

平成23年度 環境省環境研究総合推進費
環境問題対応型研究課題

研究課題番号: 5C-1155

「黄砂エアロゾル及び付着微生物・
化学物質の生体影響と
そのメカニズム解明に関する研究」

研究代表者 市瀬孝道（大分県立看護科学大学）

【研究期間 平成23年～25年】

累積予算額: 115,612千円

研究体制

サブテーマ 1. 黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質による呼吸器系
・生殖器系・免疫系への影響とそのメカニズム解明

サブサブテーマ (1) 黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質による呼吸器系
・免疫系への影響とそのメカニズム解明

大分県立看護科学大学（市瀬孝道・定金香里）

サブサブテーマ (2) 黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質による生殖器系
への影響とそのメカニズム解明

大分県立看護科学大学（吉田成一）

サブサブテーマ (3) 免疫担当細胞と気管支上皮細胞における黄砂エアロゾル
及び付着微生物・化学物質の影響解明

京都大学&国立環境研究所（高野裕久・小池英子・西川雅孝）

サブテーマ 2. 黄砂付着微生物の解析とその毒性物質の検出に関する研究

金沢大学（小林史尚・牧輝弥・柿川真紀子・東朋美・山田 丸）

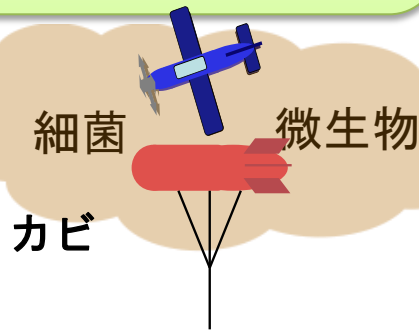
サブテーマ 3. 黄砂エアロゾルに含まれる化学物質の計測とその細胞毒性
に関する研究

産業医科大学（嵐谷奎一・吉田安宏・上野 晋）

研究目的、サブテーマとの連携と研究全体の流れ

サブテーマ2

黄砂付着**微生物**の解析
とその毒性物質の検出
に関する研究
毒性物質の検出

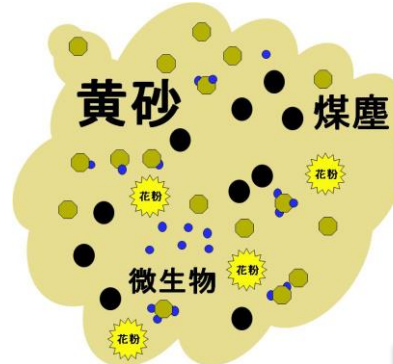


サブテーマ3

黄砂エアロゾルに含まれる**化学物質**の計測とその
細胞毒性に関する研究
細胞毒性の分析



微生物解析/
採取微生物
の提供



黄砂の採取
提供/化学
物質の分析

【環境政策への貢献】

サブテーマ1

黄砂エアロゾル及び
付着微生物・化学物質
による**呼吸器系・生殖
器系・免疫系**への影響
とそのメカニズム解明

**黄砂の生体影響を
実験的に検証**

(動物実験・培養細胞実験)

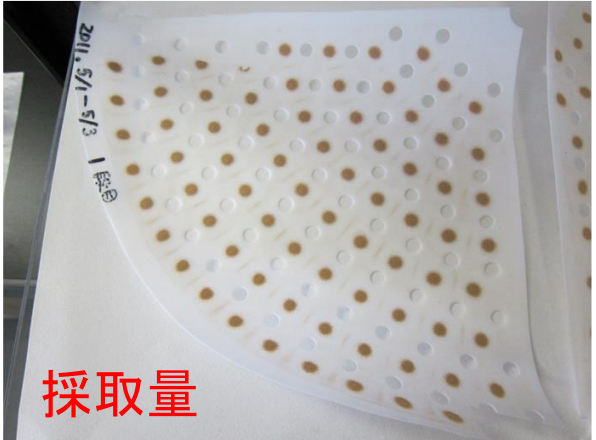
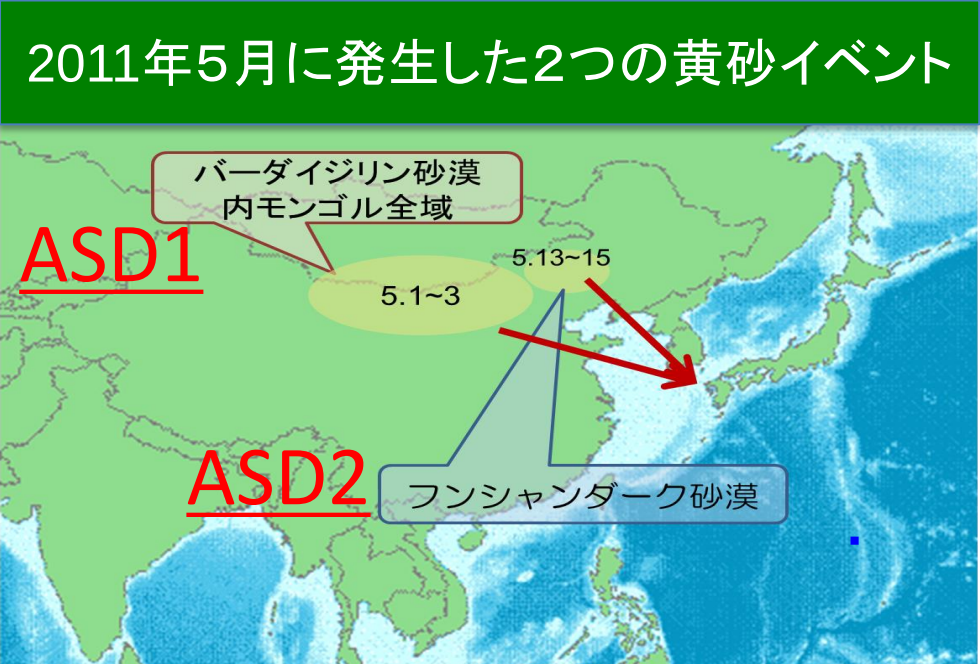
黄砂の健康影響解明

1. 黄砂の健康影響や健康被害を見極めるための知見
2. 健康被害予防対策や関連する政策の立案に貢献
3. 国際的な黄砂問題を解決するための基礎資料として貢献

サブテーマ3 黄砂エアロゾルに含まれる化学物質の計測とその細胞毒性に関する研究

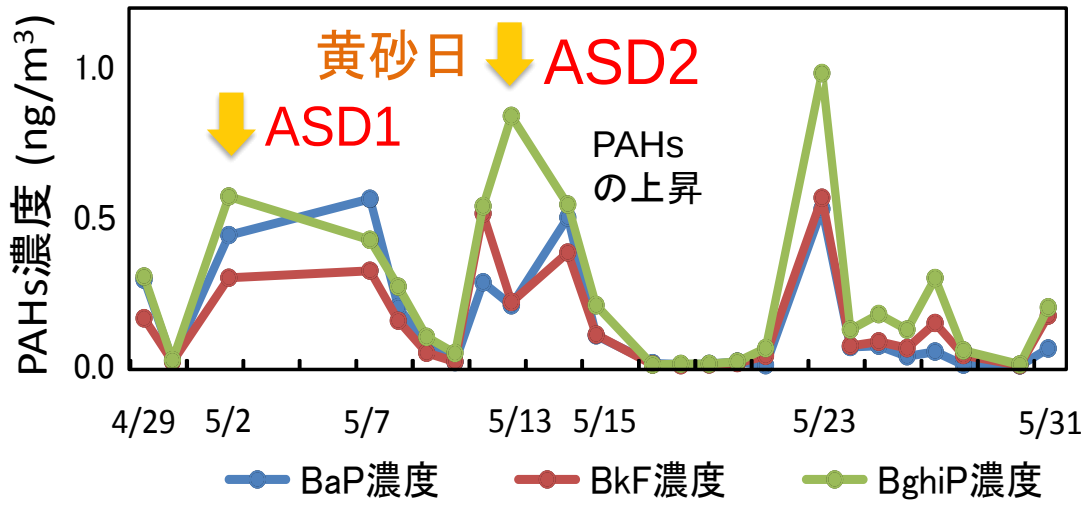
産業医科大学(嵐谷 奎一)

黄砂粒子捕集フィルター 2011年5月1~3日

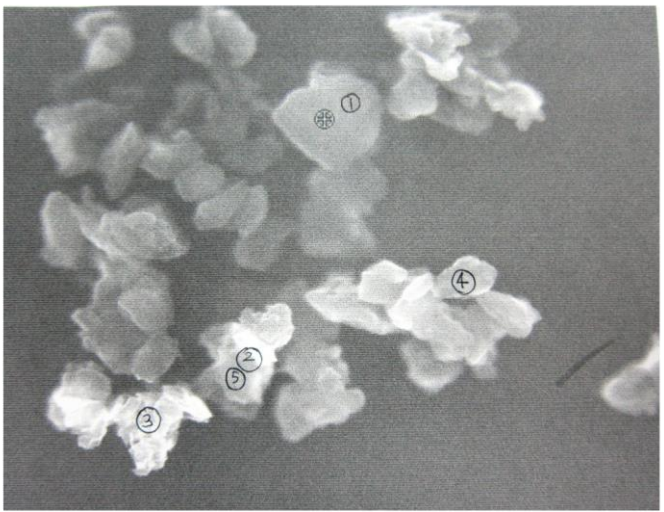


採取量

ASD1: 250mg ASD2: 58mg



2011年5月1日黄砂の電子顕微鏡写真



2011年4月末~ 5月 大気中のPAHs濃度の日間変動 (北九州市折尾)

黄砂の粒子径と成分組成

硝酸塩・硫酸塩が多い

表2. ASD1とASD2黄砂のアニオン、カチオン、ミネラル成分及び微生物由来の毒素成分量

ASD1

ASD2

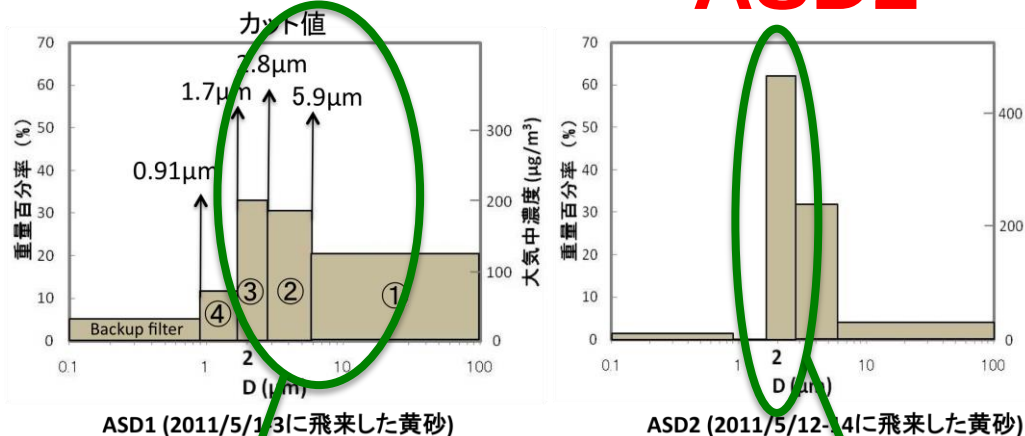


図1. 黄砂の粒径別重量(%)分布

PM10が多い

PM2.5が多い

表2 2種の黄砂の主要多環芳香族炭化水素(PAHs) 濃度

測定日	PAHs濃度(ng/g,粉じん) 濃度					
	BaP	BkF	BghiP	BbF	Indeno	Chrysene
ASD1	439	296	569	170	377	734
ASD2	660	455	672	350	552	1122

(注) 粒径0.9μm以上の黄砂粉じん中のPAHs濃度表示

BaP:Benzo(a)pyrene,BkF:Benzo(k)fluoranthene,BghiP:Benzo(ghi)perylene,
BbF:Benzo(b)fluoranthene,Indeno:Indeno(1,2,3-cd)pyrene.

ASD1:2011年5月1～3日採取黄砂; ASD2:2011年5月12～14日採取黄砂

PAHsが多い

成分	含有量(μ g/mg)	
	ASD1(5/1-3)	ASD2(5/12-14)
Cl ⁻	11	54
NO ₃ ⁻	13	50
SO ₄ ²⁻	9.2	16
NH ₄ ⁺	0.96	0.023
Na ⁺	72	35
Ca ²⁺	14	23
Mg ²⁺	1.5	5.2
SiO ₂	710	510
Al ₂ O ₃	130	94
Fe ₂ O ₃	54	43
CaO	25	14
CaCO ₃	35	58
MgO	30	27
TiO ₂	6	4.2
LPS(ng/mg)	0.061	0.214
β-Glucan(ng/mg)	0.355	28.16

シリカが多い

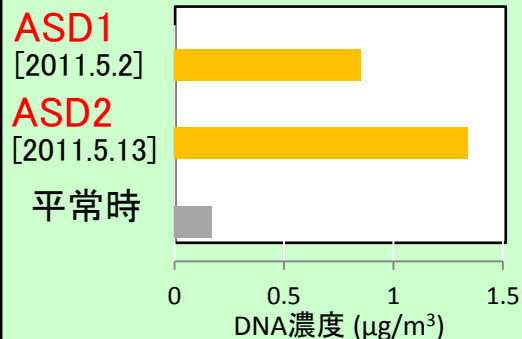
微生物成分が多い

サブテーマ 2 黄砂付着微生物の解析とその毒性物質の検出に関する研究

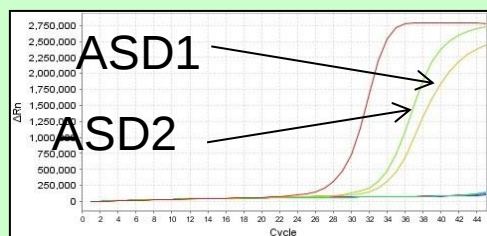
金沢大学(小林史尚 他4名)

① 定点観測・定量分析

2011, 5月黄砂



ASD2の大気DNA濃度は平常時の約8倍, ASD1の約1.5倍

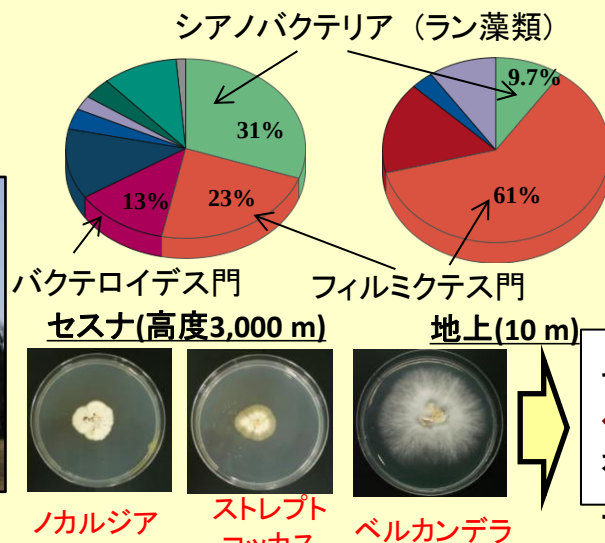


リアルタイムPCRを用いたバチルス・スタフィロコッカス検出

ASD2の枯草菌・黄色ブドウ球菌数はASD1の約3倍

② 上空の直接採集・生物分析

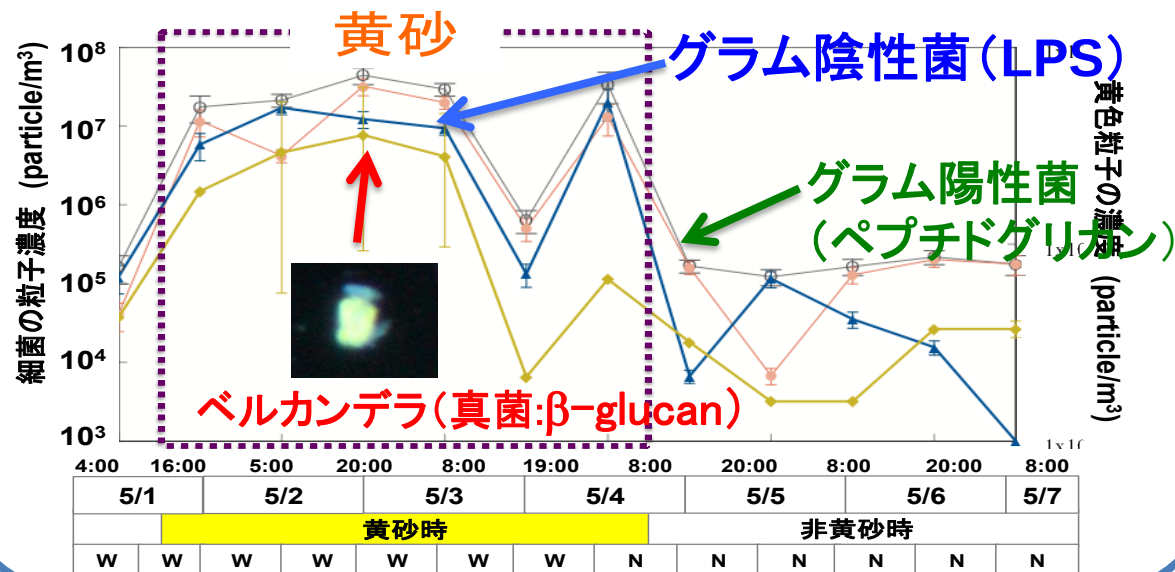
2012年3月に2回・2013年3月に1回能登半島上空にて実施



日本を通過する菌種(バクテロイデス等)と落下菌種(ラン藻類等)がある。

単離菌株の放線菌, ベルカンデラ真菌をサブテーマ1に提供

黄砂エアロゾル数の経時変化(2011年5月1~4日)



サブテーマ 1

サブテーマ 1. 黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質による呼吸器系・生殖器系・免疫系への影響とそのメカニズム解明

サブサブテーマ (1) 黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質による呼吸器系・免疫系への影響とそのメカニズム解明

大分県立看護科学大学（市瀬 孝道・定金 香里）

サブサブテーマ (2) 黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質による生殖器系への影響とそのメカニズム解明

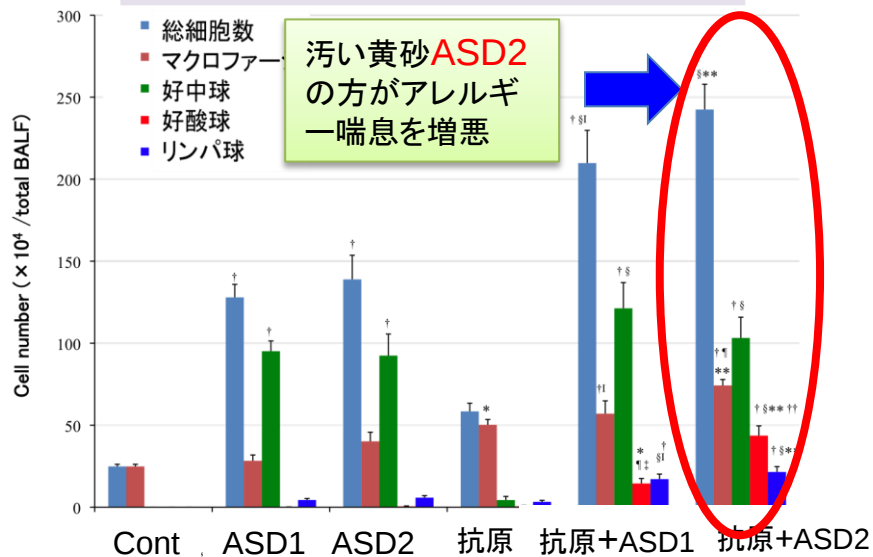
大分県立看護科学大学（吉田 成一）

サブサブテーマ (3) 免疫担当細胞と気管支上皮細胞における黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質の影響解明

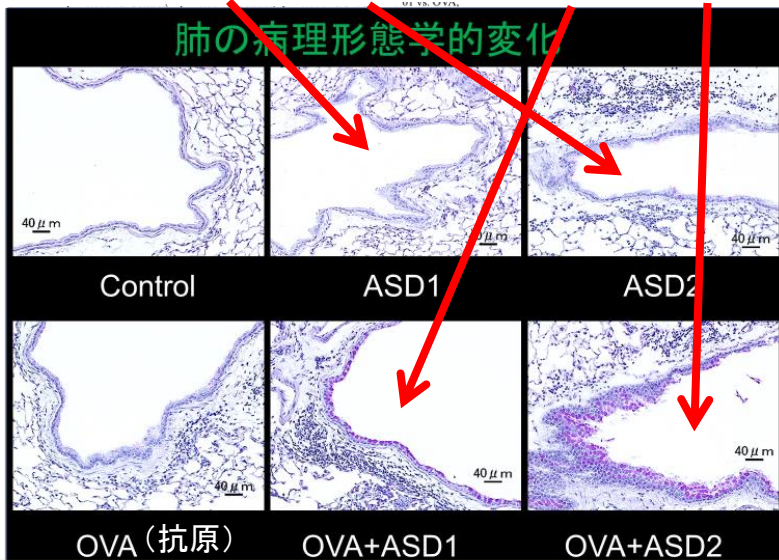
京都大学&国立環境研究所（高野 裕久・西川 雅孝）

イベントが異なる黄砂(ASD1とASD2)のアレルギー喘息への影響

肺洗浄液中の炎症細胞の変化



肺の病理形態学的変化



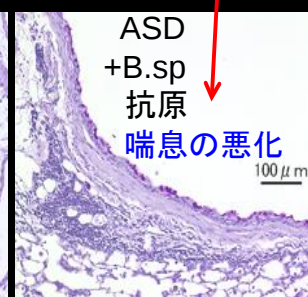
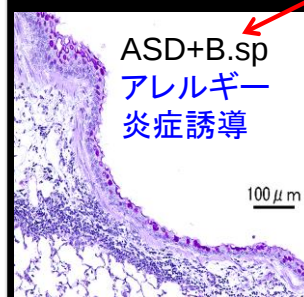
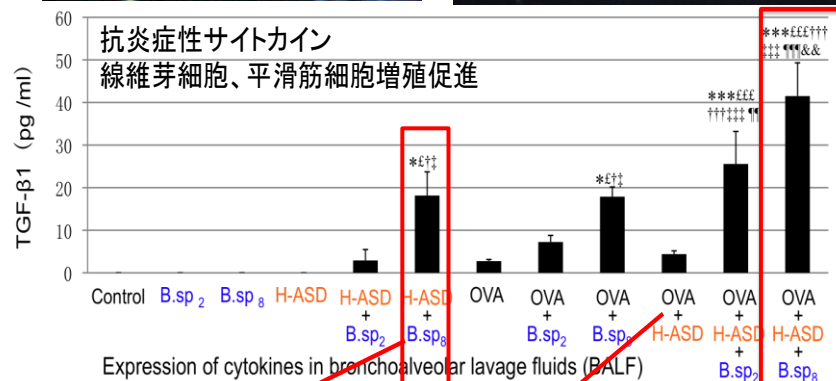
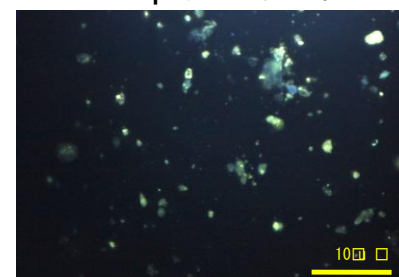
PM2.5や微生物成分(LPS, β -glucan)を多く含む黄砂はアレルギー喘息を悪化する

黄砂エアロゾルに含まれるベルカンデラ真菌のアレルギー喘息への影響

【ベルカンデラ(B.sp)真菌】

B.sp 菌糸体

B.sp 但のう子菌



H-ASD+B.sp 8 μ g

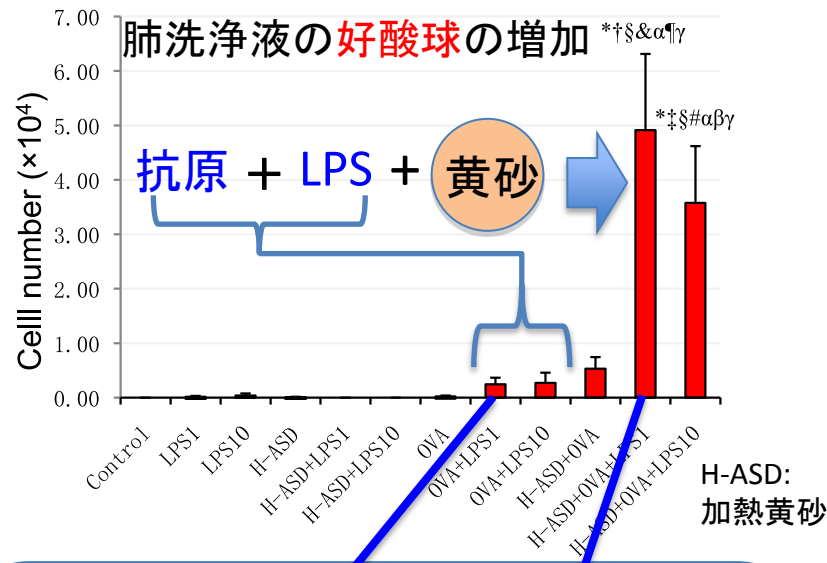
OVA+H-ASD

OVA+H-ASD+B.sp 8 μ g

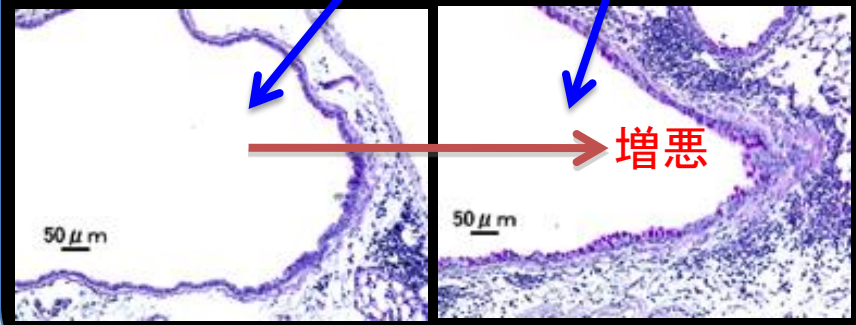
ベルカンデラ(B.sp)はアレルギー炎症を誘導し、黄砂+B.sp はアレルギー喘息を悪化する。

黄砂付着レベルのLPSによる アレルギー喘息への影響

LPS: グラム陰性菌の細胞壁成分



気管支の喘息病態の悪化



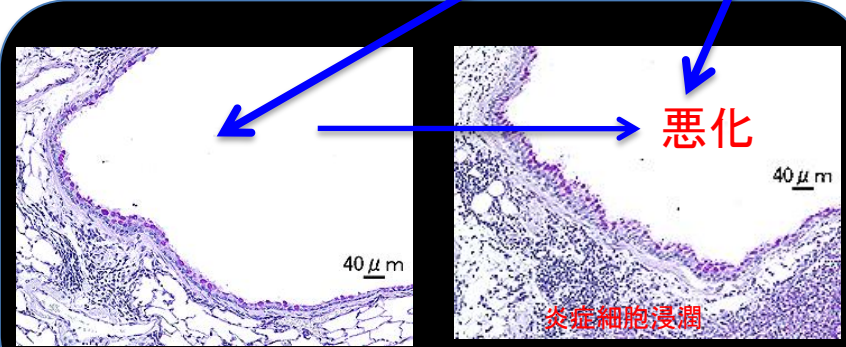
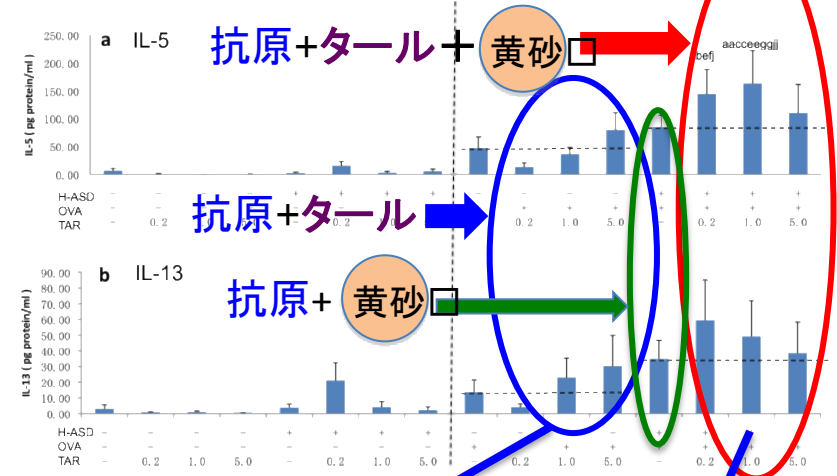
黄砂に含まれる微量の微生物由来LPSは
アレルギー喘息を悪化する

黄砂含まれるタール成分の アレルギー喘息への影響

タール: 化石燃料燃焼由来の化学物質

PAHs μ g/g	BaP:10.8, BkF:8.54, BaA:18.9 BeP :54.5, Pyr :22.8, Flu :67.9
-------------------	---

肺洗浄液中のTh2 サイトカイン

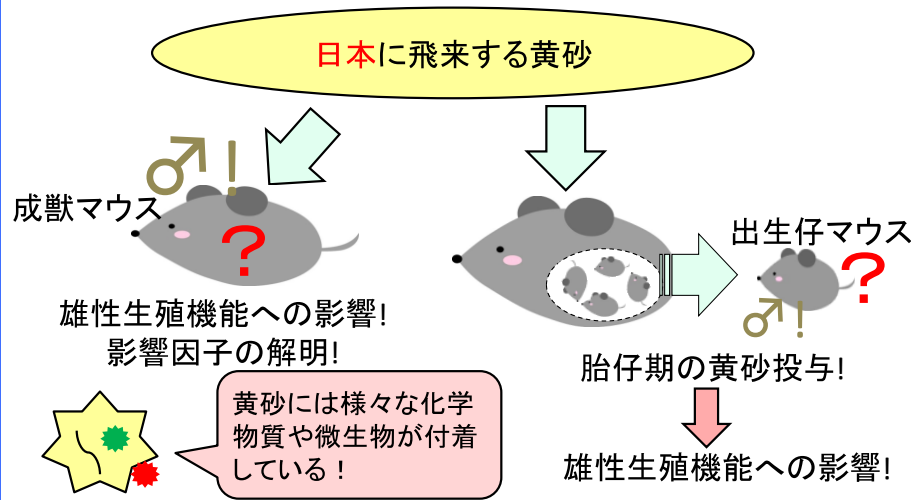


黄砂に含まれる化石燃料燃焼由来の化学物質
タールはアレルギー喘息を悪化する

サブサブテーマ (2) 生殖器系への影響とそのメカニズム解明

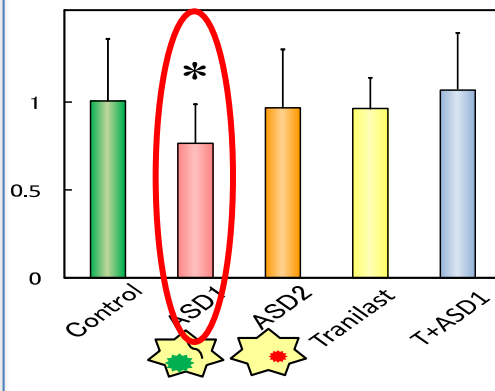
(吉田成一)

黄砂の雄性生殖機能への影響

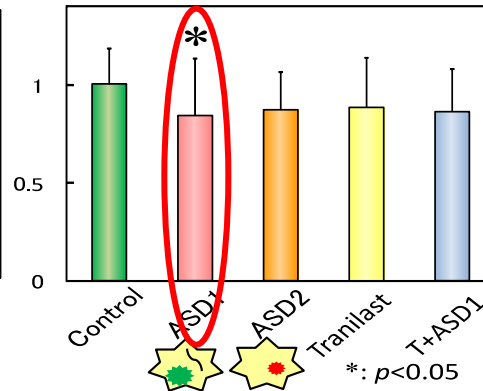


黄砂の雄性生殖機能への影響

造精機能への影響



精子の運動率



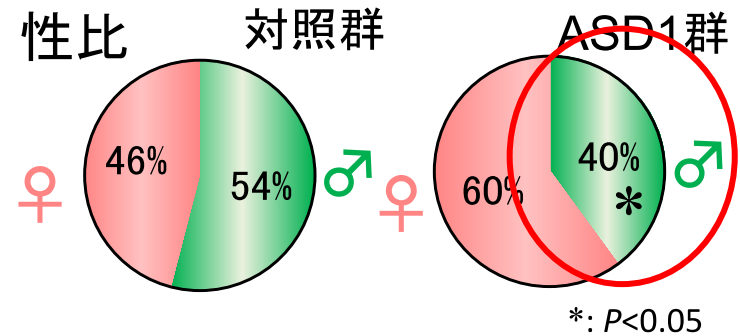
シリカ(SiO₂)が多い黄砂は造精機能と精子運動率を低下させる。

胎児時期黄砂曝露による影響

出産率

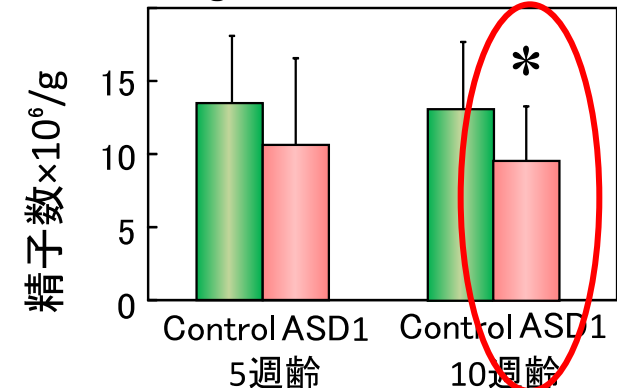
対照群	19 / 20	ASD1 : 16 / 20
	95%	80%

性比



出生雄マウス DSP/g

(1日に精巣1gあたりで作られる精子数)



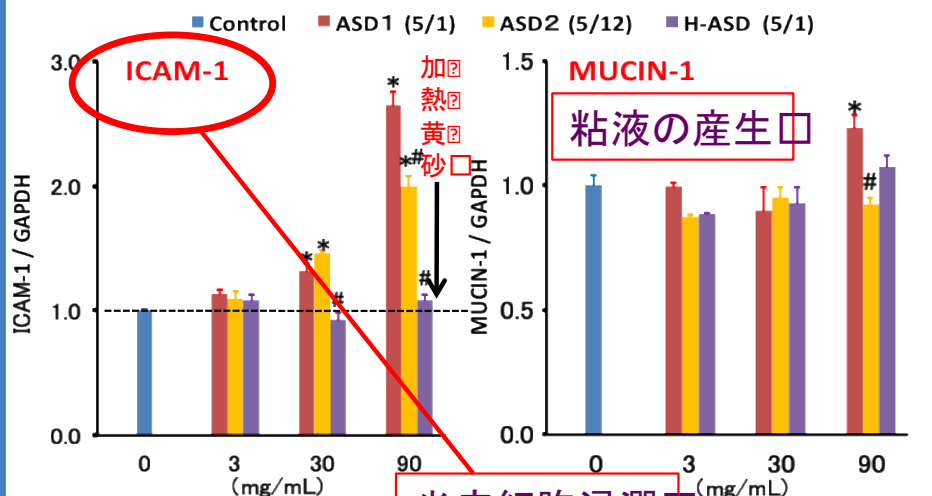
黄砂は雄の出生率を低下させる。
出生子マウスの精子数を低下させる。

サブサブテーマ (3) 免疫担当細胞と気管支上皮細胞における影響解明

京都大学・国立環境研(高野裕久 他 2名)

ASD1, ASD2の気管支上皮細胞に対する影響

ICAM-1およびMUCIN-1の遺伝子発現



炎症細胞浸潤

IL-8発現

好中球
遊走・
活性化

IL-6発現

滅菌
菌
黄砂

滅菌
菌
黄砂

*Significantly Different from control (P<0.05)

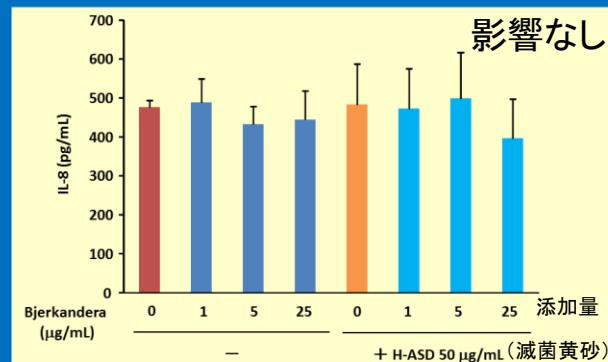
*Significantly Different from control (P<0.05)

group (P<0.05).

黄砂は気管支上皮細胞の炎症マーカーの発現と粘液産生マーカーを活性化する

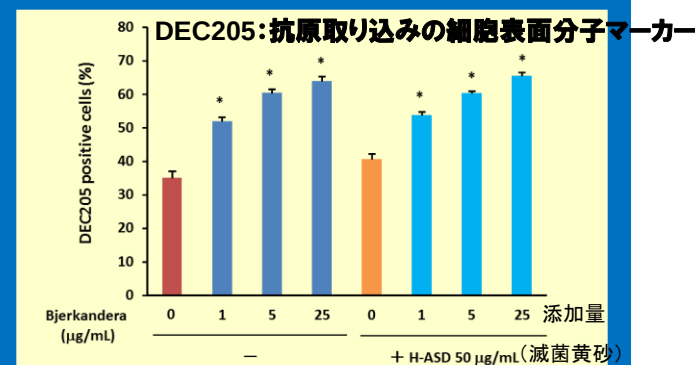
ベルカンデラ真菌の気管支上皮細胞への影響

気道上皮細胞におけるIL-8の産生



ベルカンデラ真菌の樹状細胞への影響

樹状細胞表面分子DEC205の発現



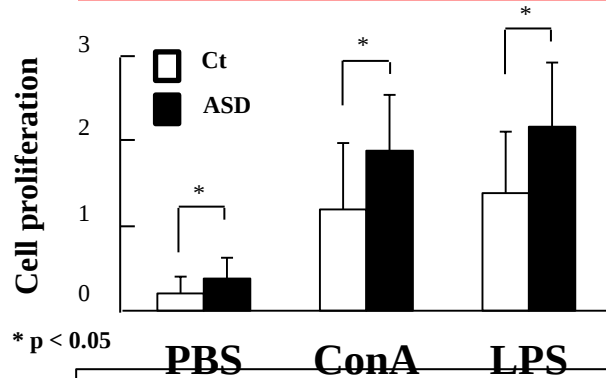
ベルンデラは気管支上皮細胞に応答しないが抗原提示細胞の樹状細胞を活性化する

サブテーマ 3 黄砂エアロゾルに含まれる化学物質の計測とその細胞毒性に関する研究

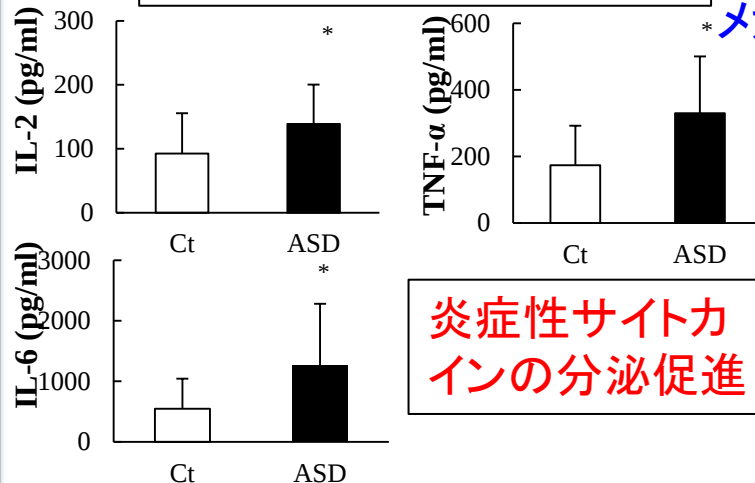
産業医科大学(吉田安宏 他1名)

黄砂の脾臓の免疫担当細胞への修飾効果・毒性

脾臓細胞の活性化



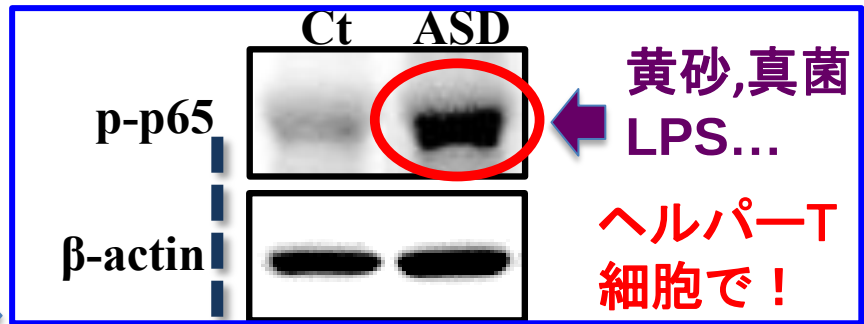
免疫担当細胞の増殖促進



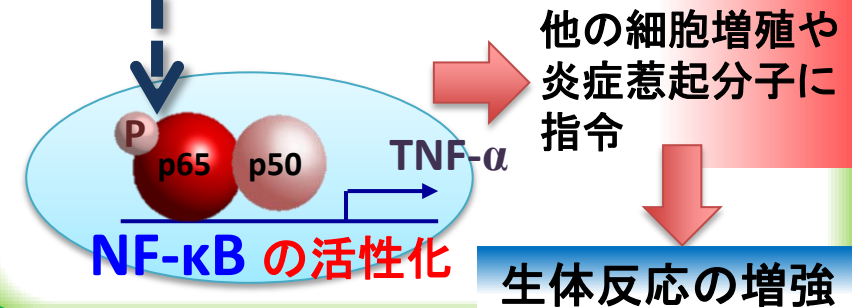
炎症性サイトカインの分泌促進

黄砂は脾臓の免疫担当細胞を増殖し炎症性サイトカインの分泌を促す

細胞生存に重要な分子の活性化



細胞内の炎症惹起分子に作用



黄砂は細胞の増殖や生存、炎症反応に関与しているNF-κBを活性化する

サブテーマごとの成果のまとめ

サブテーマ 1.

(サブサブテーマ 1)

- 1) イベントが異なる黄砂では、PM2.5や微生物成分の多い黄砂ほどアレルギー炎症を悪化させる。
- 2) 黄砂エアロゾルに含まれるベルカンデラ真菌はアレルギー炎症を誘導し、黄砂と共にアレルギー喘息を増悪する。
- 3) 黄砂に含まれる微生物由来の微量のLPSはアレルギー喘息を増悪する。
- 4) 黄砂に含まれる化石燃料燃焼由来の化学物質のタール成分はアレルギー喘息を悪化する。
- 5) 黄砂のアレルギー増悪メカニズムは微生物感知センサーのTLR2とTLR4とそのアダプター分子MyD88を介して起こり、その増悪因子は微生物由来のLPSや β -glucanの可能性が大きい。

(サブサブテーマ 2)

- 1) シリカ(SiO_2)の多い黄砂は造精機能と精子運動率を低下させる。
- 2) 黄砂は雄の出生率を低下させ、出生仔マウスの精子数を低下させる。

(サブサブテーマ 3)

- 1) 黄砂は気管支上皮細胞の炎症マーカーと粘液産生マーカーを活性化する。
- 2) 黄砂エアロゾルに含まれるベルカンデラは気管支上皮細胞に応答しないが、抗原提示細胞の樹状細胞を活性化する。

サブテーマ 2.

- 1) 黄砂イベントによって大気中の微生物数が異なり、日本に落下菌種と通過菌種がある。
- 2) 黄砂イベント時には大気中にLPSを含むグラム陰性菌や陽性菌、真菌濃度が激増する。

サブテーマ 3.

- 1) 黄砂イベントによって大気中の化石燃料燃焼由来化学分量(PAHs)が異なる。
- 2) イベントの異なる黄砂では付着化学成分や生物学的成分、粒子径や形状が異なる。
- 3) 黄砂はヘルパーTリンパ球のNF- κ Bの活性化により脾臓の免疫担当細胞を増やし、炎症性物質の分泌を促す。

達成成果(アウトカム)

黄砂の生体影響

- ❖ イベントの異なる黄砂はアレルギー反応が異なる
- ❖ LPS, 真菌, タールはアレルギーの増悪因子
- ❖ 黄砂のアレルギー増悪は抗原提示細胞のTLR2, TLR4, MyD88を介して起こる
- ❖ 黄砂付着成分は気道上皮細胞の炎症・粘液分泌マーカーを活性化
- ❖ 黄砂は脾臓の免疫担当細胞を活性化
- ❖ 黄砂は雄の出生率や雄性生殖器に影響

黄砂イベント時の微生物

- ❖ 黄砂イベント時は大気中の微生物種や微生物数が増大
- ❖ 黄砂イベントによって大気中の微生物数が異なる
- ❖ 黄砂イベント時にアレルギーを増悪する微生物が大気中に増大
- ❖ 病原菌・毒性遺伝子を持った微生物は検出されなかった

黄砂イベント時の化学物質・粒子性状

- ❖ 黄砂イベント時は大気中に化学物質(PAHs)濃度が上昇
- ❖ イベントの異なる黄砂は粒子径や形状が異なる(PM2.5含有量に依存)
- ❖ イベントの異なる黄砂は化学成分(PAHs)量が異なる(PM2.5含有量に依存)

科学的・技術的意義

1. 黄砂のアレルギー増悪因子やメカニズムを科学的に証明することができた。
2. 研究成果を多くの科学雑誌に公表し健康影響に関する国際的共通理解を形成することができた。今後も多くの成果を公表予定。
3. 増悪因子(LPS)や影響因子(末梢血リンパ球のNFκB活性)をヒトの影響評価指標として疫学研究に応用できる。
4. 気管支上皮の炎症マーカーや粘液分泌マーカーは健康影響発現などの評価項目として提案できる。

環境政策等への貢献(アウトカム)

1. 黄砂の健康影響の科学的知見を提供することができた。
2. 本成果では疫学調査結果に対する生物学的な妥当性を証明することができた。
3. 黄砂の増悪因子(LPS, 真菌・タール)や増悪メカニズムの一部が解明できたことにより、健康被害の未然防止策・軽減策に関連する環境政策、SPM濃度上昇時の注意喚起や行動指針などの基礎資料として貢献できる。
4. 国際的な黄砂問題を解決するための日中韓三カ国環境大臣会合や三カ国黄砂局長会合等の基礎資料として役立てることができる。

主な学術誌への公表

1. Liu B, Ichinose T, et al. Lung inflammation by fungus, *Bjerkandera adusta* isolated from Asian sand dust (ASD) aerosol and enhancement of ovalbumin -induced lung eosinophilia by ASD and the fungus in mice. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*,. 2014. Feb 5;10(1):10.doi:10. 1186/1710-1492-10-10. [Free PMC Article](#)
2. Honda A, Ichinose T, Takano H et al.. Effects of Asian sand dust particles on the respiratory and immune system. *J Appl Toxicol*. 2014 Mar 34(3):250-257.
3. Song Y, Ichinose T, Yoshida Y. et al. Asian sand dust causes subacute peripheral immune modification with NF-κB activation. *Environ Toxicol*. 2013 Dec 5. doi: 10.1002/tox.21931. [Epub ahead of print]
4. He M, Ichinose T, et al. Effects of two Asian sand dusts transported from the dust source regions of Inner Mongolia and northeast China on murine lung eosinophilia. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013 Nov 1;272(3):647-55.
5. He M, Ichinose T, et al. Induction of immune tolerance and reduction of aggravated lung eosinophilia by co-exposure to Asian sand dust and ovalbumin for 14 weeks in mice. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2013 Jun 3;9(1):19. [Free PMC Article](#)
6. Maki T, Fukushima R, Kobayashi et al. Analysis of airborne-bacterial compositions using 16S rDNA clone library technique. *Bunseki Kagaku* 2013, 62(12): 1095-1104. (in Japanese)
7. He M, Ichinose T, et al. Asian sand dust enhances murine lung inflammation caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012 Jan 15;258(2):237-47.
8. He M, Ichinose T, et al. Aggravating effects of Asian sand dust on lung eosinophilia in mice immunized beforehand by ovalbumin. *Inhal Toxicol*. 2012 Sep;24(11):751-61.

他、多数

国民との対話

京都府立医科大学公開講座
「子どもの健康と化学物質」
と き：2011年12月18日(日) 13:00~16:00
と ころ：京都府立医科大学附属図書館ホール
(アクセス：市バス「京都府立医科大学前」下車 徒歩3分)
参加費：無料

講演内容
「環境中の化学物質と脳発達」
京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態病理学
教授 伏木 信次
「環境中の化学物質とアレルギー」
京都大学大学院工学研究都市環境工学専攻環境衛生学講座
教授 高野 裕久
「食物とアレルギー」
大分県立看護科学大学看護学部生体反応学
教授 市瀬 孝道

本講演会は環境省・環境研究総合推進費(課題番号：S2-12-C-1155)
による研究成果発表として行われるものです。

主催 京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態病理学 (問い合わせ:075-251-1040 市瀬)
後援 京都府立医科大学医学部

中国での講演

 中国医科大学附属第一医院
THE FIRST HOSPITAL OF CHINA MEDICAL UNIVERSITY

市瀬孝道 教授 学術報告
題目：Effect of Asian Sand Dust on Lung Disease,
especially Bronchial Asthma

報告人：市瀬 孝道 教授
日本大分県立看護科学大学
学部長、生物反応学研究室
教授 主任

時間：2012年8月16日 午後2:00

地点：中国医科大学第一附属医院
呼吸疾病研究所の会议室

中国医科大学第一附属医院
呼吸内科
2012年7月24日

特許関連

【健康被害の防止対策】
金沢大学山田・小林
ら

アレルキャッチャー マスク
キッズ (子供用)



ダイワボウのマスク

黄砂エアロゾル及び付着微生物・化学物質の生体影響とそのメカニズム解明に関する研究 (5C-1155)

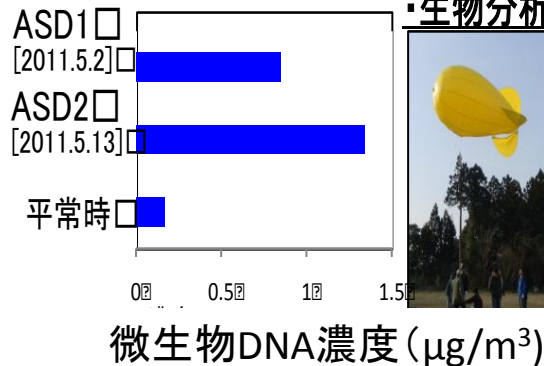
サブテーマ 1



- ❖ イベントの異なる黄砂 (ASD1と ASD2) はアレルギー反応が異なる
- ❖ グラム陰性菌 (LPS), 真菌, タールはアレルギーの増悪因子
- ❖ 黄砂は気道上皮細胞や脾臓の免疫担当細胞を活性化
- ❖ 黄砂のアレルギー反応は抗原提示細胞の微生物分子感知センサーとMyD88を介して起こる

サブテーマ2

微生物の定量分析 □ 上空の
2011, 5月黄砂 □ 直接採集 □
・生物分析 □



- ❖ 黄砂イベント時は大気中の微生物種や微生物数が増大
- ❖ 黄砂イベントによって大気中の微生物数が異なる
- ❖ 黄砂イベント時にアレルギーを増悪する微生物 (真菌、グラム陰性菌や陽性菌が大気中に増大)

サブテーマ 3

黄砂サンプリング □
化学物質分析 □

2011年5月に発生した2つの黄砂イベント □



- ❖ 黄砂イベント時は大気中に化学物質 (PAHs) 濃度が上昇
- ❖ イベントの異なる黄砂は化学物質成分、粒子径や形状が異なる (PM2.5 含有量に依存)