

B-0902

黄砂現象の環境・健康リスクに関する 環境科学的研究

研究代表者：那須 正夫

大阪大学大学院 薬学研究科

黄砂現象の環境・生態系・健康へのリスクを評価するための 基盤的・普遍的知識ベースの構築

微生物のキャリアとしての 黄砂

- ・ バイオイメージングによる直接的証明
- ・ 長距離移動した細菌の量と属種の解析

微小粒子としての 黄砂

- ・ 微小粒子の生体内動態
- ・ 免疫攪乱作用のin vitro解析

黄砂を捕集する

- ・ 新たなサンプリング法の開発
- ・ 粒子の物理化学的分析

黄砂発生源土壌

黄土高原（2009年6月30日）

ゴビ沙漠（2011年7月22日）

タクラマカン沙漠

（2008年3月3日）

計25地点

タクラマカン沙漠

ゴビ沙漠

黄土高原

北京

中国国内における黄砂（北京）

中国農業大学屋上

（2009年3月～5月）

（2010年3月～5月）

（2011年3月～5月）

計31回

日本国内における黄砂

日本海・瀬戸内海上空

（2009年3月～10月）

（2010年3月～11月）

（2011年4月～5月）

計32回

日本海上空

瀬戸内海上空

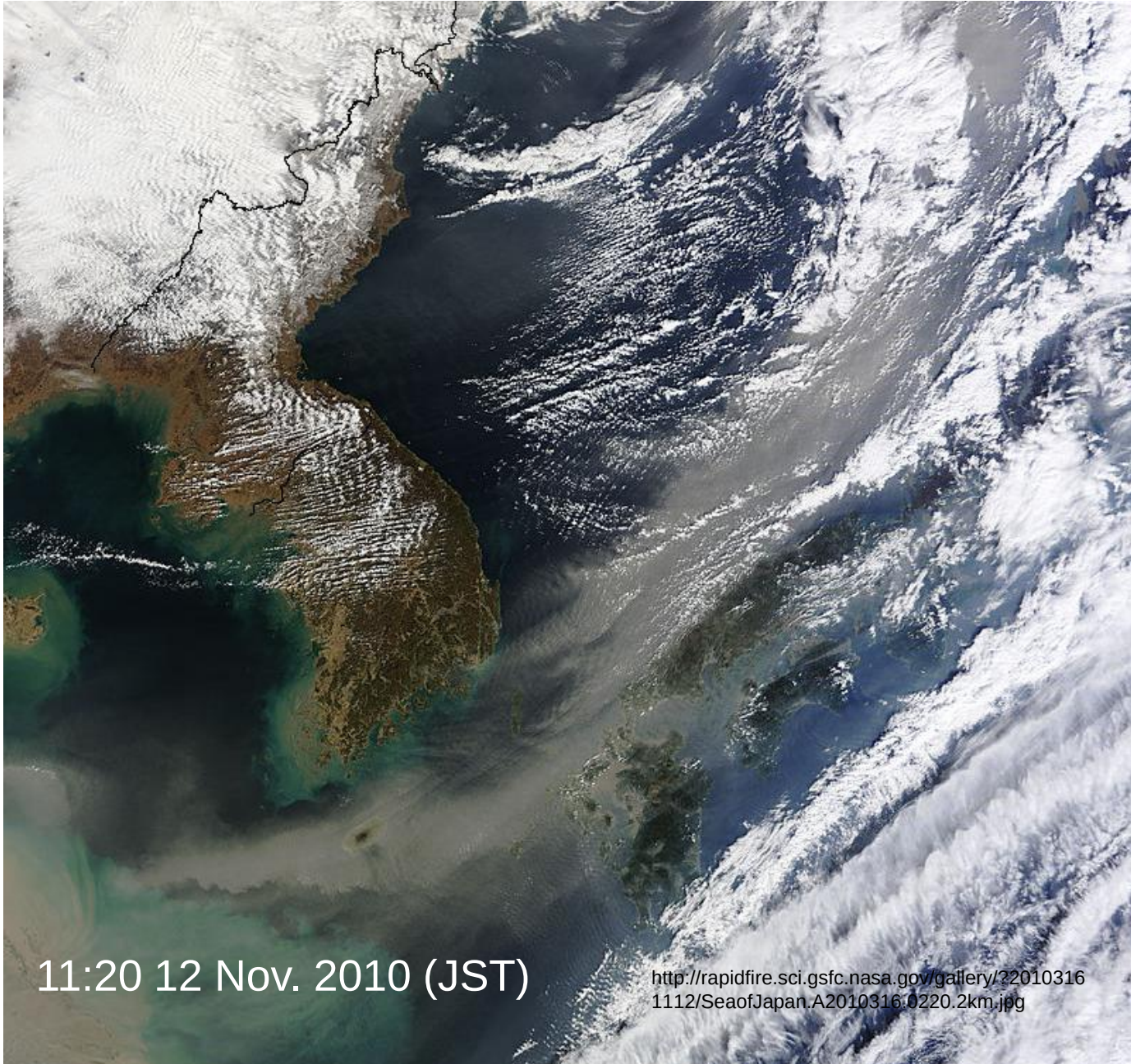


ポンプやフィルターを使用しない独自の黄砂捕集装置を作製

→ 流量約120 L/ min

（約2時間のフライトで約10m³を捕集可能）

2010年11月に観測された大規模な黄砂現象



11:20 12 Nov. 2010 (JST)

<http://rapidfire.sci.gsfc.nasa.gov/gallery/?20103161112/SeaofJapan.A2010316.0220.2km.jpg>

黄砂現象とともに飛来する細菌を培養することなく 遺伝子を指標として解析する



環境中に存在する細菌の大部分は
培養が困難

黄砂粒子表面に存在する細菌の可視化

蛍光顕微分光法

黄砂中に存在する細菌の現存量測定

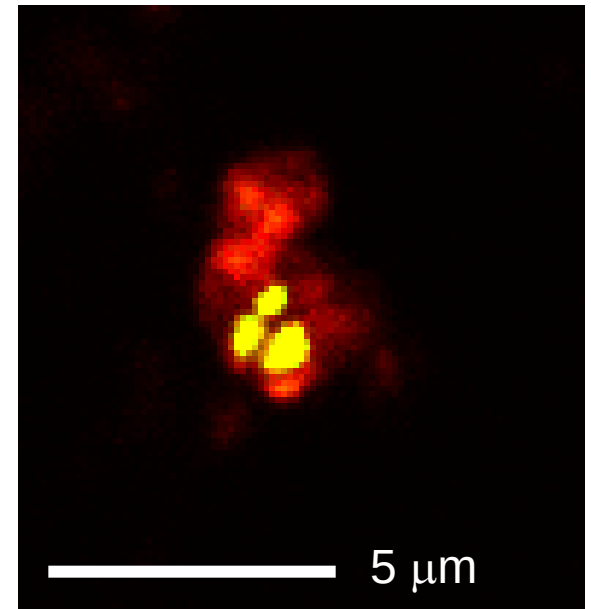
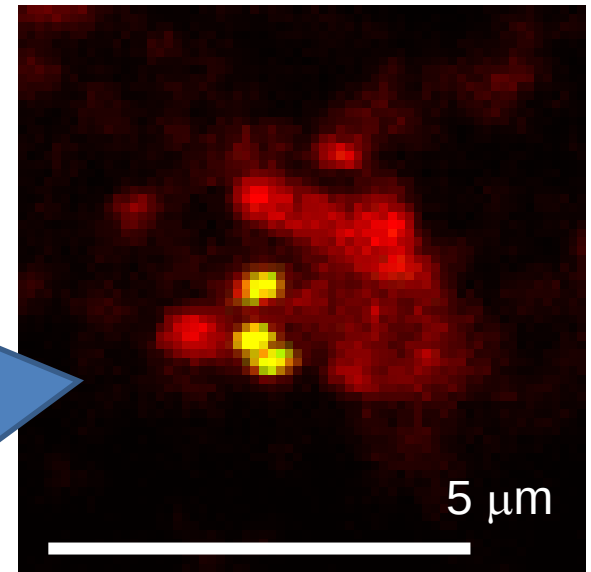
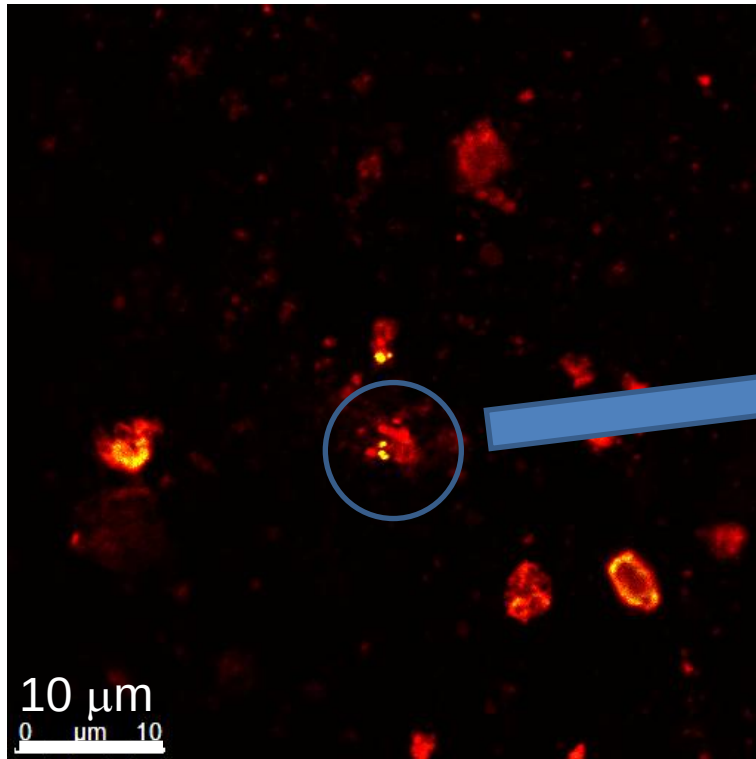
定量的PCR法

黄砂中に存在する細菌の多様性解析

PCR-DGGE*法,
クローンライブラリー法

*: Denaturant Gradient Gel Electrophoresis
(変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法)

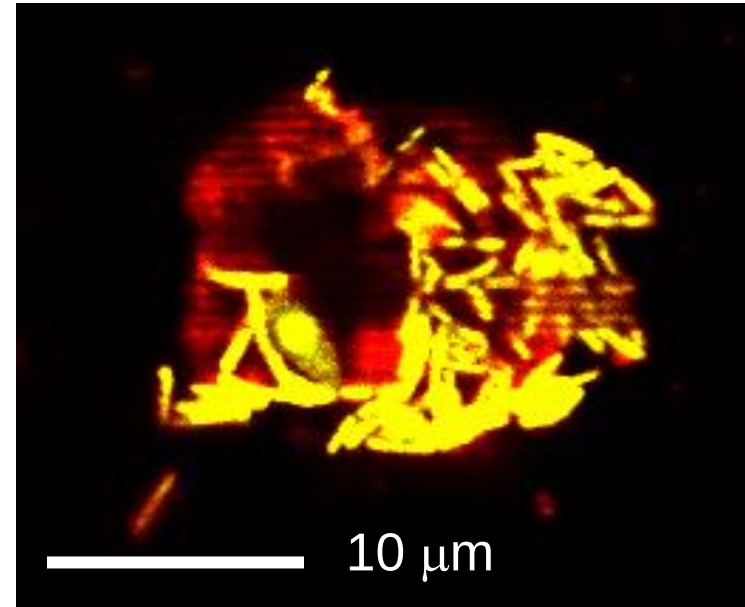
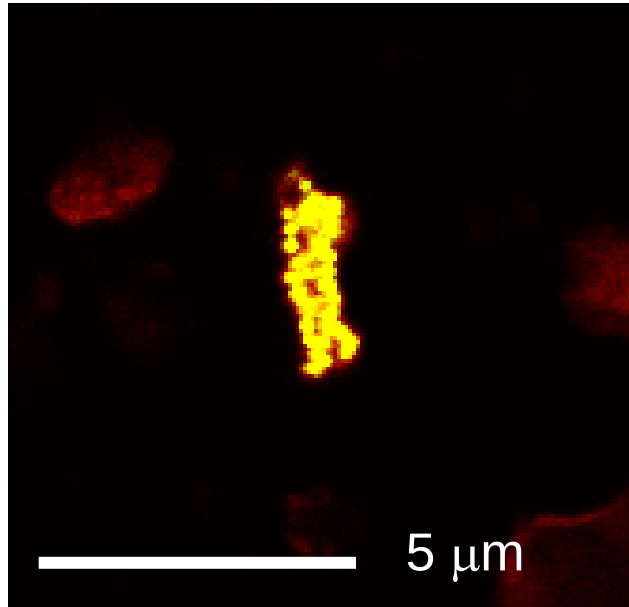
レーザー顕微鏡による顕微分光法を用いた 黄砂粒子表面に存在する細菌の可視化



サンプリング：日本海（鳥取県沿岸）上空
高度900 m（2010年11月12日）

黄砂ともに細菌が移動していることを
世界で初めて直接証明した。

増殖した黄砂粒子上の細菌



サンプリング：日本海（鳥取県沿岸）上空、高度900 m（2010年11月12日）

黄砂とともに移動する細菌は、増殖能を有することを、
世界で初めて直接証明した。

黄砂とともに飛来する細菌の 現存量ならびに多様性

黄砂中の細菌を

培養することなくDNAを抽出

→ 定量的PCR法による細菌の現存量測定

- ・ 16S rRNA遺伝子量をもとに算出

→ クローンライブラリー法による細菌の多様性解析

- ・ 16S rRNA遺伝子全長をクローニング
→ 480クローンの配列を解析

黄砂中の細菌を

培養しDNAを抽出

25°Cで7日間培養
(標準培地、R2A培地)

黄砂中の細菌現存量

サンプリング日	高度 (m)	黄砂	細菌現存量 (cells/m ³)
2010年11月12日	900	+	5×10^4
2010年11月13日	900	+	2×10^4
2010年11月16日	900	-	$< 5 \times 10^2$
2011年 5月 2日	900	+	7×10^4

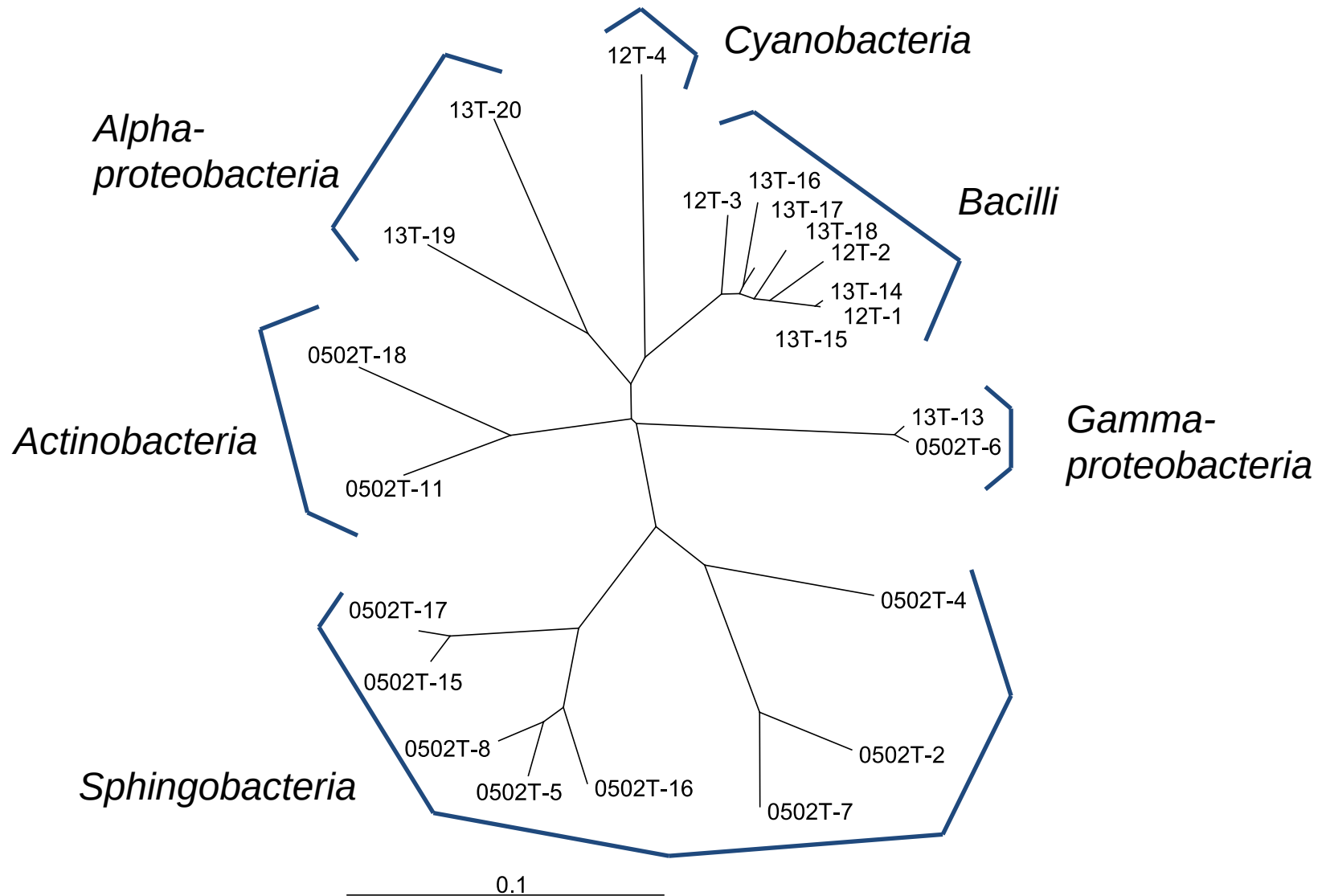
定量的PCRにより細菌の現存量を測定

標的遺伝子：16S rRNA遺伝子（4 copies/cellとして算出）

サンプリング：日本海（鳥取県沿岸）上空

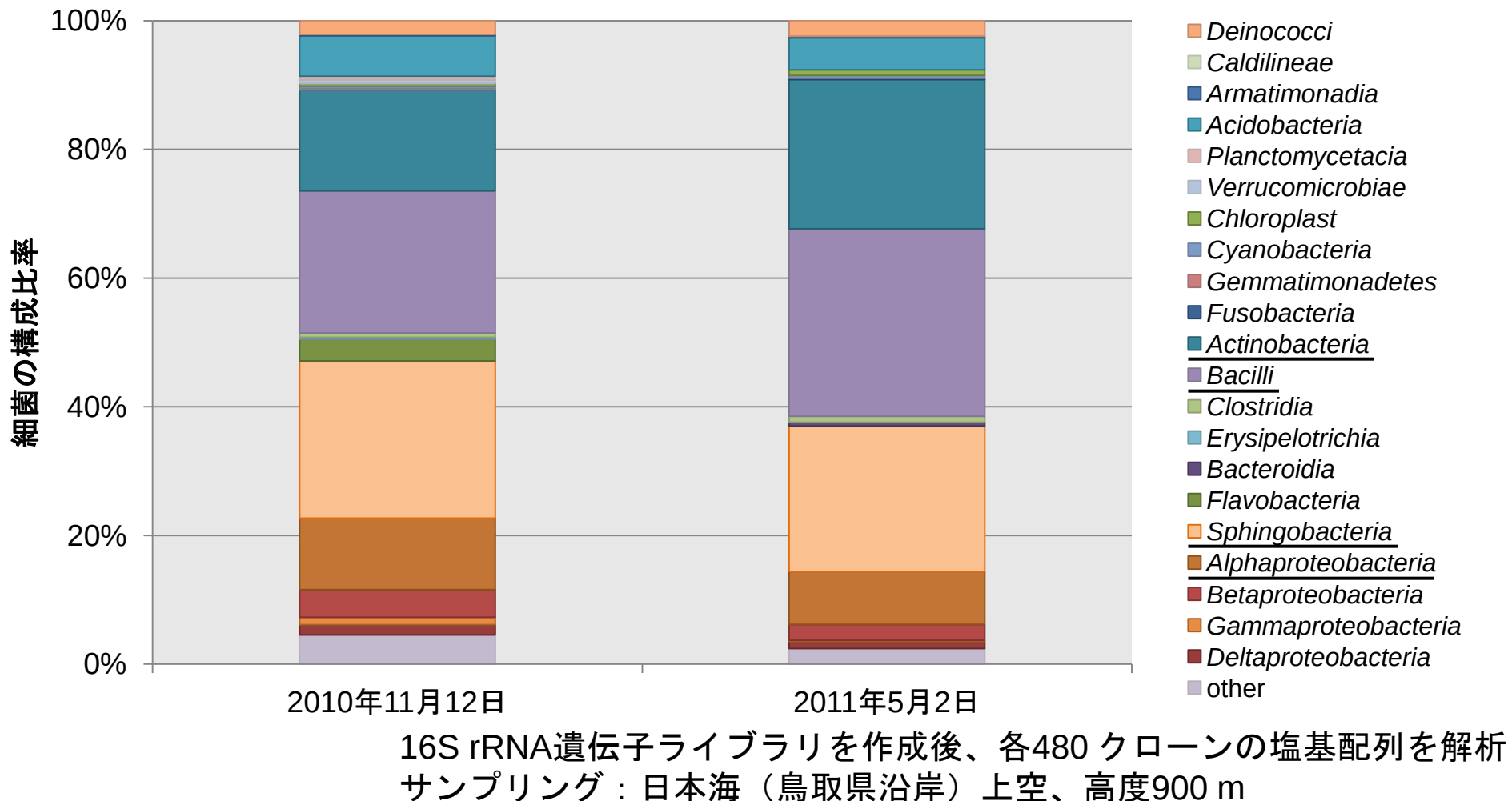
黄砂中の細菌現存量を測定し、その量は通常的生活環境における空気中の細菌量と同程度であることを明らかにした。

黄砂中に存在する細菌の系統解析



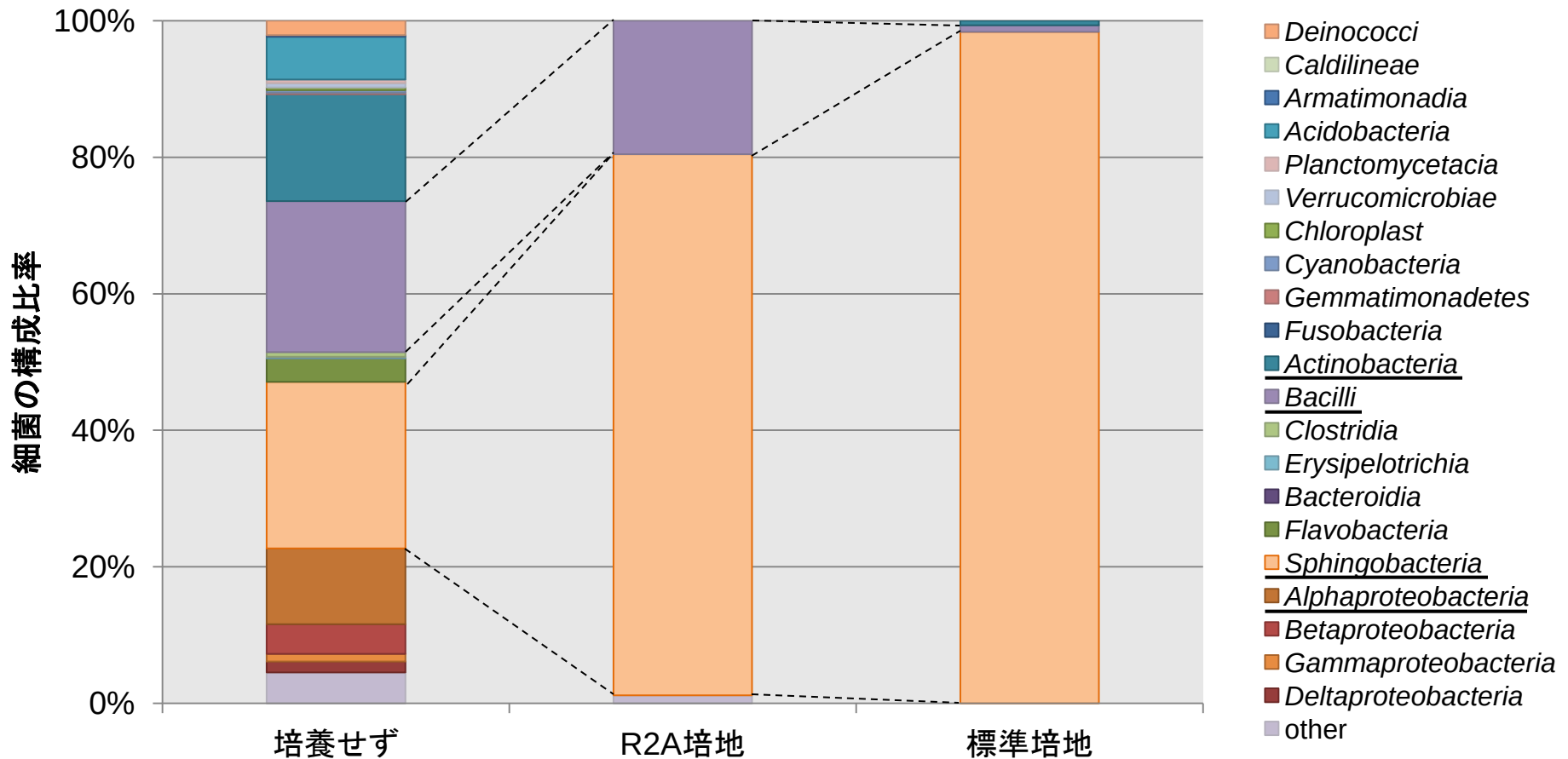
PCR-DGGEで分離されたバンドから塩基配列を解析（16S rRNA遺伝子）
サンプリング：日本海（鳥取県沿岸）上空、高度900 m

日本に飛来した黄砂中の細菌群集構造



黄砂とともに飛来する細菌種は、従来報告されていた以上に多種多様であることを明らかにした。

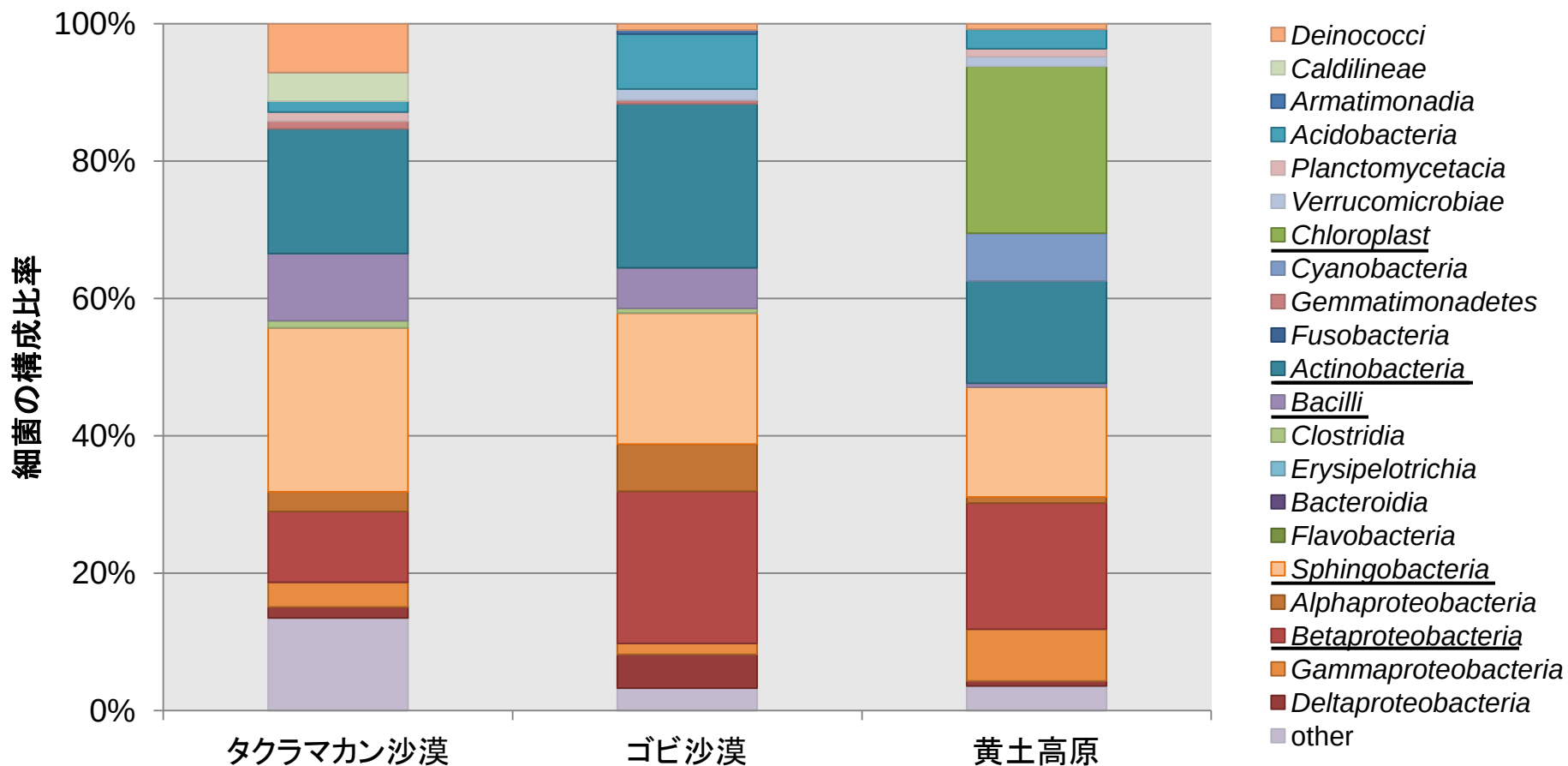
培養にともなう細菌群集構造の変化



特定の培地で培養後、16S rRNA遺伝子ライブラリを作成後、各480 クローンの塩基配列を解析
 サンプルング：日本海（鳥取県沿岸）上空、高度900 m（2010年11月12日）

培養法による黄砂中の細菌の群集構造解析には、培地の選択が重要である。

黄砂発生源土壤中の細菌群集構造



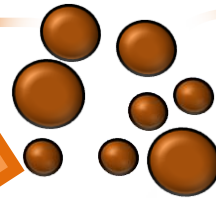
16S rRNA遺伝子ライブラリを作成後、各150 クローンの塩基配列を解析

乾燥地である黄砂発生源土壤においても、黄砂と同様に多種多様な細菌種が存在することを明らかにした。

黄砂の免疫影響・生体影響

生体侵入した場合...

黄砂に曝露すると...



黄砂

マクロファージ
(貪食細胞)

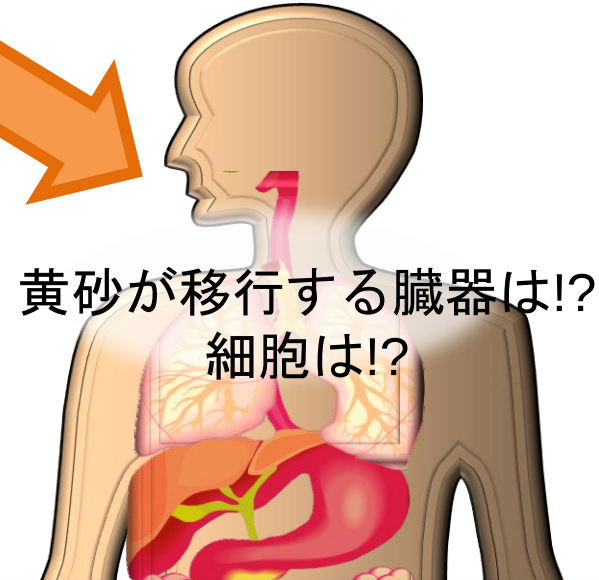


免疫応答

炎症性サイトカインの産生!?

炎症惹起!?

黄砂が免疫系へ及ぼす影響
についての詳細は不明



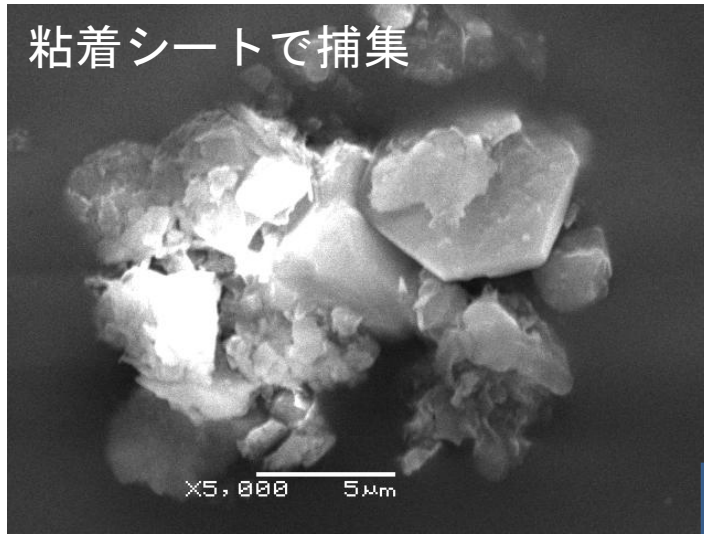
黄砂が移行する臓器は!?
細胞は!?

黄砂の生体影響のメカニズム
解明に有用な情報となり得る

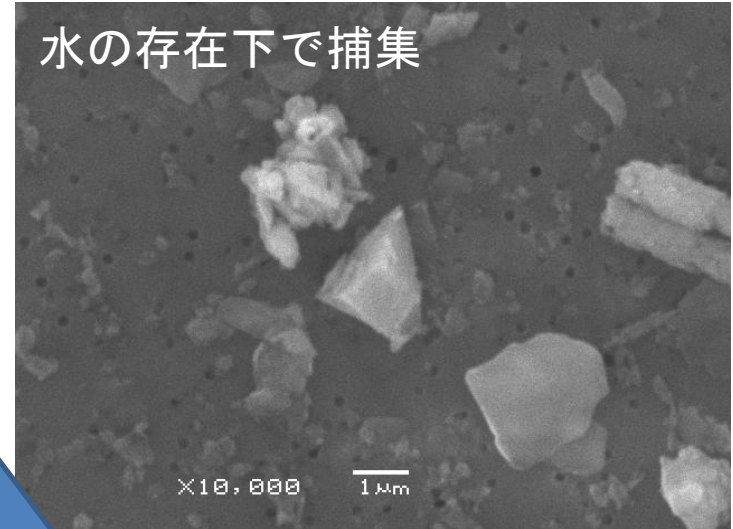
黄砂の体内動態・生体
影響の詳細は不明

水分との接触による黄砂粒子の分散

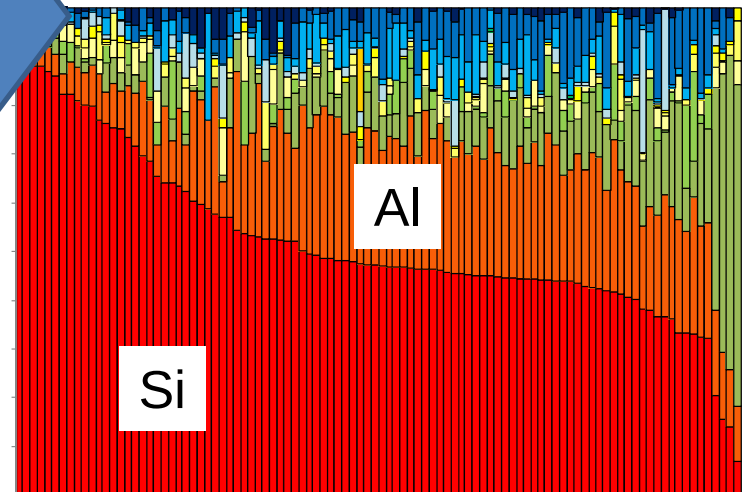
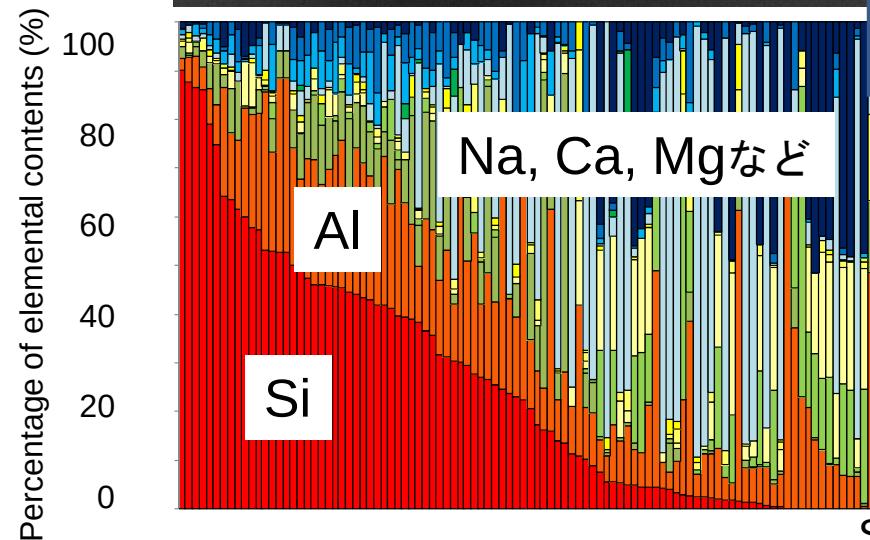
粘着シートで捕集



水の存在下で捕集



水の
存在下で

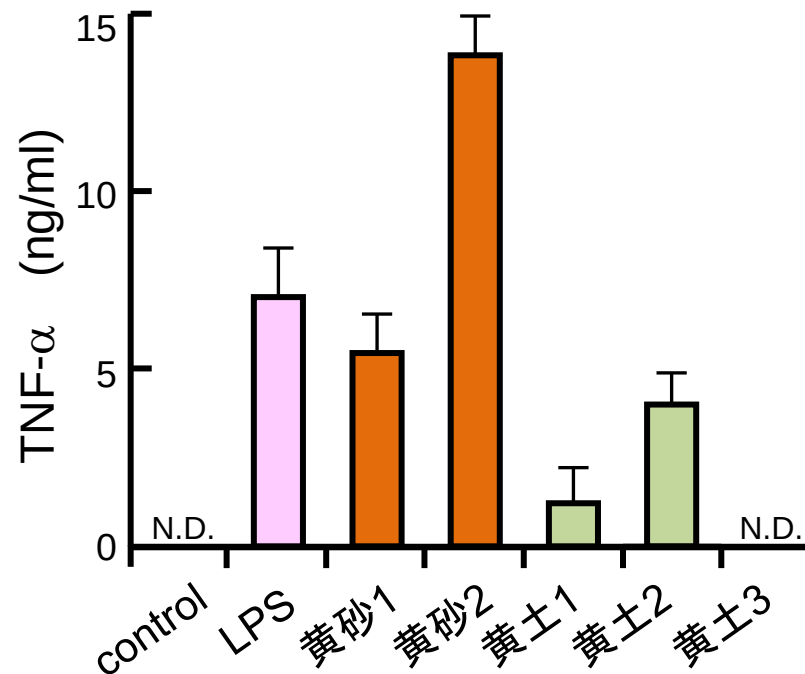
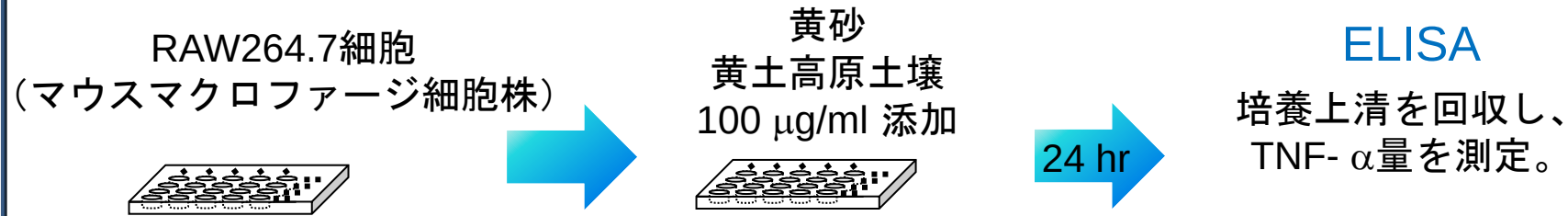


SEM-EDXにより、各100粒子の黄砂粒子の成分を分析

サンプリング：日本海（鳥取県沿岸）上空、高度900 m

黄砂粒子が粘膜上で分散し、粒径が1 μm以下の微粒子になる可能性を示した。

黄砂および黄砂発生源土壌の起炎性評価

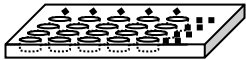


LPS (1.5 $\mu\text{g/ml}$) N.D.; not detected

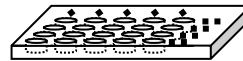
黄砂は黄土高原土壌と比較して、炎症性サイトカイン産生を強く誘導することがわかった。

黄砂発生源土壌の起炎性と粒子径

RAW264.7細胞
(マウスマクロファージ細胞株)



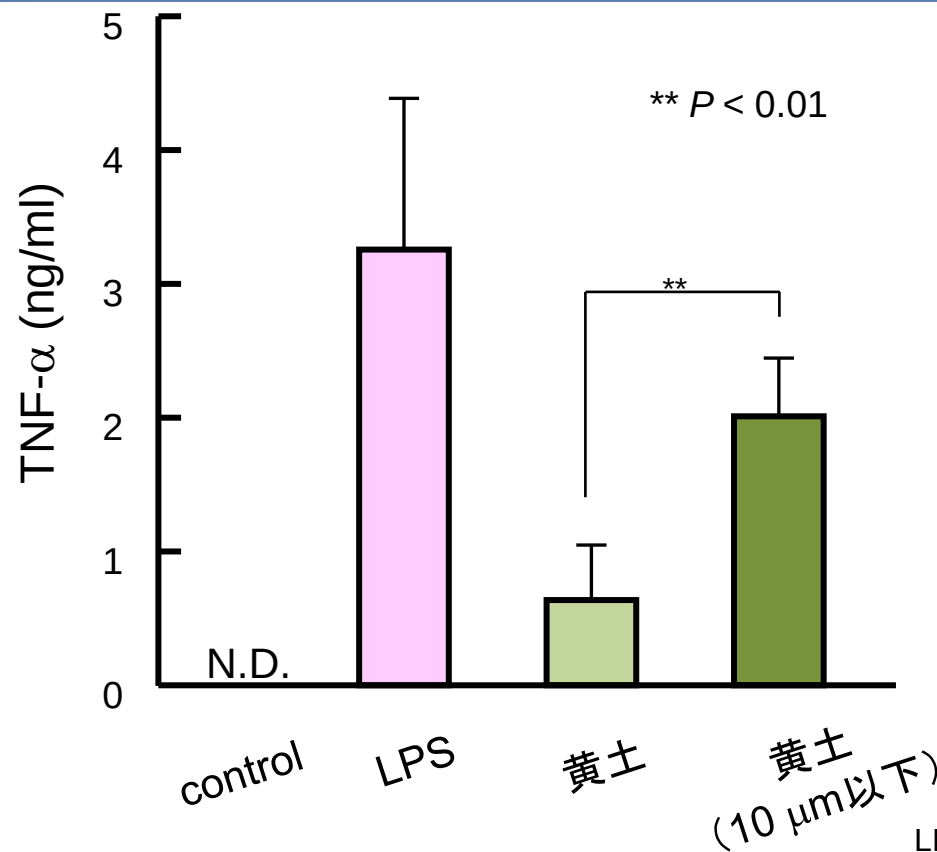
黄砂
黄土高原土壌
100 $\mu\text{g/ml}$ 添加



24 hr

ELISA

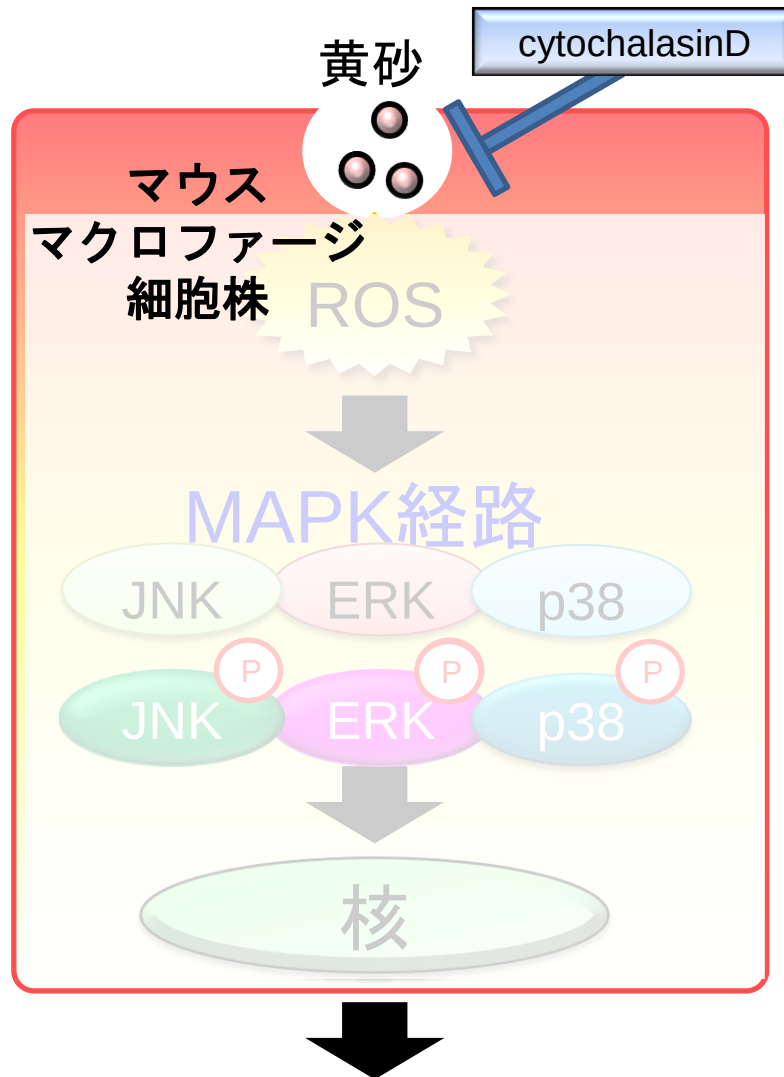
培養上清を回収し、
TNF- α 量を測定。



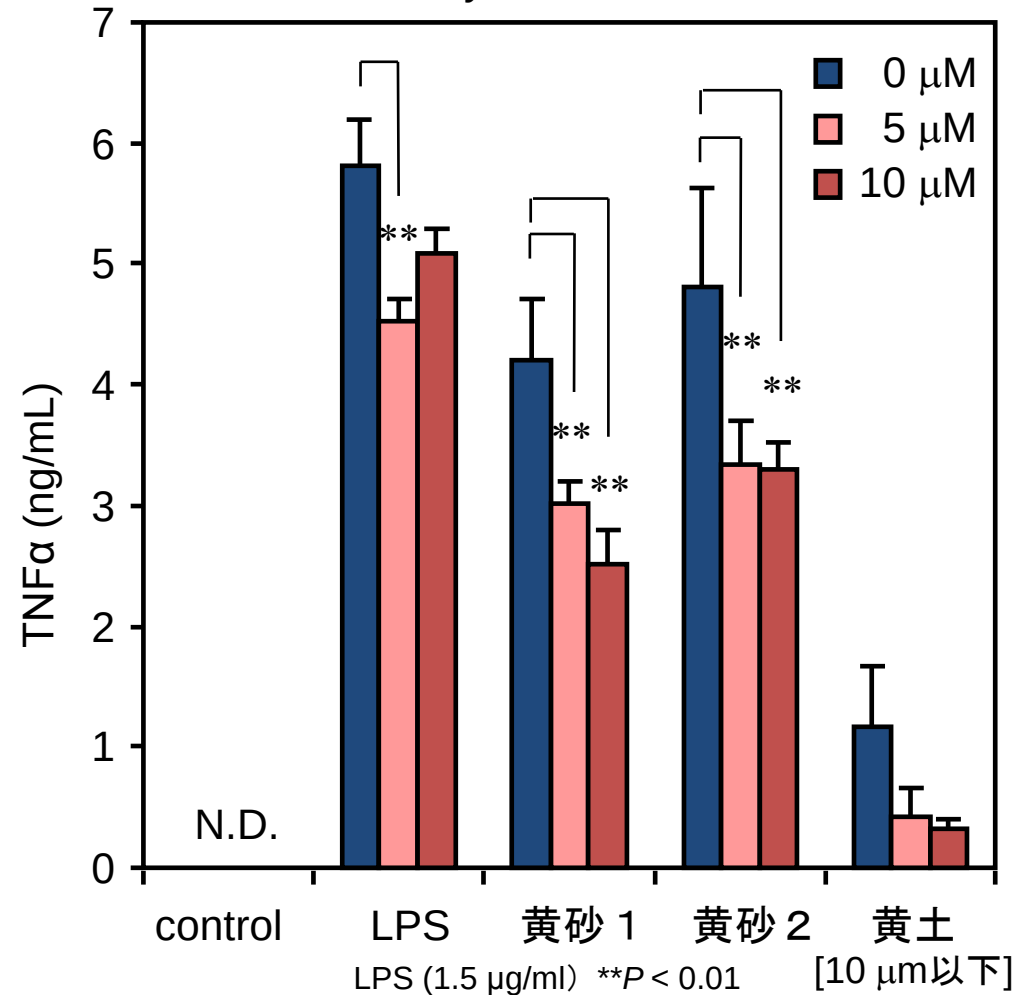
LPS (1.5 $\mu\text{g/ml}$) N.D.; not detected

小さな粒子ほど強い起炎性を有することがわかった。

ファゴサイトーシスによる炎症惹起評価

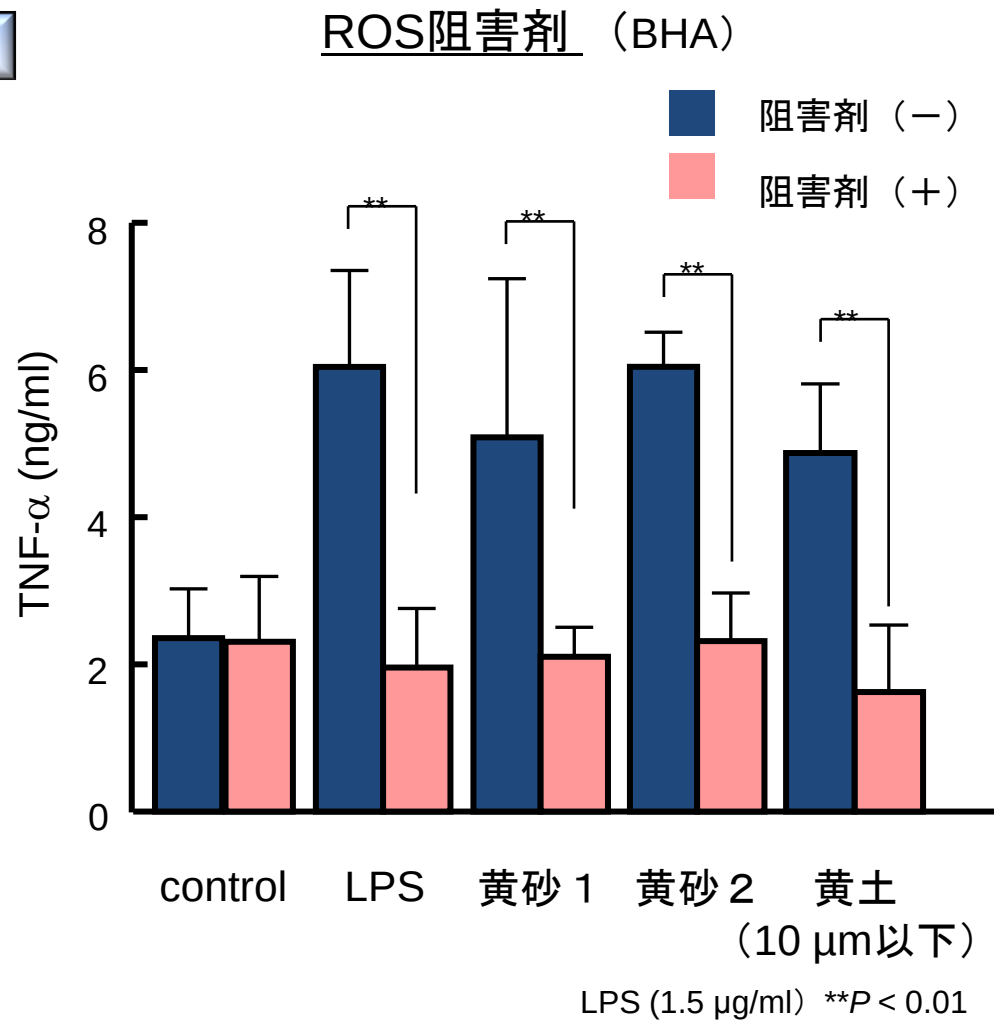
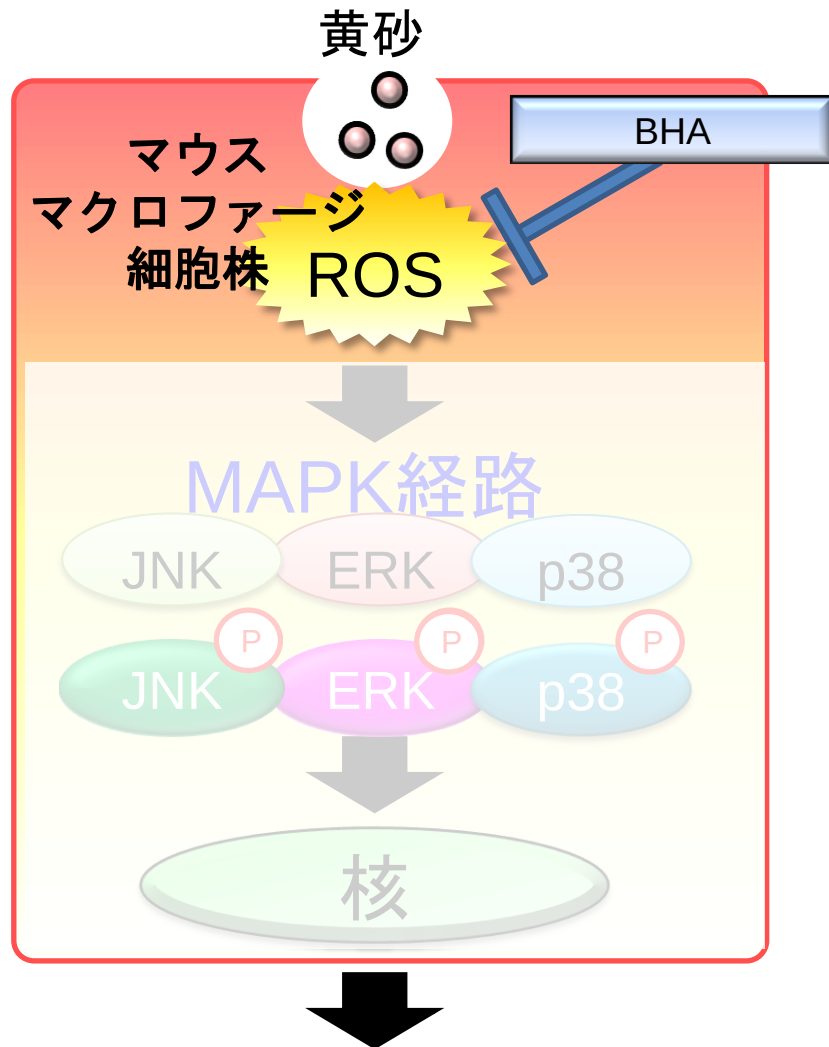


ファゴサイトーシス阻害剤
(cytochalasinD)



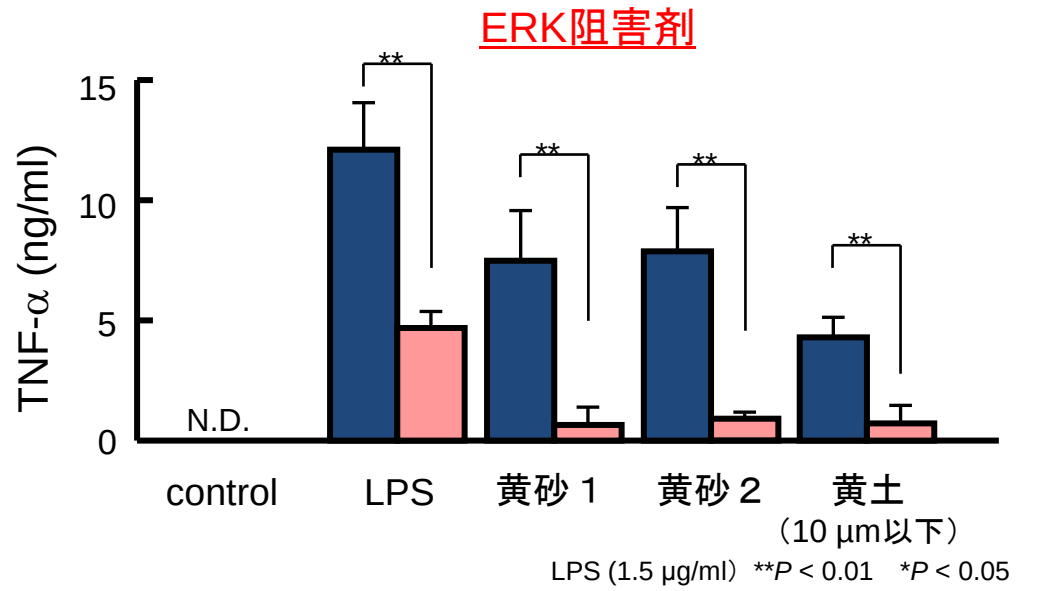
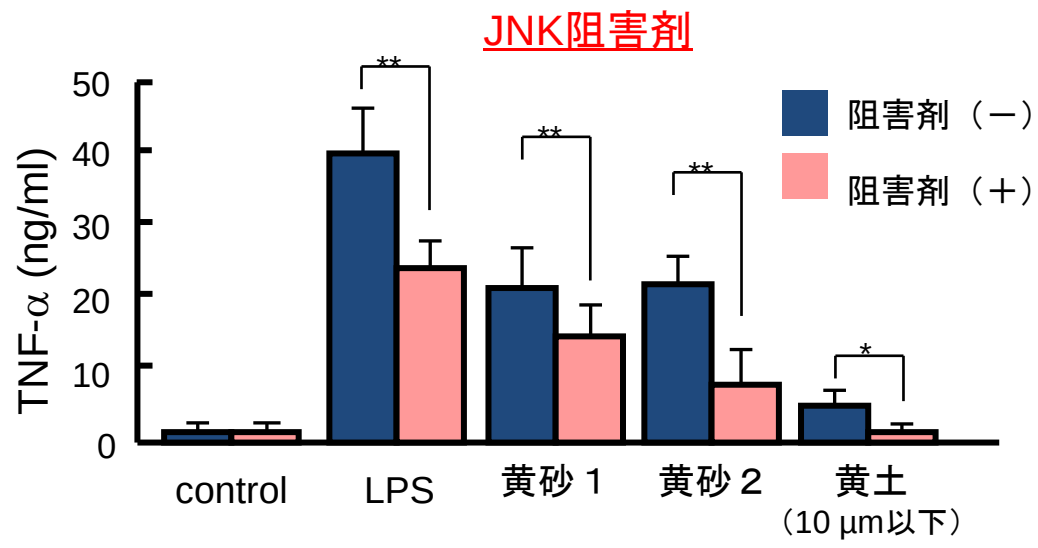
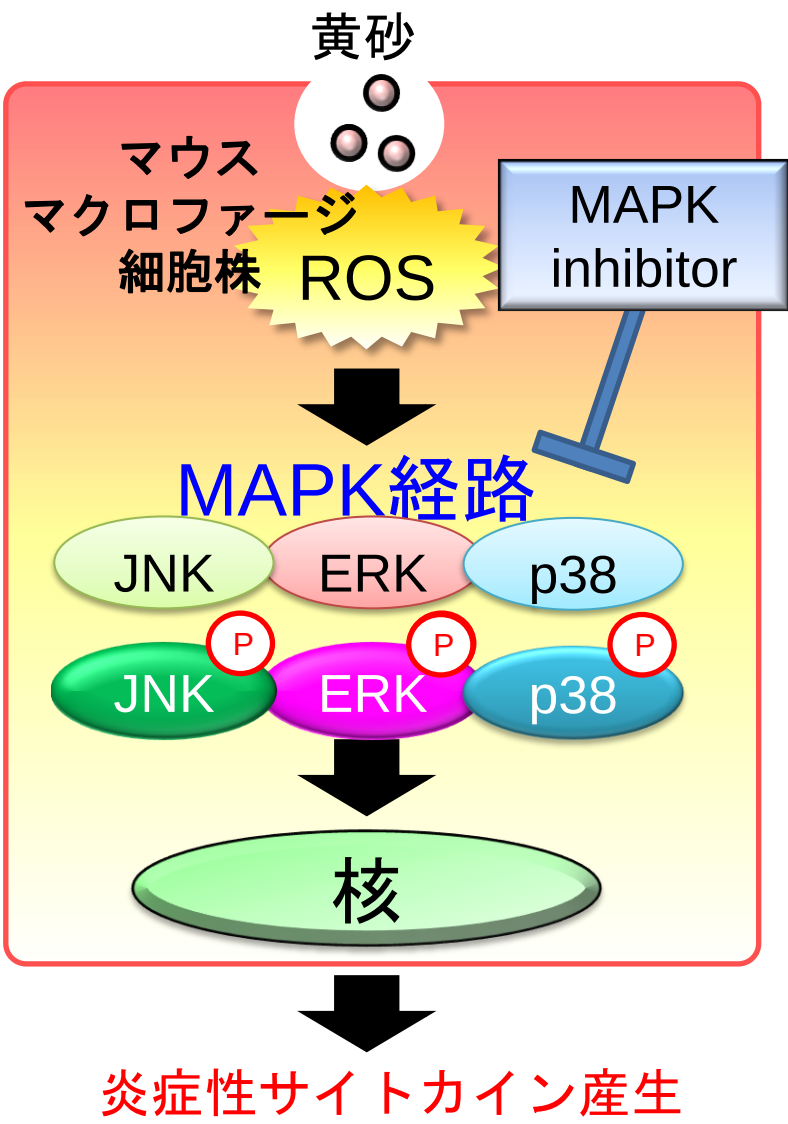
黄砂による炎症性サイトカインの産生には、ファゴサイトーシスによる黄砂の取り込みが関与していることが示唆された。

黄砂による活性酸素種（ROS）の産生



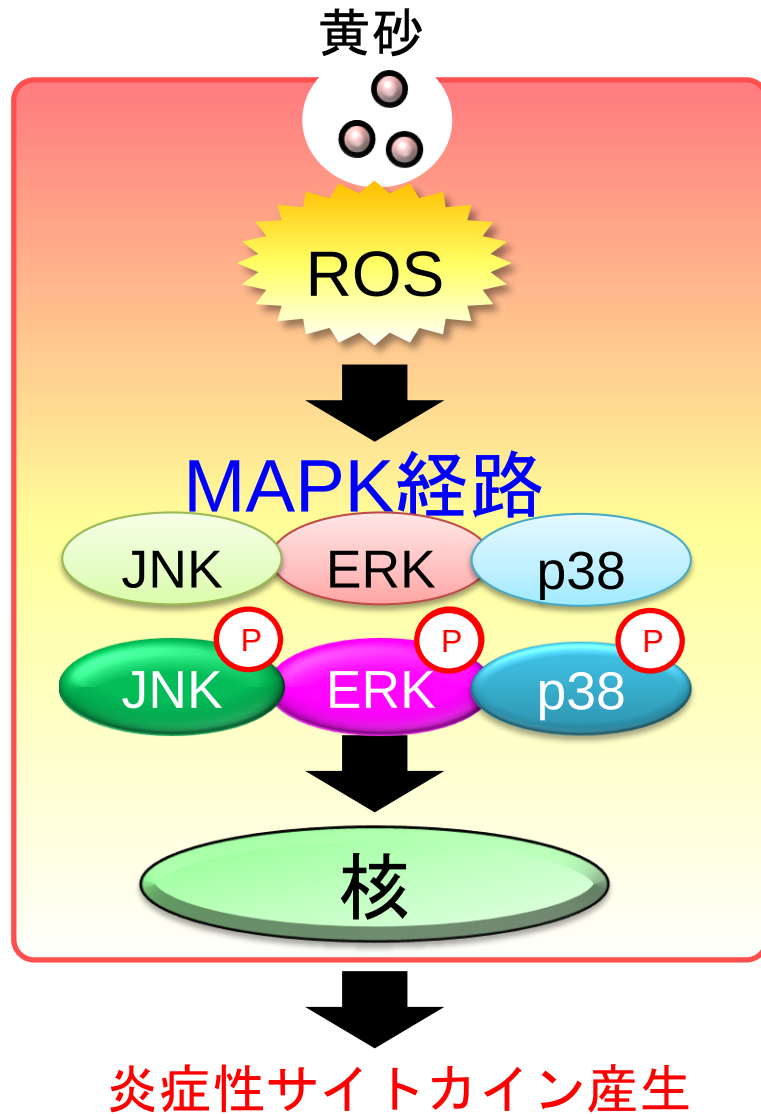
黄砂による炎症性サイトカインの産生にはROSなどの酸化ストレス因子が関与していることが示唆された。

黄砂の炎症惹起におけるMAPキナーゼ（MAPK）の関与



黄砂はMAPK経路の活性化を介して炎症を惹起する可能性が示唆された。

黄砂による炎症性サイトカイン産生の誘導の機序



ファゴサイトーシスによる黄砂の取り込み



活性酸素の発生



MAPキナーゼ経路の活性化



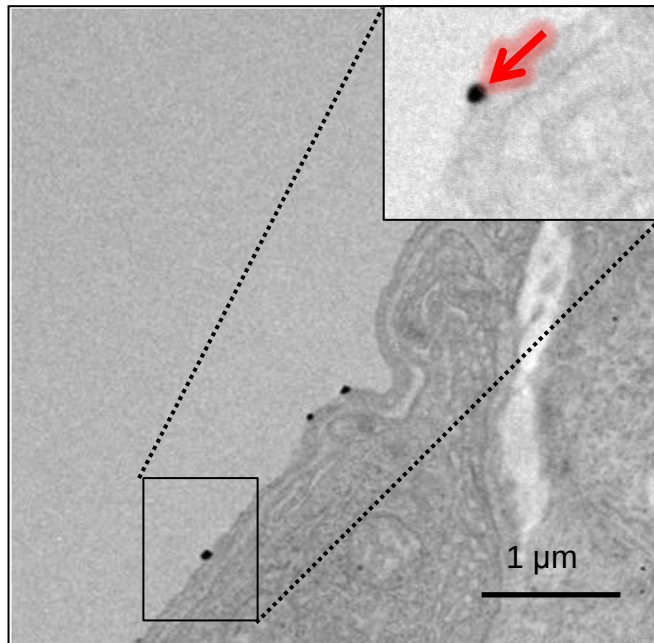
炎症惹起

黄砂による炎症性サイトカイン産生の誘導の機序の一部を明らかにした。

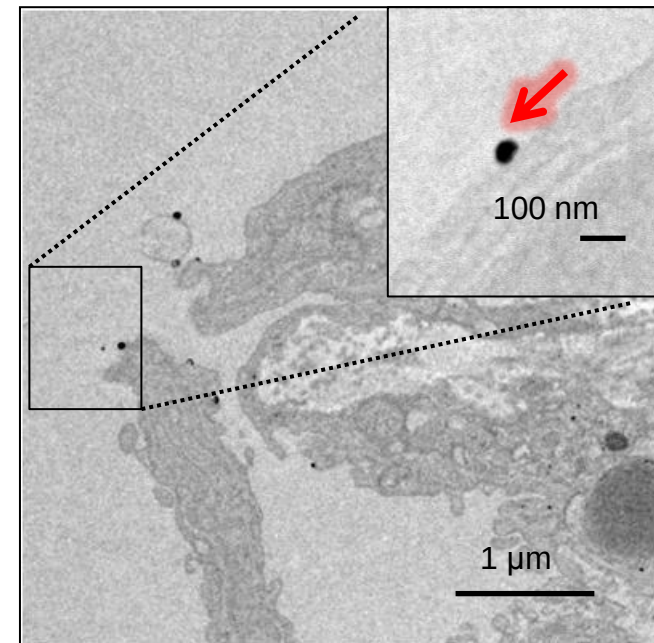
黄砂の体内動態評価



黄砂投与群



黄土高原土壤投与群



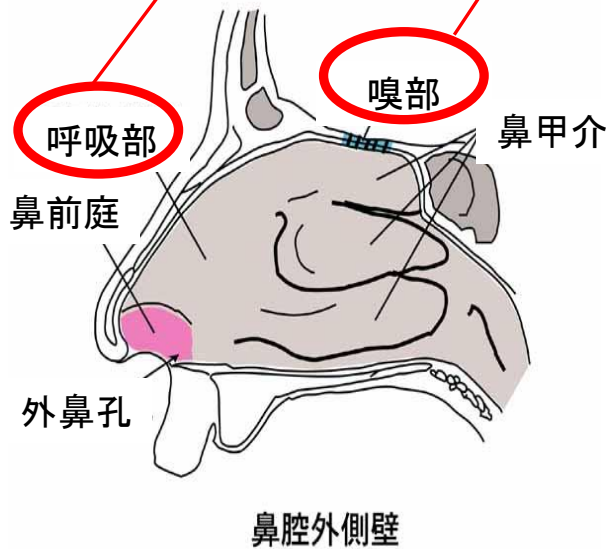
黄砂、黄土高原土壤投与群ともに肺胞表面で粒子が確認された。

黄砂および黄砂発生源土壌の病理学的解析

鼻腔構造

吸い込んだ空気の加湿・加温に働く鼻腔下部で、呼吸気の通ずる道。

嗅覚器である嗅細胞を含む部分。嗅細胞から出発する嗅神経の軸索が脳に繋がる。



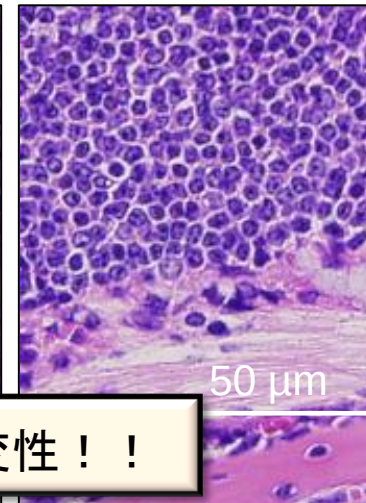
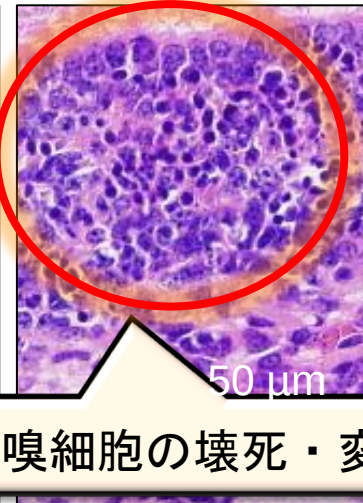
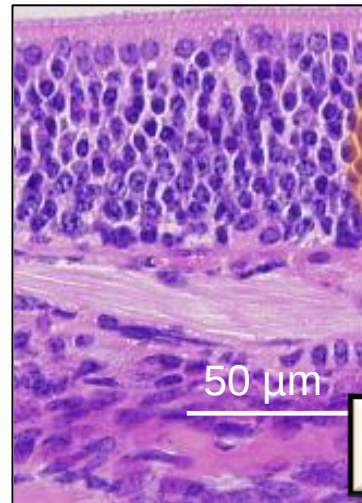
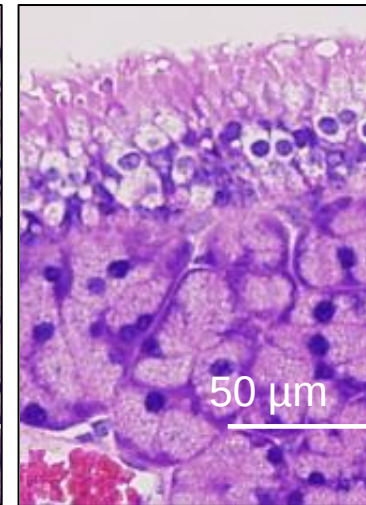
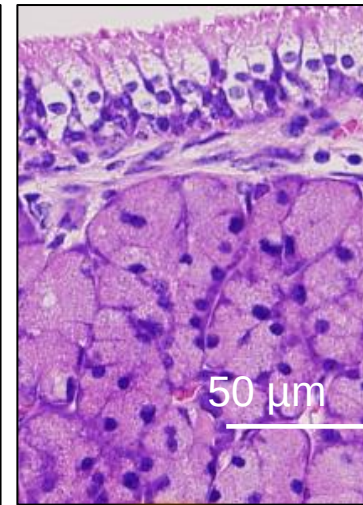
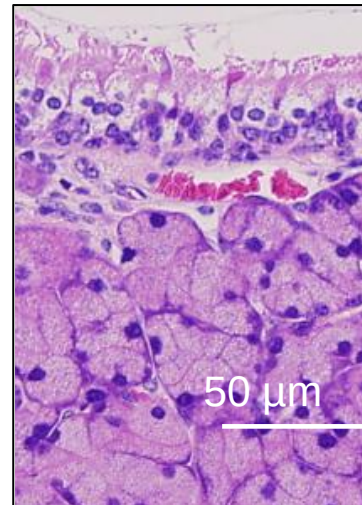
呼吸部上皮細胞

嗅部上皮細胞

Control

黄砂

黄土高原土壌



嗅細胞の壊死・変性！！

黄土高原土壌投与群において異常所見は観察されなかったが、黄砂投与群では、嗅細胞の壊死や変性が観察された。

本研究の成果

微生物のキャリアーとしての黄砂：

- ・黄砂は細菌のキャリアーとなり、黄砂とともに飛来する細菌の現存量は上空で約 10^4 cells/m³（生活環境中の空気と同程度の細菌量）
- ・黄砂とともに飛来する細菌種はこれまで報告されていた以上に多種多様

微小粒子としての黄砂：

- ・黄砂粒子は水に触れることにより1 μ m以下の微粒子に分散する
- ・黄砂粒子は強い起炎性を示し、微細な粒子ほどより強い起炎性を有する
- ・黄砂粒子は生体内に侵入し、細胞障害を起こす可能性がある



- ・黄砂とともに飛来する細菌は、定着や遺伝子伝播により生態系に影響を及ぼしうる
- ・微小粒子としての黄砂は、生体に影響を与える可能性がある

見込まれる環境政策への貢献

黄砂現象の環境・生態系・健康へのリスクを評価するための
基盤的・普遍的知識ベースを構築



科学的データに立脚した環境リスクマネジメントや
リスクコミュニケーション等の政策に貢献

国際的に公表： 地球規模の問題解決のための政策立案、
国際協力体制の確立

一般社会へ紹介： 科学的根拠のない情報にもとづく社会的不安の排除