瞼結膜局所での感作・チャレンジであることから、今後は結膜組織部位における IgG₁ 濃度を検討することにより、アレルギー性結膜炎の増悪と抗体産生との関連を検討する必要があると考える。

以上、ディーゼル排気がアレルギー性結膜炎を増悪する要因として、ディーゼル排気中のガス状成分よりも粒子の方がより強く関与していることが示唆される。

参考文献

- 1) 斉藤洋三：スギ花粉症と大気汚染。治療 74, 73-75 (1992)
- 2) 小林隆弘：大気汚染とアレルギー。呼吸 14, 342-352 (1995)
- 3) Strand, V., Salomonsson, P., Lundahl, J. and Bylin, G. : Immediate and delayed effects of nitrogen dioxide exposure at an ambient level on bronchial responsiveness to histamine in subjects with asthma. *Eur. Respir. J.* 9, 733-740 (1996)
- 4) Salome, C.M., Brown, N.J., Marks, G.B., Woolcock, A.J., Johnson, G.M., Nancarrow, P.C., Quigley, S. and Tjong, J. : Effect of nitrogen dioxide and other combustion products on asthmatic subjects in a home-like environment. *Eur. Respir. J.* 9, 910-918 (1996)
- 5) Vagaggini, B., Paggiaro, P.L., Giannini, D., Franco, A.D., Cianchetti, S., Carnevali, S., Taccola, M., Bacci, E., Bancalari, L., Dente, F.L. and Giuntini, C. : Effect of short-term NO₂ exposure on induced sputum in normal, asthmatic and COPD subjects. *Eur. Respir. J.* 9, 1852-1857 (1996)
- 6) Strand, V., Rak, S., Svartengren, M. and Bylin, G. : Nitrogen dioxide exposure enhances asthmatic reaction to inhaled allergen in subjects with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 155, 881-887 (1997)

- 7) Studnicka, M., Hackl, E., Pischinger, J., Fangmeyer, C., Haschke, N., Kuhr, J., Urbanek, R., Neumann, M. and Frischer, T. : Eur. Respir. J. 10, 2275-2278 (1997)
- 8) Strand, V., Svartengren, M., Rak, S., Barck, C. and Bylin, G. : Repeated exposure to an ambient level of NO₂ enhances asthmatic response to a nonsymptomatic allergen dose. Eur. Respir. J. 12, 6-12 (1998)
- 9) Chauhan, A.J., Krishna, M.T., Frew, A.J. and Holgate, S.T. : Exposure to nitrogen dioxide (NO₂) and respiratory disease risk. Rev. Environ. Health 13, 73-90 (1998)
- 10) Jenkins, H.S., Devalia, J.L., Mister, R.L., Bevan, A.M., Rusznak, C. and Davies, R.J. : The effect of exposure to ozone and nitrogen dioxide on the airway response of atopic asthmatics to inhaled allergen: dose- and time-dependent effects. Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 160, 33-39 (1999)
- 11) Katayama, S., Shioyama, H. and Ohtake, S. : A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rat. Microbiol. Immunol. 22, 89-101 (1978)

表1 空気および暴露排気のガス濃度分析結果

		SPM (mg/m ³)	SPM (counts)	NO _x (ppm)	NO (ppm)	NO ₂ (ppm)	SO ₂ (ppm)	CO ₂ (ppm)
Air 群	Mean	---	7.13	0.038	0	0	0	532.45
	SE	---	0.04	0.002	0	0	0	8.29
DEP 群	Mean	0.963	722.02	13.41	11.04	2.24	0.16	1585.88
	SE	0.038	28.63	0.60	0.49	0.10	0.01	45.29
除粒子 群	Mean	0.039	32.58	13.27	10.34	2.89	0.13	1602.53
	SE	0.001	1.13	0.63	0.50	0.14	0.01	49.59

表2 結膜炎症状のスコア表

結膜炎症状	正常 (0)	軽微 (+1)	軽度 (+2)	中等度 (+3)	重度 (+4)
結膜充血	なし	わずかな充血	容易に判別できる充血	明確な充血	拡散する充血
結膜浮腫	なし	わずかな浮腫	容易に判別できる浮腫	明確な結膜浮腫	ひどい結膜浮腫
眼瞼充血	なし	わずかな充血	容易に判別できる充血	明確な充血	ひどい充血
眼瞼浮腫	なし	わずかな浮腫	容易に判別できる浮腫	明確な眼瞼浮腫	ひどい眼瞼浮腫
粘液分泌	なし	糸状の粘液分泌	粘液濃縮	明確な粘液分泌	ひどい粘液分泌

Determination of EB in conjunctiva

Conjunctiva

Add 1M KOH 2 ml

37 °C, 24 hr

Add 0.2 M phosphoric acid : acetone
(5:13) 3 ml

R.T. 2 hr

Centrifuge (3,000 rpm, 15 min)

Sup.

Absorbance at 620 nm

図3 結膜色素漏出量の測定

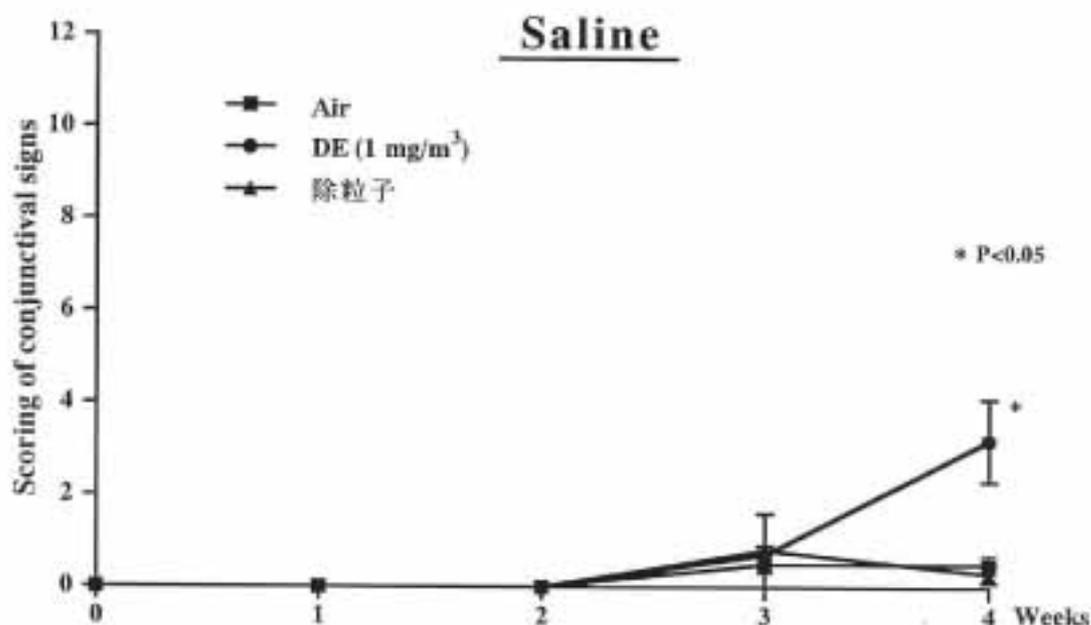


図4 非感作動物における結膜炎症状のスコア

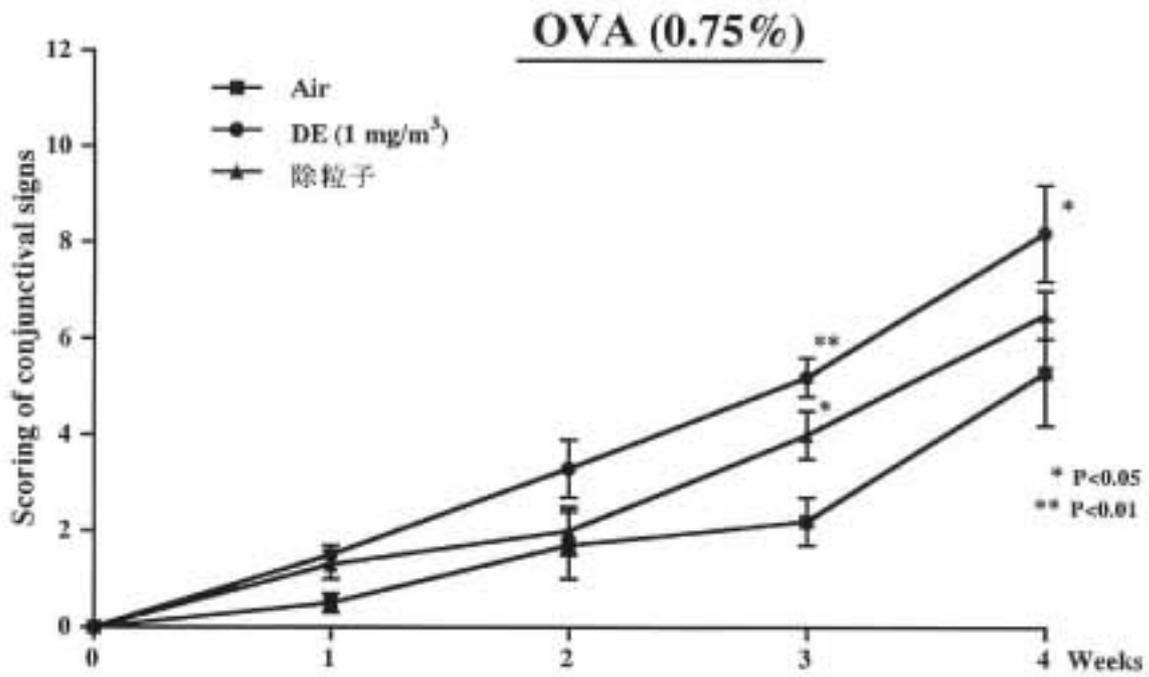


図5 感作動物における結膜炎症状のスコア

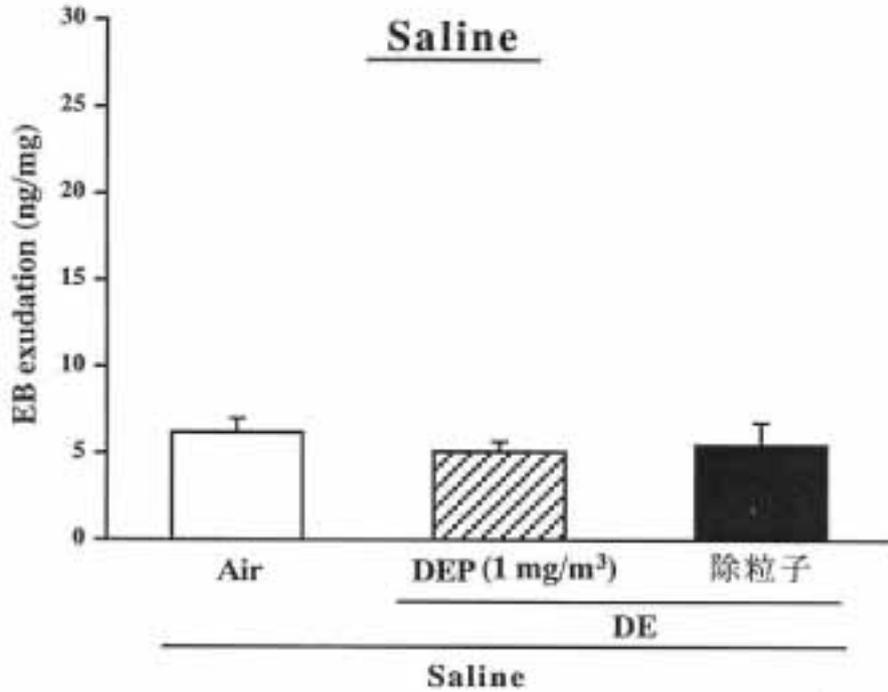


図6 非感作動物のアレルギー性結膜炎の血管透過性に及ぼすDE暴露の影響

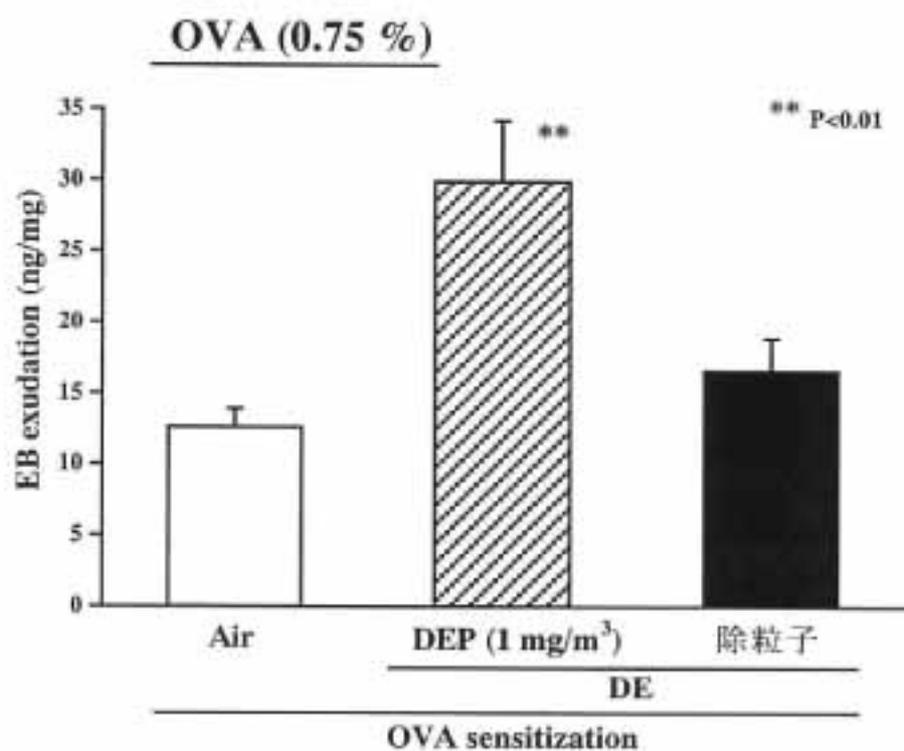


図7 感作動物のアレルギー性結膜炎の血管透過性に及ぼすDE暴露の影響

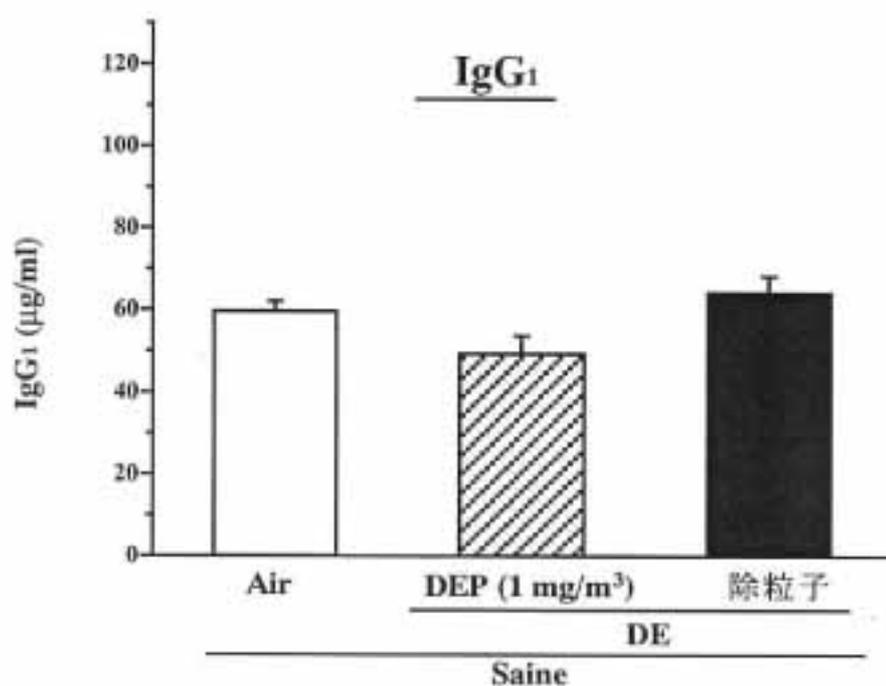


図8 非感作動物の血清中 IgG₁ に及ぼすDE暴露の影響

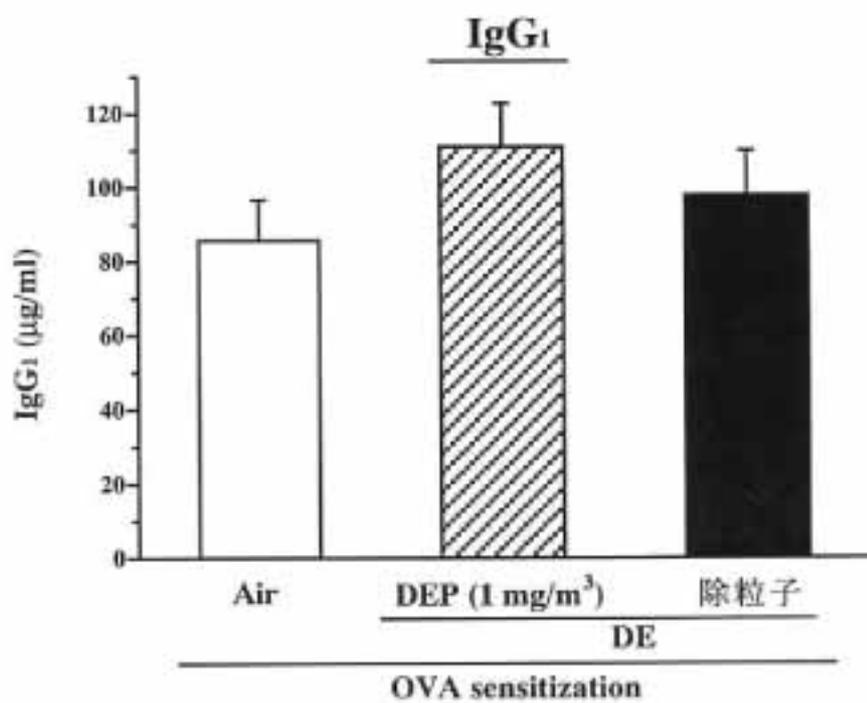


図9 感作動物の血清中 IgG₁ に及ぼすDE 暴露の影響

B. 素因研究

1. 花粉症の素因等に関する研究

常俊 義三（宮崎看護大学客員教授）

研究要旨

大気汚染濃度が異なり、スギ花粉の飛散量がほぼ同程度の地域にある M 企業の宮崎、東大阪の事業所の従業員（1,814 人）を対象に花粉症状に関する粘膜症状に関する調査。血清中の非特異的 IgE 及びスギ特異的 IgE 抗体の検査を行った結果、症状調査の結果では粘膜症状はほぼ同等で地域間に差はみられなかったが、花粉症状は東大阪地域で高率であった。

非特異的 IgE 抗体陽性率及び、スギ特異的 IgE 抗体陽性率は僅かに宮崎地域の方が高率であったが、その差は僅かであり両地域の間には有意差はなかった。

花粉症状があり、スギ特異的 IgE 抗体が陽性であるものを「スギ花粉症」とし、粘膜症状があり、スギ特異的 IgE 抗体が陽性であるものを「軽度スギ花粉症」とすると、スギ花粉症の有症率は宮崎に比べ東大阪のほうが高率であり両地区の間には有意の差がみられた。軽度スギ花粉症の有症率は宮崎のほうが東大阪にくらべて僅かに高率であったが、有意差はなかった。

スギ花粉症と軽度スギ花粉症の差は治療または薬剤を服用したことの有無によるものであることから、症状の程度の差によるものであると考え、両症状群を合わせた有症率をみると、東大阪の有症率は宮崎の有症率に比べ高率（有意）であった。

両地区のスギ花粉量の差がスギ花粉発症に関与するかについては詳細に検討する必要があるが、本調査結果より判断すると大気汚染はスギ花粉症の発症を助長（修飾）する因子である可能性を示唆するものである。

研究協力者氏名：前原正法（宮崎医科大学公衆衛生助手）

山田隆司（都城保健所）

田辺 操、甲斐真知（宮崎医科大学公衆衛生技官）

A. 研究目的

我が国で増加が指摘されているスギ花粉症は、植林された杉からの花粉飛散量が増加しただけでなく、環境汚染や生活様式等の多くの要因の関与が示唆されている。

特に、スギ花粉症状の増加には、大気汚染（特にディーゼル排出粒子）の関与を指摘する報告もあり、特に動物実験で感作を助長する報告があるが、未解明な問題が多く残されている。

本研究はスギ花粉による感作及びスギ花粉症の発症を左右する因子、特に、大気汚染、喫煙、個体の素因との関連性を明らかにすることを目的として行った。

B. 研究方法

1) 調査地区及び対象者の選定

既存のスギ花粉の測定資料よりスギ花粉の飛散数がほぼ類似し、大気汚染度の異なる、宮崎県佐土原町にあるM事業所（以下宮崎）と東大阪市にあるD事業所（以下東大阪）を選び各事業所の従業員を調査の対象とした。

事業所従業員を対象としたのは、成人を対象とした調査、特に採血を必要とする調査では、受診率の多寡が調査の精度を左右することになる。地区組織が弱体化した条件下では検討に必要な十分な受診率の確保が困難である。

しかし、事業所従業員を対象とした調査では、職種、勤務年数、居住地による影響を否定出来ない。

本研究では、事業所と同一地区に生まれた対象者に限定すると対象数が減少するため、過去5年間以上勤務し、有機溶剤、粉塵等の特殊検診の対象者を除き、事業所より半径20km以内に居住する従業員を調査の対象とした。

因みに宮崎では全従業員の14%、東大阪では33%を対象から除外した。

2) 調査方法・調査項目

調査は東大阪・宮崎の両事業所の健康管理室の協力を得て、それぞれの従業員のうち前項で述べた条件（5年以上の勤務者、20km以内に居住、化学物質による曝露がない）を満たした従業員を選定した。

調査の対象に選定した各従業員に各事業所の健康管理室を通じてアレルギー症状、治療歴及び喫煙習慣等に関する質問票を配布し、日曜日を挟んで1週間後に回収した。

血清中のスギ特異的IgE・非特異的IgE抗体検査は各事業体の健康管理室関係者（産業医及び保健婦等）と協議の上、それぞれの事業所の健康管理室に対象者の来室を求め、検査を行った。

倫理面での配慮

各事業所の人事担当者（取締役）及び調査対象者に調査の目的、調査内容について説明を行い、承諾を得られたものについて調査を行い、調査・検査結果は個人毎に通知し、必要な保健指導を行った。

C. 調査結果

1) 調査地区の大気汚染度及びスギ花粉の飛散状況

表1に各事業所に最も近い大気汚染測定局及びスギ花粉測定点の結果を示した。

表1 調査地区の大気汚染度及びスギ花粉飛散数

区 分	年	調査地域		地域間の比較		
		東大阪	宮 崎	東大阪/宮崎	東大阪-宮崎	
大気濃度	NO _x (ppm)	1997	0.032	0.011	2.9	0.021
		1998	0.031	0.012	2.6	0.019
		平均	0.032	0.012	2.7	0.020
	SPM ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	1997	0.042	0.020	2.1	0.022
		1998	0.042	0.020	2.1	0.022
		平均	0.042	0.020	2.1	0.022
	SO _x (ppm)	1997	0.005	0.003	1.6	0.002
		1998	0.005	0.003	1.6	0.002
		平均	0.005	0.003	1.6	0.002
スギ花粉飛散量 2月1日～4月30日 (個数/cm ² /season)	1998	1291	1795	0.72	-504	
	1999	1108	1588	0.70	-480	
	2000	1324	1634	0.81	-310	
	平均	1241	1672	0.74	-380	

大気汚染濃度について 1997、1998 年度の年平均値は、東大阪で NO_x:0.032,0.031ppm、SPM:0.042、0.042 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、SO_x:0.005ppm であり、宮崎では NO_x:0.011、0.012ppm、SPM:0.020 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、SO_x:0.003ppm であり、東大阪の測定値は宮崎に比べ NO_x で 2.7 倍、SPM で 2.1 倍、SO_x で 1.6 倍の値を示した。

スギ花粉の飛散数については、各年度とも 2月1日から4月30日までの飛散数（総数）を 1998 年から 2000 年まで各年度毎に比較したが、年度によりその結果は異なるものの、いずれの年度でも東大阪の方が低値であり 3 年間の平均値でみると両地区の比は 0.74、差は 380/cm²/season であった。

表2 年齢・喫煙習慣別対象数

年 齢	喫煙	東大阪			宮崎		
		男	女	計	男	女	計
39歳以下	喫煙	88	1	99	36	4	40
	非喫煙	122	31	153	15	22	37
	過去喫煙	16	2	18	7	0	7
	計	226	34	260	58	26	84
40～44歳	喫煙	99	6	105	88	0	88
	非喫煙	82	26	108	39	28	67
	過去喫煙	31	1	32	12	0	12
	計	212	33	245	139	28	167
45～49歳	喫煙	133	8	141	163	1	164
	非喫煙	82	48	130	69	19	88
	過去喫煙	24	2	26	28	1	29
	計	239	58	297	260	21	281
50～54歳	喫煙	89	1	90	45	1	46
	非喫煙	65	34	99	31	13	44
	過去喫煙	21	0	21	15	0	15
	計	175	35	210	91	14	105
55歳以上	喫煙	62	2	64	13	0	13
	非喫煙	33	10	43	9	17	26
	過去喫煙	11	4	15	4	0	4
	計	106	16	122	26	17	43
計	喫煙	471	18	489	345	6	351
	非喫煙	384	149	533	163	99	265
	過去喫煙	103	9	112	66	1	68
	計	958	176	1134	574	106	680

2) 調査対象数

表2に調査対象数を示した。表に示したように東大阪は1134人（男：958、女：176）、宮崎は680人（男：574、女：106）、計1814人であった。

両地区とも女の占める割合が低く、東大阪で15.5%、宮崎で16.8%であった。このことは男子雇用型事業体によるものであり、対象者の選定によるものではない。

喫煙率をみると、東大阪では男49.2%、女では10.20%、宮崎では男60.1%、女では5.7%となり、男では宮崎、女では東大阪で喫煙率が高率であり両地区に差がみられた。

表3 花粉症状、粘膜症状

性	年 齢	東大阪			宮 崎		
		対象数	粘膜症状	花粉症状	対象数	粘膜症状	花粉症状
男	39歳以下	226	63(27.9)	83(36.7)	58	18(31.0)	15(25.8)
	40～44歳	212	60(28.3)	70(33.3)	139	37(26.6)	30(21.6)
	45～49歳	239	60(25.1)	78(32.6)	260	59(22.7)	59(22.7)
	50～54歳	175	38(21.7)	49(28.0)	91	22(24.2)	20(22.0)
	55歳以上	106	18(17.0)	27(25.5)	26	4(15.3)	8(30.8)
	計	958	239(24.9)	307(32.0)	574	140(24.4)	132(22.9)
女	39歳以下	34	14(41.2)	6(17.6)	26	9(34.6)	8(30.8)
	40～44歳	33	12(36.4)	7(21.2)	28	14(50.0)	2(7.1)
	45～49歳	58	14(24.1)	17(29.3)	21	4(19.0)	8(38.1)
	50～54歳	35	10(28.6)	6(17.1)	14	6(42.8)	2(14.3)
	55歳以上	16	3(18.8)	5(31.3)	17	4(23.5)	3(17.6)
	計	176	53(30.1)	41(23.3)	105	37(34.9)	23(21.9)
計	39歳以下	260	77(29.6)	89(34.2)	84	27(32.1)	23(27.4)
	40～44歳	245	72(29.4)	77(31.4)	167	51(30.5)	32(19.2)
	45～49歳	297	74(24.9)	95(32.0)	281	63(22.4)	67(23.8)
	50～54歳	210	48(22.9)	55(26.2)	105	28(26.7)	22(21.0)
	55歳以上	122	21(17.2)	32(28.6)	43	8(19.5)	11(25.6)
	計	1134	292(25.7)	348(30.7)	680	177(26.0)	155(22.8)

() 内：%

花粉症状：花粉症状に該当する症状があり、治療又は薬剤を使用したことのあるもの。

粘膜症状：花粉症状に該当する症状があるが、治療又は薬剤を使用したことがないもの。

3) 症状調査結果

調査票で鼻粘膜（鼻水、クシャミ等）・眼粘膜（涙がでる、眼が赤くなる等）の刺激症状があるが、治療または薬剤を使用したことがないものを「粘膜症状」とし、鼻・眼粘膜の刺激症状があり、治療または薬剤を使用したことがあるものを「花粉症状」としてその有症率を比較すると、東大阪では粘膜症状有症率は 25.7 %、花粉症状は 30.7 %、宮崎ではそれぞれ 26.0 %、22.8 %であり、粘膜刺激症状では東大阪と宮崎との間に有意な差はみられなかったが、花粉症状の有症率は東大阪の方が高率（有意）ではあった（表3）。

性別に比較すると粘膜症状の有症率は東大阪・宮崎共女子の方が男子に比べて高率であった。

花粉症状は東大阪・宮崎で男子の方が高率であったが、宮崎ではその差は僅か 1 %でありほぼ同等の有症率であった。

年齢別に比較すると、花粉症状、粘膜症状とも多少の変動はあるものの高齢者群ほど低率になる傾向がみられた。

喫煙習慣別に有症率をみると、粘膜症状は東大阪の女子を除き、東大阪の男、宮崎の男

女で喫煙群の有症率が非喫煙群の有症率より低率であった。花粉症状の有症率は対象数の少ない宮崎の女を除き、喫煙群と非喫煙群の有症率はほぼ同等であり有意な差は見られなかった。

地域別にみると、男では粘膜刺激症状の有症率はほぼ同等であり差はみられないが、花粉症状の有症率は東大阪のほうが宮崎より高率であった。女では粘膜刺激症状は宮崎、花粉症状は東大阪で僅かに高率であった。なお、女については対象数が少ないことを考慮する必要があるともものとする。(表4)

表4 地区・性・喫煙習慣別花粉症状及び粘膜刺激症状

性	喫煙習慣	東大阪			宮崎		
		対象数	粘膜症状	花粉症状	対象数	粘膜症状	花粉症状
男	喫煙	471	82(17.4)	156(33.2)	345	73(21.2)	80(23.2)
	過去喫煙	103	31(30.1)	27(26.2)	66	17(25.8)	16(24.2)
	非喫煙	384	126(32.8)	124(32.3)	163	50(30.7)	36(22.0)
	計	958	239(24.9)	307(32.0)	574	140(24.4)	132(22.9)
女	喫煙	18	8(44.5)	4(22.2)	6	1(16.7)	1(16.7)
	過去喫煙	9	2(22.2)	3(33.3)	1	0(—)	1(100.0)
	非喫煙	149	43(28.9)	34(22.8)	99	36(36.4)	21(21.2)
	計	176	53(30.1)	41(23.3)	106	37(34.9)	23(21.9)
計	喫煙	489	90(18.4)	160(32.7)	351	74(21.1)	81(23.1)
	過去喫煙	112	33(29.4)	30(26.8)	67	17(25.3)	17(25.4)
	非喫煙	533	169(31.7)	154(28.9)	262	86(32.8)	57(21.8)
	計	1134	292(25.7)	348(30.7)	680	177(26.0)	155(22.8)

()内：%

花粉症状：花粉症状に該当する症状があり、治療又は薬剤を使用したことのあるもの。

粘膜症状：花粉症状に該当する症状があるが、治療又は薬剤を使用したことのないもの。

4) 非特異的 IgE、スギ特異的 IgE 抗体の陽性率

非特異的 IgE 抗体値が 200 IU/ml 以上を陽性、スギ特異的 IgE 抗体はスコア 2 以上を陽性として地区別にその陽性率を比較した (表 5)。

非特異的 IgE 抗体陽性率は東大阪で 20.1 %、宮崎で 22.9 % と宮崎の方が僅かに高率であり、また男女別に比較すると、東大阪では男の陽性率は女の 1.2 倍、宮崎では 1.4 倍といずれの地区でも男のほうが高率であったが有意な差はなかった。

年齢別にみると、両地区とも全般的にみて高齢者ほど高い値を示すものが多いが、年齢による影響は明らかでなかった。

スギ特異的 IgE 抗体陽性率は東大阪で 36.5 %、宮崎で 37.8 % であり、両地区間に著明な差はみられなかった。男女比をみると、東大阪では 0.9、宮崎では 1.03 となり、両地区とも男女間に差がみられなかった。

年齢別にみると、両地区とも高齢者ほど低率であり、非特異的 IgE 抗体陽性率と異なった傾向を示した。

喫煙習慣別にみると、非特異的 IgE 抗体陽性率は両地区とも喫煙群で最も高率であり、非喫煙群で最も低率であった。

表 5 非特異的 IgE・スギ特異的 IgE 抗体陽性率

性	年 齢	東大阪			宮 崎		
		受診数	非特異的 IgE 陽性	スギ特異的 IgE 陽性	受診数	非特異的 IgE 陽性	スギ特異的 IgE 陽性
男	39 歳以下	226	41 (18.1)	105 (46.5)	58	14 (24.1)	24 (41.4)
	40 ~ 44 歳	212	44 (20.8)	78 (36.8)	139	25 (18.0)	55 (39.6)
	45 ~ 49 歳	239	47 (19.7)	80 (33.5)	260	71 (27.3)	99 (38.1)
	50 ~ 54 歳	175	41 (23.4)	57 (32.6)	91	23 (25.3)	34 (37.4)
	55 歳以上	106	25 (23.6)	23 (21.7)	26	5 (19.2)	5 (19.2)
	計	958	198 (20.7)	343 (35.8)	574	138 (24.0)	217 (37.8)
女	39 歳以下	34	8 (23.5)	18 (52.9)	26	5 (19.2)	10 (38.5)
	40 ~ 44 歳	33	6 (18.2)	17 (51.5)	28	6 (21.4)	13 (46.4)
	45 ~ 49 歳	58	9 (15.5)	23 (39.7)	21	1 (4.8)	9 (42.9)
	50 ~ 54 歳	35	4 (11.4)	7 (20.0)	14	4 (28.6)	5 (35.7)
	55 歳以上	16	3 (18.8)	6 (37.5)	17	2 (11.8)	3 (17.6)
	計	176	30 (17.0)	71 (40.3)	106	18 (17.0)	40 (37.7)
計	39 歳以下	260	49 (18.8)	123 (47.3)	84	19 (22.6)	34 (40.5)
	40 ~ 44 歳	245	50 (20.4)	95 (38.8)	167	31 (18.6)	68 (40.7)
	45 ~ 49 歳	297	56 (18.9)	103 (34.7)	281	72 (25.6)	108 (38.4)
	50 ~ 54 歳	210	45 (21.4)	64 (30.5)	105	27 (25.7)	39 (37.1)
	55 歳以上	122	28 (23.0)	29 (23.8)	43	7 (16.3)	8 (18.6)
	計	1134	228 (20.1)	414 (36.5)	680	156 (22.9)	257 (37.8)

()内: %

非特異的 IgE 抗体陽性: 200 IU/ml 以上

スギ特異的 IgE 抗体陽性: スコア 2 以上

スギ特異的 IgE 抗体陽性率は両地区とも喫煙群で最も低率であり、非喫煙群で最も高率であった。このことは直接喫煙がスギ花粉による感作を助長する因子でないことを示唆するものである。なお、喫煙習慣別にみた非特異的 IgE 抗体陽性率の結果は従来の知見と一致するものであった（表 6）。

表 6 地区・性・喫煙習慣別非特異的・スギ特異的 IgE 抗体陽性率

性	喫煙習慣	東大阪			宮 崎		
		受診数	非特異的 IgE 陽性	スギ特異的 IgE 陽性	受診数	非特異的 IgE 陽性	スギ特異的 IgE 陽性
男	喫 煙	471	117(24.8)	134(28.5)	345	95(27.5)	123(35.6)
	過去喫煙	103	23(22.3)	35(34.0)	66	17(25.8)	25(37.8)
	非喫煙	384	58(15.1)	174(45.3)	163	26(16.0)	69(42.3)
	計	958	198(20.7)	343(35.8)	574	138(24.0)	217(37.8)
女	喫 煙	18	7(38.9)	12(66.6)	6	1(16.7)	2(33.3)
	過去喫煙	9	0(---)	4(44.4)	1	0(---)	0(---)
	非喫煙	149	23(15.4)	55(36.9)	99	17(17.2)	38(38.4)
	計	176	30(17.0)	71(40.3)	106	18(17.0)	40(37.7)
計	喫 煙	489	124(25.4)	146(29.9)	351	96(27.4)	125(35.6)
	過去喫煙	112	23(20.5)	39(34.8)	67	17(25.4)	25(37.3)
	非喫煙	533	81(15.2)	229(43.0)	262	43(16.4)	107(40.8)
	計	1134	228(20.1)	414(36.5)	680	156(22.9)	257(37.8)

() 内：%

非特異的 IgE 抗体陽性：200 IU/ml 以上

スギ特異的 IgE 抗体陽性：スコア 2 以上

5) 症状群別非特異的 IgE, スギ特異的 IgE 抗体の陽性率

症状群別に非特異的 IgE 抗体の陽性率をみると(表7) 東大阪(症状なし:15.4%, 粘膜症状:24.3%, 花粉症状:23.3%), 宮崎(症状なし:21.0%, 粘膜症状:27.1%, 花粉症状:22.6%)とも粘膜症状群で最も高率であり次いで花粉症状群、症状なし群の順であった。

地区別にみると花粉症状群、粘膜症状群では宮崎で僅かに高率であったが有意な差ではなかった。

スギ特異的 IgE の陽性率については東大阪(症状なし:17.4%, 粘膜症状:59.9%, 花粉症状:44.0%), 宮崎(症状なし:23.6%, 粘膜症状:66.1%, 花粉症状:37.4%)と粘膜症状群で最も高率、次いで花粉症状群、症状なし群の順であり、非特異的 IgE の陽性率に比べ症状間の差は大きく症状なし群と粘膜及び花粉症状群との間には有意な差がみられた。

表7 地区・性・症状別非特異的・スギ特異的 IgE 抗体陽性率

性	症状区分	東大阪			宮崎		
		受診数	非特異的 IgE 陽性	スギ特異的 IgE 陽性	受診数	非特異的 IgE 陽性	スギ特異的 IgE 陽性
男	粘膜症状	239	58 (24.3)	144 (60.3)	140	38 (27.1)	95 (67.9)
	花粉症状	307	75 (24.4)	128 (41.7)	132	32 (24.2)	50 (37.9)
	症状なし	412	65 (15.8)	71 (17.3)	302	68 (22.5)	72 (23.8)
	計	958	198 (20.7)	343 (35.8)	574	138 (24.0)	217 (37.8)
女	粘膜症状	53	13 (24.5)	31 (58.4)	37	10 (27.0)	22 (59.5)
	花粉症状	41	6 (14.6)	25 (61.0)	23	3 (13.0)	8 (34.8)
	症状なし	82	11 (13.4)	15 (18.3)	45	5 (11.1)	10 (22.2)
	計	176	30 (17.0)	71 (40.3)	105	18 (17.1)	40 (37.7)
計	粘膜症状	292	71 (24.3)	175 (59.9)	177	48 (27.1)	17 (66.1)
	花粉症状	348	81 (23.3)	153 (44.0)	155	35 (22.6)	58 (37.4)
	症状なし	493	76 (15.4)	86 (17.4)	348	73 (21.0)	82 (23.6)
	計	1134	228 (20.1)	414 (36.5)	680	156 (22.9)	257 (37.8)

() 内: %

非特異的 IgE 抗体陽性: 200 IU/ml 以上

スギ特異的 IgE 抗体陽性: スコア 2 以上

花粉症状: 花粉症状に該当する症状があり、治療または薬剤を使用したことのあるもの。

粘膜症状: 花粉症状に該当する症状があるが、治療または薬剤を使用したことのないもの。

地区別にみると非特異的 IgE 抗体の陽性率と同様に粘膜症状群、症状なし群では宮崎、花粉症状群では大阪が僅かに高率であった。

鼻・眼アレルギーの症状が I 型アレルギーによるものと考えると花粉症状の 42%、(東大阪:44%, 宮崎:37.4%), 粘膜症状の 62.8% (東大阪:59.9%, 宮崎:66.1%) はスギ花粉によるものと考えられるが、花粉症状の 58% (東大阪:56%, 宮崎:37%), 粘膜症状の 37.2

% (東大阪 40 %, 宮崎 34 %) は局所的に反応しているもの又はI型アレルギー以外の因子によるものとも考えられるが、この地域差の原因については今後の検討が必要である。

6) スギ花粉症及び軽度スギ花粉症の有症率

花粉症状があり、スギ特異的 IgE 抗体が陽性であるものを「スギ花粉症」とし、粘膜症状があり、スギ特異的 IgE 抗体が陽性であるものを「軽度スギ花粉症」として、その有症率をみると、スギ花粉症有症率は東大阪で 13.5 % (男:13.4 %, 女:14.2 %), 宮崎で 8.5 % (男:8.7 %, 女:7.5 %) と両地区の間に有意の差が見られた。軽度スギ花粉症の有症率は東大阪で 15.4 % (男:15.0 %, 女:17.6 %), 宮崎で 17.2 % (男:16.5 %, 女:20.7 %) と東大阪の有症率に比べ宮崎の方が僅かに高率であった (表 8)。

表 8 スギ花粉症・軽度スギ花粉症の有症者 (率)

性	年 齢	東 大 阪			宮 崎		
		対象数	スギ花粉症	軽度スギ花粉症	対象数	スギ花粉症	軽度スギ花粉症
男	39 歳以下	226	36 (15.9)	48 (21.2)	58	8 (13.7)	11 (18.9)
	40 ~ 44 歳	212	32 (15.1)	33 (15.7)	139	11 (7.9)	26 (18.7)
	45 ~ 49 歳	239	29 (12.1)	36 (15.1)	260	24 (9.2)	43 (16.5)
	50 ~ 54 歳	175	21 (12.0)	21 (12.0)	91	6 (6.6)	14 (15.4)
	55 歳以上	106	10 (9.4)	6 (5.7)	26	1 (3.9)	1 (3.9)
	計	958	128 (13.4)	144 (15.0)	574	50 (8.7)	95 (16.5)
女	39 歳以下	34	5 (14.7)	12 (35.3)	26	1 (3.8)	5 (19.2)
	40 ~ 44 歳	33	5 (15.2)	8 (24.2)	28	1 (3.6)	10 (35.7)
	45 ~ 49 歳	58	9 (15.5)	8 (13.8)	21	4 (19.0)	2 (9.5)
	50 ~ 54 歳	35	3 (8.6)	2 (5.7)	14	1 (7.1)	4 (28.6)
	55 歳以上	16	3 (18.8)	1 (6.3)	17	1 (5.9)	1 (5.9)
	計	176	25 (14.2)	31 (17.6)	106	8 (7.5)	22 (20.7)
計	39 歳以下	260	41 (15.8)	60 (23.1)	84	9 (10.7)	16 (19.0)
	40 ~ 44 歳	245	37 (15.1)	41 (16.7)	167	12 (7.2)	36 (21.6)
	45 ~ 49 歳	295	38 (12.9)	44 (14.9)	281	28 (10.0)	45 (16.0)
	50 ~ 54 歳	210	24 (11.4)	23 (11.0)	105	7 (6.7)	18 (17.1)
	55 歳以上	122	13 (10.7)	7 (5.7)	43	2 (4.7)	2 (4.7)
	計	1134	153 (13.5)	175 (15.4)	680	58 (8.5)	117 (17.2)

()内: %

スギ花粉症: 花粉症状あり、スギ特異的 IgE 抗体陽性

軽度スギ花粉症: 粘膜症状あり、スギ特異的 IgE 抗体陽性

スギ花粉症と軽度スギ花粉症の差は治療または薬剤を服用したことの有無によるものである事から、症状の程度の差によるものであると考え、両症状群を合わせた有症率をみると、東大阪の有症率は 28.9 % (男:28.4 %, 女:31.8 %), 宮崎では 25.7 (男:25.3 %, 女:28.2 %) 宮崎の有症率に比べ東大阪の方が明らかに高率 (有意) であった。

以上の結果はスギ花粉症の定義により有症率の地区差がことなることを意味するものであり、また「軽度スギ花粉症」を治療または薬剤の服用を要しない軽症の発症者であるとすれば、東大阪と宮崎の有症率の地域差は縮小する。この点についてはスギ花粉症の定義、その他の要因をふくめ更に検討する必要があると考えられる。

スギ花粉症及び軽度スギ花粉症の有症率を年齢別にみると、両症状群とも、いずれの地区でも多少の変動があるものの加齢と共に有症率は低下する傾向がみられた。

喫煙習慣別にみるとスギ花粉症群の有症率は東大阪では非喫煙群で最も高率であり、喫煙群で最も低率であった。宮崎では喫煙群（8.8%）が非喫煙群（8.4%）より僅かに高率であったが、両群の差は僅かであり有意なものではなかった。軽度スギ花粉症は両地区とも非喫煙群で最も高く、次いで過去喫煙群、喫煙群の順であった。

有症率と喫煙習慣との関係については、その理由は明らかでなく、スギ花粉症の発症の機序を検討する上で興味のある結果であると考えられる（表9）。

表9 地区・性・スギ花粉症状及び軽度スギ花粉症の有症者（率）

性	地区	東大阪			宮崎		
		喫煙習慣	対象数	対'花粉症	軽度対'花粉症	対象数	対'花粉症
男	喫煙	471	52(11.0)	41(8.7)	345	31(9.0)	42(12.2)
	過去喫煙	103	13(12.6)	18(17.5)	66	5(7.6)	12(18.2)
	非喫煙	384	63(16.4)	85(22.1)	163	14(8.6)	41(25.2)
	計	958	128(13.4)	144(15.0)	574	50(8.7)	95(16.5)
女	喫煙	18	4(22.2)	5(27.8)	6	0(---)	1(16.7)
	過去喫煙	9	2(22.2)	2(22.2)	1	0(---)	0(---)
	非喫煙	149	19(12.8)	24(16.1)	99	8(8.1)	21(21.2)
	計	176	25(14.2)	31(17.5)	106	8(7.5)	22(20.7)
計	喫煙	489	56(11.5)	46(9.4)	351	31(8.8)	43(12.3)
	過去喫煙	112	15(13.4)	20(17.9)	67	5(7.5)	12(17.9)
	非喫煙	533	82(15.4)	109(20.5)	262	22(8.4)	62(23.7)
	計	1134	153(13.5)	175(15.4)	680	58(8.5)	117(17.2)

()内：%

スギ花粉症状：花粉症状あり、スギ特異的IgE抗体陽性

軽度スギ花粉症：粘膜症状あり、スギ特異的IgE抗体陽性

D. 考察

成人を対象とした調査については、住民を対象とすると、調査内容が質問調査に限定されることが多い。質問調査は郵送による調査票の配布、回収により、或いは学校（学童）を介して保護者に配布・回収する方法により可能であるが、血液検査等の調査を行う場合には、検討に必要な受診率を確保できず、受診者は偏りをもった集団になることが多い。

本調査は前述のことを前提に同一企業集団で地域の異なる事業体を選び、大気汚染の曝露条件、職業曝露の影響を回避するための条件を定め対象者を選定した。しかし選んだ企業体が男性雇用型の企業体であるため、女性の対象数が少なくならざるを得なかった。

また宮崎は農業地域にあるため対象者が宮崎の地域般住民と社会・経済的条件が異なることを留意する必要があるが、本調査のように大気汚染、花粉の曝露以外の条件が同一であることから言えば、東大阪の対象者と類似した集団を選定したことになる。

大気汚染状況と花粉の飛散量については対象者の居住地を事業体から半径 10km に限定すると調査検討に必要な対象数を確保することが困難であるため 20km としたが、東大阪では測定地点間で測定値に差がみられたため、半径 20km 圏に隣接する測定局の測定値の平均値を用いた。しかし幹線道路近傍に居住する対象者を同定することができなかったために、対象者によっては表 1 に示した濃度以上の曝露をうけているものが含まれている可能性が残されている。

スギ花粉の飛散量は両地区とも毎年 $1000/\text{cm}^2/\text{season}$ をこえるが、両地区の差は 3 年間の平均値で $380/\text{cm}^2/\text{season}$ であった。

スギ花粉症の発症と花粉量との関係については、一日の花粉数が 20 個以上/ cm^3 に達した時に発症する¹³⁾とするものから、東京都内 5 ～ 11 地区の医療機関の平成 2 年から平成 5 年の受診患者数とスギ花粉飛散量との関係を検討した結果では、1 日の花粉症の受診患者数のピークは 1 日の花粉数が $500/\text{cm}^3$ を越えた日と相関し、初診患者の累積数のカーブは花粉数が $500/\text{cm}^3$ を越えると急峻となり、それぞれの地区で花粉数が $100/\text{cm}^3$ を越えた日から、その年の初診患者の約 1/3 が受診していることが報告されている等¹⁴⁾その結果は報告により異なるもののスギ花粉飛散量と発症との関係が検討されている。しかしスギ花粉飛散量とスギ特異的 IgE 抗体陽性率との関連性については、1994 年から 1995 年に京都市内の学童を対象に行われた調査でスギ花粉飛散量の増加に伴いスギ特異的 IgE 抗体陽性率が増加するとする報告¹⁵⁾があるものの量的な関係は不明のまま残されている。なお、この報告では大阪高槻市の学童でスギ飛散量が同一 ($1200 \sim 1300/\text{cm}^2/\text{season}$) であるが、NO_x、SPM 濃度が異なる 2 地域 (国道 170、171 号線周辺と市内住宅地) の学童を対象とした調査ではスギ特異的 IgE 抗体陽性率に差がなく有症率に差がみられたことが報告されている。

宮崎と東大阪のスギ花粉飛散量の差がスギ特異的 IgE 抗体陽性率にどのような意義をもつかについては、大気汚染との関連性を検討するためには今後検討すべき課題の一つであると考えられる。

今回の調査では、鼻粘膜 (鼻水、クシャミ等)・眼粘膜 (涙がでる、眼が赤くなる等) の刺激症状があるが、治療または薬剤を使用したことがないものを「粘膜症状」とし、鼻・眼粘膜の刺激症状があり、治療または薬剤を使用したことがるものを「花粉症状」とした。

「粘膜症状」と「花粉症状」との差は薬剤の使用及び受診の有無による区分である。薬剤の使用受診の有無は、症状の軽重に左右されるだけでなく、自覚症状に対する本人の病的意識、受診の容易さ、薬剤入手の容易さにより左右されるものと考えられ、「花粉症状」だけをスギ花粉による症状群とすることはできない。

そこで有症率については粘膜症状+花粉症状を「花粉症状群」としスギ花粉症+軽度スギ花粉症を杉花粉症群として比較すると表 10 に示したように花粉症状群の女子を除きいずれも東大阪の方が宮崎に比べ高率であった。

表 10 花粉症状群とスギ花粉症群

	花粉症状群				スギ花粉症群			
	東大阪		宮崎		東大阪		宮崎	
性	対象数	有症数(率)	対象数	有症数(率)	対象数	有症数(率)	対象数	有症数(率)
男	958	546(57.0)	574	272(47.3)	958	272(28.4)	574	145(25.3)
女	176	94(53.4)	105	60(57.1)	176	56(31.8)	105	30(29.0)
計	1134	640(56.4)	680	332(48.8)	1134	328(28.9)	680	175(25.7)

男女計でみると花粉症状群、スギ花粉症群とも両地区の間に有意な差がみられた。

スギ花粉症状有症率、スギ特異的 IgE 抗体陽性率と喫煙習慣との関係については喫煙群の有症率、スギ特異的 IgE 抗体陽性率とも非喫煙群に比べて低率であり喫煙との直接の関係はみられなかった。同様な結果は姫路市医師会が平成7年以降行っている受診率調査で喫煙者でスギ花粉症が少ないことが報告²⁾されている。

タバコ煙の暴露は口呼吸による暴露であり、主流煙、副流煙とも粒子成分はエアロゾルの形状をなし、中央粒径はそれぞれ 0.52 μm 、0.43 μm であり 90 % 以上が 1.0 μm 以下である³⁾ため鼻粘膜に与える影響が少ないものと考えられるが、その他の詳細については明らかでなく今後の検討が必要である。

本調査ではスギ特異的 IgE 抗体陽性率に地区間の差がみられなかったが、花粉症状群、スギ花粉症群とも汚染濃度の高い東大阪で高率であり大気汚染の影響を示唆するものであったが、定性的なものであり、大気汚染との関係については、既存の調査資料、既存の文献を加え検討する必要があるものと考えられる。

また、局所感作(鼻粘膜)の可能性が示唆されていることを考えると、血液中のスギ特異的 IgE 抗体の検査と同様に客観的に評価する指標がないかぎり、疫学調査では解明できない問題がのこされている事を充分考慮した検討が必要である。同時に多数の集団を対象にした疫学調査で使用する事ができる局所感作指標の検討が必要であると考えられる。

E. 結論

大気汚染濃度が異なり、スギ花粉の飛散量が異なる宮崎、東大阪の事業所の従業員(1,814人)を対象に花粉症状、粘膜症状に関する調査、血清中の非特異的 IgE 及びスギ特異的 IgE 抗体の検査を行った結果、症状調査の結果では粘膜症状はほぼ同等、花粉症状は東大阪地域で高率であった。

非特異的 IgE 抗体陽性率及び、スギ特異的 IgE 抗体陽性率は僅かに宮崎地区の方が高率であったが、その差は僅かであり両地区間に有意差はなくほぼ同等の陽性率であった。

年齢別にみるとスギ特異的 IgE 抗体陽性率は年齢と共に暫減する傾向がみられたが、非特異的 IgE 抗体については同様な傾向はみられなかった。

花粉症状があり、スギ特異的 IgE 抗体が陽性であるものを「スギ杉花粉症」とし、粘膜症状があり、スギ特異的 IgE 抗体が陽性であるものを「軽度スギ花粉症」とすると、スギ花粉症の有症率は宮崎に比べ東大阪のほうが高率であり、両地区の間に有意差がみられた。軽度スギ花粉症の有症率は宮崎のほうが東大阪にくらべて僅かに高率であった(有意差な

し)。

スギ花粉症と軽度スギ花粉症の差は治療または薬剤を服用したことの有無によるものであることから、症状の程度の差によるものであると考え、両症状群を合わせた有症率をみると、東大阪の有症率は宮崎の有症率に比べ高率(有意)であった。

両地区のスギ花粉量の差がスギ花粉発症に関与するかについては詳細に検討する必要があるが、本調査結果により判断すると大気汚染はスギ花粉症の発症を助長(修飾)する因子である可能性が考えられたが、この点については既存の調査資料と併せて検討する必要がある。

文献

- 1) 荻野 俊, ほか: 大阪大学における鼻アレルギーの現況(第4報)、耳鼻科, 76:115-1130 (1983)
- 2) 奥田稔, ほか: スギ花粉症に対するアンレキサノクス季節前・中投与におよる予防及び治療効果について、耳鼻展望, 31:67-89(1991)
- 3) 井上敦子, ほか: スギ花粉飛散量と気象状況及び鼻アレルギー受診患者数との関係、耳鼻臨床, 37:416-424(1986)
- 4) 西端慎一, 斎藤洋三: 花粉患者の実態調査成績—スギ花粉症患者の医療機関受診者数について—、JOHNS, 10:287-2876(1994)
- 5) 竹中 洋: 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、シンポジウム「アレルギーの疫学—疾患の変動と背景因子」アレルギー性鼻炎, 2000年4月(福岡)
- 6) 黒坂文武: 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、シンポジウム「アレルギーの疫学—疾患の変動と背景因子」姫路市におけるアレルギー調査, 2000年4月(福岡)
- 7) 常俊義三: たばこ煙による生体影響研究の現状、エアロゾル研究, 9:207-214(1994)
- 8) 常俊義三: 我が国の杉花粉症の疫学, 50:1-7(1997)