

**【5-1457】黄砂とPM2.5による複合大気汚染の肺炎、アレルギー疾患増悪作用とメカニズム解明
(H26～H28 累計予算額 151,685 千円)**

研究代表者 市瀬 孝道 (大分県立看護科学大学)

1. 研究実施体制

- (1) 黄砂・PM2.5粒子と吸着成分の相互作用による肺炎・アレルギー喘息増悪作用とそのメカニズム解明 (大分県立看護科学大学)
- (2) 黄砂とPM2.5の肺炎・アレルギー喘息増悪機構における細胞ダメージ関連分子の関与に関する研究 (産業医科大学)
- (3) 気道上皮細胞と免疫担当細胞を用いた黄砂とPM2.5の肺炎・アレルギー増悪因子の探索とその増悪分子機構の解明 (京都大学)
- (4) 黄砂とPM2.5のアレルギー性結膜炎の増悪作用とそのメカニズム解明 (東京女子医科大学)

2. 研究開発目的

サブテーマ (1) では細胞培養実験における黄砂とサイズの異なる粒子 (PM2.5、coarse PM (CPM: 粒径 2.5～10 μ m)、 $>$ PM10) の単一曝露による炎症反応、マウスを用いた動物実験によるこれらの粒子の肺における炎症誘導やアレルギー炎症 (気管支喘息) の増悪作用メカニズムを付着微生物成分や吸着化学物質の面から調べて明らかにすること、また、PM2.5 と黄砂の複合曝露による肺の炎症誘導とアレルギー炎症増悪作用について調べ、その要因と作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。

サブテーマ (2) では黄砂或いはその大きさに精製した粒子およびPM2.5の化学的・物理的性状を究明し、それらに単独、あるいは同時に複合曝露されたマウスの生体影響評価を行うことを目的とした。具体的には、粒子状物質を曝露したマウスのリンパ組織から調製した免疫担当細胞を中心に解析し、細胞レベル・分子レベルで細胞内イベントを観察し、作用機序を解明することによって、疫学等の指標となる分子の発見を目的とした。

サブテーマ (3) ではPM2.5および黄砂の粒子自体 (加熱粒子) と大気汚染化学物質、具体的には、多環芳香族炭化水素 (PAH) であるベンゾ[a]ピレン (BaP)、9,10-フェナントレンキノン (9,10-PQ) または1,2-ナフトキノン (1,2-NQ) の複合曝露による呼吸器系や免疫系に及ぼす影響を、気道上皮細胞、骨髄抗原提示細胞や脾細胞を用いて解析し、それらによる複合影響の有無と影響発現メカニズムを明らかにするとともに、健康影響決定成分や要因の絞り込みとバイオマーカーの同定や予防対策の確立に役立てることを目的とした。

サブテーマ (4) では黄砂やPM2.5などの複合大気汚染物質による眼アレルギーの症状の増悪メカニズムを臨床研究、動物実験、培養細胞を用いた実験により解明することを目標とした。1) 臨床研究ではアレルギー性結膜炎患者における、黄砂と、その関連物質の皮膚刺激テストによって黄砂とアレルギー反応との関連を調べた。2) 動物実験ではPM2.5及び黄砂のスギ花粉誘導のアレルギー性結膜炎に対する増悪作用とそのメカニズムを調べた。3) 大気中粒子状物質に付着した微生物成分がアレルギー性結膜炎を増悪させるメカニズムについて明らかにした。4) ヒト結膜上皮細胞を用いてPM2.5誘導の炎症反応について明らかにすることを目的とした。

3. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

サブテーマ (1) :

- 1) これ迄の報告では粗大粒子よりもPM2.5の方が呼吸器への影響が強いとされてきたが、同一重量で比較すると粗大粒子 (黄砂、CPM、 $>$ PM10) の方がPM2.5より影響が強いことが明らかとなった。
- 2) これ迄PM2.5による肺の炎症誘導メカニズムは明らかでなかったが、肺胞の炎症に関してはマクロ

ファージによるLPS/微生物センサー(TLR4)を介した炎症誘導よりも、肺胞II型上皮細胞における酸化的ストレスによる炎症誘導の方が優勢であることを新たに発見した。

- 3) これ迄PM2.5によるアレルギー炎症増悪作用は明らかではなかったが、TLR4/MyD88シグナル伝達経路を介して増悪作用が起こり、主にTLR4のリガンドであるLPSがPM2.5のアレルギー炎症増悪作用に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。
- 4) 黄砂のアレルギー増悪作用に鉄(Fe)が、PM2.5のアレルギー増悪作用には鉄以外の金属が関与していることが明らかとなった。
- 5) PM2.5の炎症反応の一部には銅(Cu)と酸化的ストレスが関与しているが、アレルギー炎症の増悪作用には関与していないことが分かった。
- 6) 黄砂とPM2.5の複合影響は相加効果を示し、複合曝露時の炎症反応やアレルギー炎症増悪作用は黄砂量に依存するが、過剰になるとアレルギー反応は逆に抑制されることが明らかとなった。その増悪・抑制要因はLPSであることを見出した。

サブテーマ (2) :

- 1) 2014年以降、黄砂の飛来回数は非常に少なくなってきた。2013年以降、春季の大気汚染の発生源は、石炭・バイオマス燃焼由来から石油系燃焼由来へと推移してきていることが示唆された。また、中国・瀋陽のPM2.5の成分分析から、明らかに大気環境の改善が認められて来ている。
- 2) 黄砂や都市大気PM10が免疫担当細胞を活性化することは、アレルギーなど生体が過剰な状態を呈する疾患において、その過剰反応を更に高めることを意味している。その影響は、分子レベルでの解析で予測を立てることが可能であり、転写因子NF- κ Bの活性化はその評価指標の一つとなり得る。このNF- κ Bは生体のホメオスタシスを維持する上でも重要な分子であり、次の外部刺激を受けると増強反応や抑制反応に働くことが示唆された。
- 3) 粒子に付着している微生物由来のLPSが生体影響の一端を担っていることが示唆された。一方、粒子サイズが小さいPM2.5は免疫系を抑制することが示唆された。その抑制には酸化ストレスが深く関与していることが明らかとなった。また、酸化ストレスマーカー(HO-1)を調べることで影響評価が可能であることを示唆した。PM2.5と黄砂に付着している物質は影響誘導に強く関与しており、リンパ組織への影響の違いにこれらの物質が関与していることが示された。酸化ストレスマーカーの一つは、細胞ダメージ関連分子として捉えることができ、この分子は種々の粒子の生体影響を評価する上で重要な分子であることが分かった。

サブテーマ (3) :

- 1) PM2.5やASDの粒子自体(加熱粒子)やPAHs、特に、BaP、9,10-PQ、1,2-NQの単独曝露は呼吸器系や免疫系に影響を及ぼすこと、これらが、気管支喘息、肺炎等の悪化要因として重要であることを明らかにした。具体的には、気道上皮細胞に対しては、障害性や催炎症性反応を、抗原提示細胞に対しては、細胞表面分子CD86発現等の増加を介した活性化を誘導することを示した。
- 2) BaPと加熱PM2.5や加熱ASDとの複合曝露は、相加的に細胞表面分子CD86発現等の増加を介して抗原提示能を活性化させた。9,10-PQや1,2-NQとの複合曝露の場合、加熱ASDよりも加熱PM2.5の方が相加・相乗的に細胞内ROS産生や細胞外酸化反応を誘導し、気道上皮細胞の障害性を増強することが明らかとなった。
- 3) 抗原提示細胞の細胞表面分子CD86発現や、PM2.5やASDの細胞内ROS産生や細胞外酸化反応が影響発現メカニズムとして重要であり、かつ、バイオマーカーとして有用であることを示した。

サブテーマ (4) :

- 1) PM2.5はアレルギー性結膜炎の発症要因の一つであることを疫学調査で明らかにした。
- 2) 粒子状物質による直接的な物理的刺激や結膜炎によりアレルギー性結膜炎が増悪されることを初めて明らかにした。
- 3) その作用はPM2.5より粒子径が大きい黄砂の方が強いことが明らかになった。

- 4) 粒子状物質に付着した生物成分がTLR/MyD88シグナル経路を介して、アレルギー性結膜炎を増悪させていることを見出した。

(2) 環境政策への貢献（研究代表者による記述）

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

サブテーマ（1）：

- 1) 日本へ飛来が予測される中国都市大気の粒子状物質について、粒径の違い（PM_{2.5}、CPM、>PM₁₀）による影響を比較すると、肺の炎症やアレルギー炎症への影響は、粒子サイズが大きいほど影響が強く、影響は付着微生物成分量と相関していることを提示した。また、黄砂由来の砂粒子のPM_{2.5}は都市由来PM_{2.5}より影響が強いことを提示した。
- 2) PM_{2.5}の肺の炎症誘導、特に肺胞を中心とした炎症はPM_{2.5}から発生する活性酸素が肺胞II型上皮細胞に作用して誘導されることを提示した。
- 3) PM_{2.5}と黄砂の炎症誘導とアレルギー増悪要因は粒子に付着した微生物成分、特にLPSが重要であり、黄砂はこれに加えて鉄(Fe)の存在も重要であることを提示した。また、PM_{2.5}では銅(Cu)が炎症誘導に関与している可能性を提示した。これらのLPSや金属類の知見は粒子状物質の疫学研究においても重要な指標となりうると思われる。
- 4) 黄砂とPM_{2.5}の複合曝露による肺の炎症誘導やアレルギー増悪作用は相加的であり、その強さは黄砂の量に依存するが、過剰になるとアレルギー反応が逆に抑制されることを提示した。
- 5) 肺の炎症やアレルギー炎症のような一過性の影響は黄砂の方がPM_{2.5}より強いことが分かるが、慢性閉塞肺疾患(COPD)や発がんなどの慢性影響に関しては常時発生が見られる都市PM_{2.5}の長期曝露による慢性影響を調べるのが今後重要であることを提言する。
- 6) 本研究の基礎的な成果は、行政によるPM_{2.5}や黄砂の健康影響や健康被害を見極めるための知見となり、また原因物質を軽減するための基礎資料となり、更に、環境基準値や健康被害の未然防止策などに関連する環境政策に役立てることができると思う。
- 7) これらの研究成果を多くの科学雑誌に公表することで、粒子状物質の健康影響に関する国際的共通理解を形成し、粒子状物質の危険性を警鐘し、国際的なPM_{2.5}や黄砂発生の低減策の取組みに役立てることができる。

サブテーマ（2）：

- 1) 粒子状物質曝露によるダメージ・ストレス関連分子(NF- κ B・HO-1等)を標的・観察することで、ヒトでの健康影響評価に応用できることを提示する。例えば末梢血のマーカー分子を標的として粒子の生体影響を間接的に予測することができれば、その応用範囲も拡大する。
- 2) 付着物の性質（化学物質・微生物成分）によりその影響度に差異が生じることが示唆されたことから、その含有量とマーカー分子のプロファイルを作成することで、ヒトでの健康影響評価（アレルギー性炎症やCOPD）への予測ができると思う。

サブテーマ（3）：

- 1) 呼吸器疾患の悪化の要因を絞り込んだことから、PM_{2.5}や黄砂全体のモニタリングだけでなく、BaPのほかに、新たに、9,10-PQや1,2-NQを有害大気汚染物質として、モニタリング対象物質の候補として挙げることを提案する。
- 2) 抗原提示細胞の細胞表面分子CD86発現や、PM_{2.5}やASDの細胞内ROS産生や細胞外酸化反応が影響発現メカニズムとして重要であり、かつ、バイオマーカーとして有用であることを示したことから、これらの指標を黄砂やPM_{2.5}の疫学調査指標の候補や、黄砂やPM_{2.5}の簡易健康影響評価の指標候補

として挙げることができた。これらの成果は国内や国際的なPM2.5問題を解決するための政策上の基礎資料として役立てることができる。

サブテーマ（4）：

- 1) 黄砂やPM2.5は直接的な眼刺激作用を持つのみならず、物理的刺激による結膜上皮バリアーの破壊や、花粉や付着微生物などの作用により、花粉症を悪化させることを提示した。
- 2) 粒子状物質による眼障害を予防するためには、保護眼鏡やゴーグルなどによる黄砂の回避や洗眼行為が有効であることを提言する。また、これらの成果は治療や予防などに関連する環境政策に貢献できる基礎資料となりうると考える。

4. 委員の指摘及び提言概要

各サブテーマでは着実に研究がなされ、かなりの研究成果がでており、論文としてもそれなりに発表されている。また、同一重量では粗大粒子のほうがPM2.5より影響が強いことが見られたサブテーマ（1）での結果は面白い。しかしながら、本研究のメインの課題である黄砂とPM2.5の複合大気汚染について、得られた成果は断片的である。複合影響に絞ったサブテーマに対する研究管理があれば、より貴重な成果に結び付いたのではないかと悔やまれる。

5. 評点

総合評点：B