

Ⅲ-② 成人を対象とした気管支喘息患者に対する効果的な保健指導の実践に関する調査研究

【ぜん息患者及び未発症成人における気道炎症病態と種々の要因とくに大気汚染との関連に関する調査研究】

代表者：滝澤 始

【研究課題全体の目的、構成】

ディーゼル車両から排出される大気汚染物質、とくに微粒子物質（diesel exhaust particles, DEP）は都市部における微小粒子状物質の主要なものとして、その呼吸器系への健康影響が懸念され調査研究が進められてきた。私たちは、実際の大気環境中でありうる低濃度で長期間継続的に DEP に曝露するマウスの系を確立し、DE に対する感受性要因を追求し、抗オキシダント酵素[heme oxidase (HO)-1 など]とその発現調節因子 Nrf-2 を見出した。しかし、これらの成果を実際の健康被害対策に生かすためにはヒトにおける気道炎症病態のバイオマーカーと大気汚染状況との関連性をぜん息群のみならずぜん息未発症群で比較検討する必要がある。

そこで本調査研究では、ぜん息群および非ぜん息群において EBC の測定による気道炎症病態の解析を行い、これらに大気汚染がどう影響するかを検討する。前年度までの研究により、ぜん息群やその未発症群において、大気汚染状況と気道炎症マーカーとの相関が示唆されており、大気中粒子曝露に対する高リスク群のスクリーニングのためのバイオマーカーの実効性を検証するための基礎が確立されると期待する。

1 研究従事者（○印は研究リーダー）

○滝澤 始	帝京大学
大林 王司	帝京大学
吾妻 安良太	日本医科大学
幸山 正	東京大学
山内 康宏	東京大学

2 平成 22 年度の研究目的

本調査研究は、個人ごとの気道炎症・リモデリングの生体マーカーとして EBC を採取して、その炎症・繊維化分子の量を測定し、これらが大気汚染の生体影響の評価に用いようとするものであり、ぜん息群のみならず、ぜん息類似の気道炎症病態を有するもののぜん息としての典型的な表現型を示さない群、および健常群という、多様な調査対象を設定して、ぜん息およびぜん息未発症群における気道炎症病態と、大気汚染状況との関連性を示そうというユニークな調査研究である。各群の気道炎症病態が大気汚染により影響されるかを検討するばかりでなく、ぜん息発症のリスク群を知る第一段階の情報を与える可能性をもつ。今後の大規模疫学研究の先駆けとして先駆的な知見が得られると期待される。

3 平成 22 年度の研究の対象及び方法

1) 調査研究対象

施設の倫理委員会の承認を得た上でインフォームドコンセントの得られたぜん息患者、慢性咳などの呼吸器症状とアレルギー素因を示しながらも未だぜん息の典型的表現型を示さない患者、および健常人。参加 3 医療施設で各群計 100 例を目標とする。

2) 調査項目

各群の診断に必要な問診、臨床検査、呼気一酸化窒素濃度測定に加え、呼気凝縮液(exhaled breath condensates, EBC)を採取する。各群の診断は公表されたガイドラインに基づいて共通のものを作成し統一された診断基準で行う。また、EBC は R-tube により安静自発呼吸下 5 分間で採取する。EBC 中の分子マーカーの測定は、前研究班の成果から、原液を用いて高感度定量法である MUSTag 法を主に用いる。今年度から可能な場合は酸化の指標として報告されている pH も測定する。

3) 解析項目

各群における分子マーカーの比較に加え、公開されている地域別大気汚染データと各マーカーの関連を統計学的に解析する。

ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性ばかりでなく、ぜん息未発症群における気道炎症病態さらにそれらと大気汚染状況との関連性について明らかにしたい。自排局および一般局で測定された PM10 および NO2 のデータと EBC 中の各種分子マーカーの相関を検討する。



さらに、幹線道路からの住居までの距離との関連も調査する。PM2.5 の測定は現在ほとんど実施されていないため、上記の手法を採用した。平成 21 年度から観察している症例については、年次推移、喘息への移行、及び循環器系イベント出現の有無も調査した。また、EBC 中バイオマーカーへの寄与因子の解析を目的として、重回帰分析を行う。

DEP（実際には大気中粒子）曝露に対する高リスク群のスクリーニングのためのバイオマーカーの実効性を検証するための基礎が確立されると期待する。

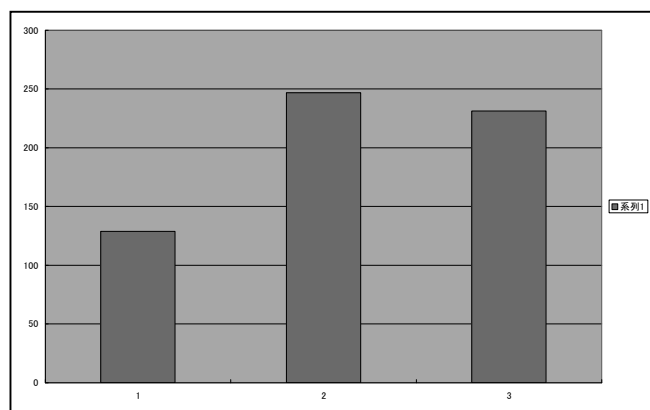
4 平成 22 年度の研究成果

（１）R-tube による呼気凝縮液の採取と基礎的検討

今年度に採取できた検体は、ぜん息患者、慢性咳などの呼吸器症状とアレルギー素因を示しながらも未だぜん息の典型的表現型を示さない患者、および健常人の 3 群計 132 検体であった（平成 23 年 1 月現在）。前年度からの累計では計 228 検体である。参加 3 医療施設で各群計 100 例を目標としてさらに採取を継続中である。

平成 23 年 1 月末日までの解析可能な分について、前年度の結果を踏まえ、EBC 中の 3 つの分子マーカー、すなわち VEGF（vascular endothelial growth factor）、HGF（hepatocyte growth factor）、および bFGF（basic fibroblast growth factor）について主に示す。

EBC 中分子マーカー濃度は、全体として気管支ぜん息群がもっとも高く、一方ぜん息未発症群では健常群とぜん息群の間に位置することが多かった（図 1）。



健 常 者 喘 息 未 発 症

図 1 EBC HGF 濃度の各群間での比較。

健常者（１）＜喘息未発症群（３）＜ぜん息群（２）の傾向があったが、有意ではなかった。

(2) 気管支ぜん息患者における検討結果

次に、気管支ぜん息群における検討では、重症度との関連が示唆され、とくに最重症型では軽症持続型に比較して有意に気道炎症マーカーの上昇が認められた〈図2〉。

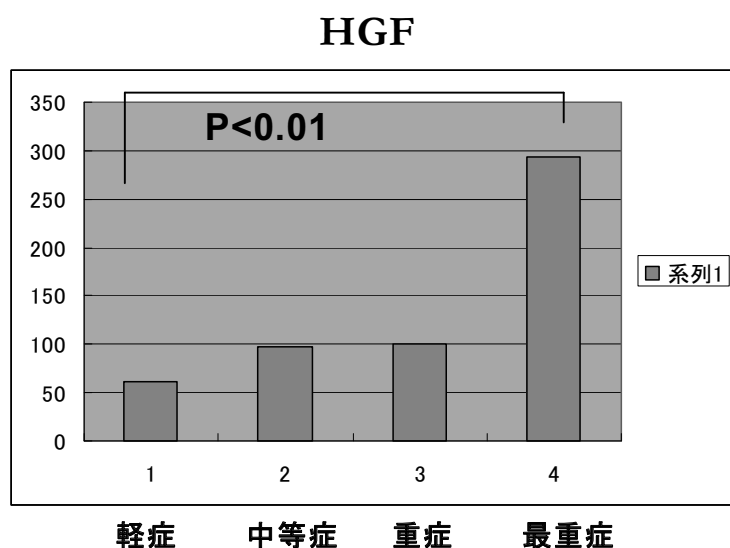


図2 EBC 中 HGF と重症度（1：軽症持続型、2：中等症持続型、3：重症持続型、4：最重症型）との関連。最重症型では有意に上昇していた ($p<0.01$)。

喘息の病型では、アレルギー型(A群)と非アレルギー型(B群)とでは有意な差はなかった〈図3〉。

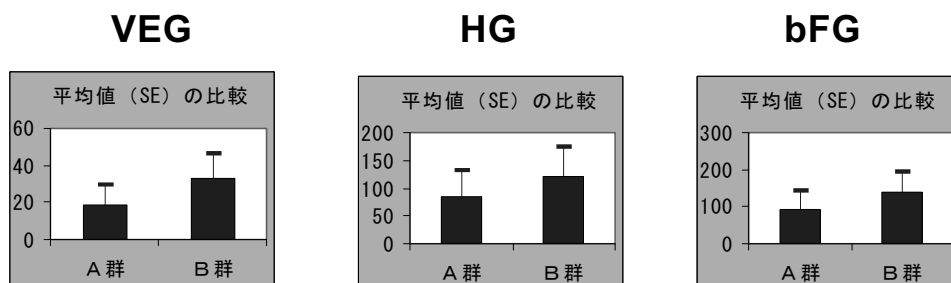
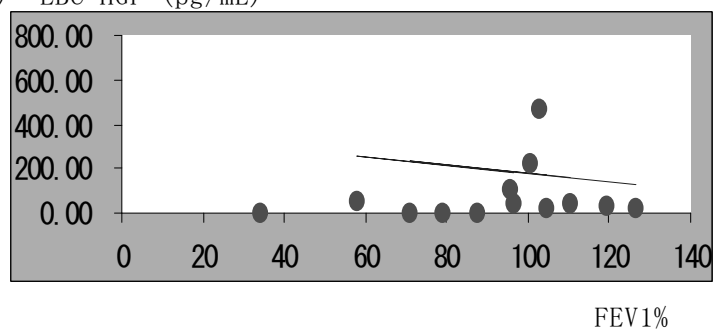


図3 EBC 中分子マーカーと病型との関連。アレルギー型(A群)と非アレルギー型(B群)とでは有意な差はなかった。

さらに、呼吸機能検査の検査データとの相関では、1秒率(FEV1%) および%1秒量(%FEV) とEBC 中 HGF との間に有意の負の相関を認めた〈図4〉。

a) EBC HGF (pg/mL)



b) EBC HGF (pg/mL)

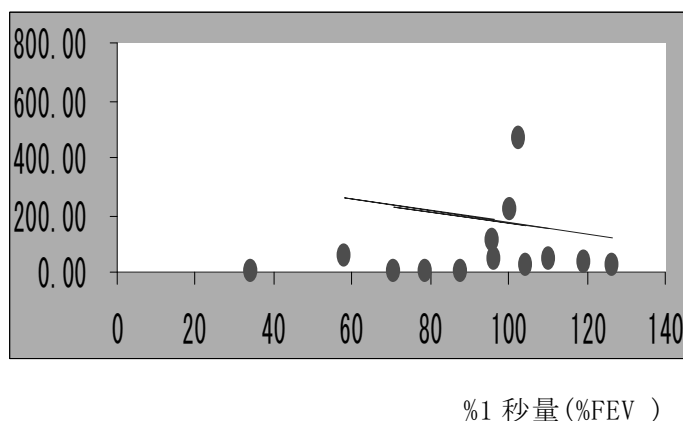
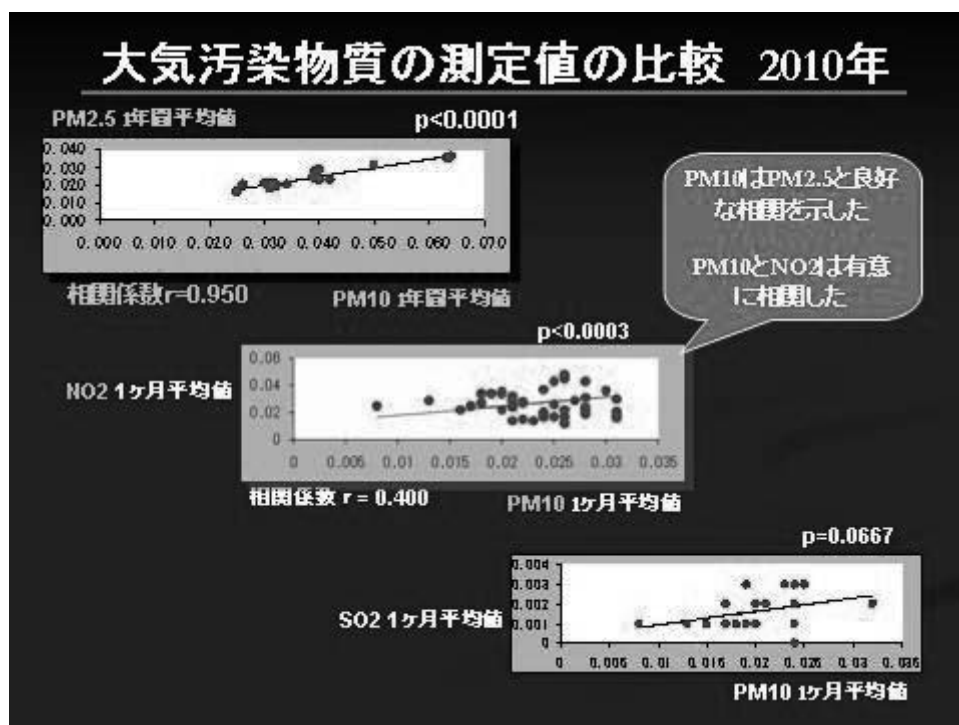


図4 EBC 中分子マーカーと呼吸機能との関連。a) 1 秒率(FEV1%) および b) %1 秒量(%FEV) と EBC 中 HGF との間に有意の負の相関を認めた (a: 精密 P 値=0.027、相関係数 $r = -0.60$ 、寄与率 $r^2 = 0.370$, b: 精密 P 値=0.026、相関係数 $r = -0.68$, 寄与率 $r^2 = 0.377$)

(3) 気管支ぜん息患者における EBC 中の分子マーカーと大気汚染との関連

EBC のデータと大気汚染状況との相関関係をみるにあたり、過去の大気汚染曝露という観点からは、直近 1 年間の平均値、直近 1 ヶ月間の平均値、及びリアルタイムの曝露データとして当日のデータを用いた。前提として、各種大気汚染データ間での相関関係を検討すると、PM2.5 と PM10 はきわめて良好な相関関係を示し、PM10 が PM2.5 の代替指標として用いることが示唆された。また、NOx との相関はディーゼル車という共通の発生源によると推測された (図以下)。



a) ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性

測定 1 か月前の平均 PM10 濃度と各種マーカーとの間に正の相関傾向が認められたものの有意ではなかった〈図 5〉。

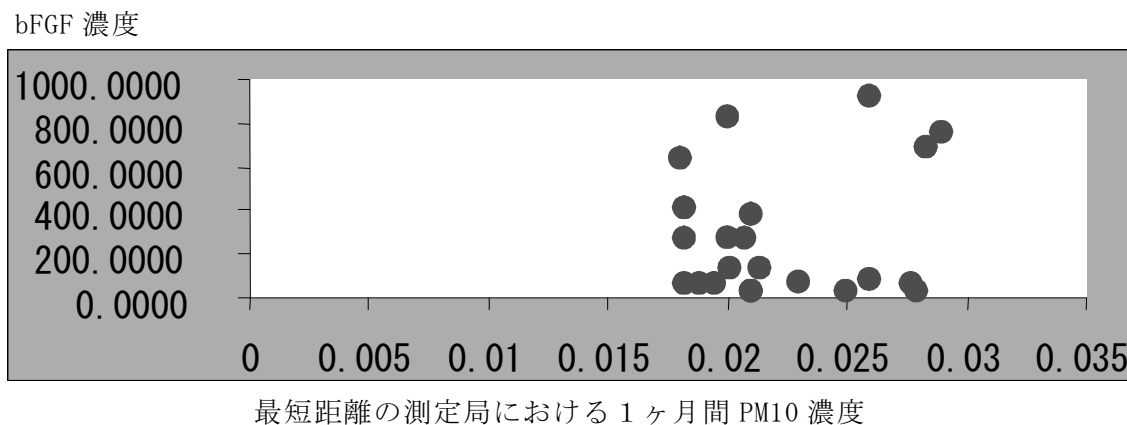


図 5 1 ヶ月間平均 PM10 と EBC VEGF との関連。有意な相関は認めなかった。

また、1 年間の平均値や当日の PM10 の測定値と EBC 中の分子マーカーとの間には明らかな関連は認めなかった。

一方、大気中 NO₂ と気道炎症マーカーとの間に有意な正の相関関係を認めた〈図 6〉。

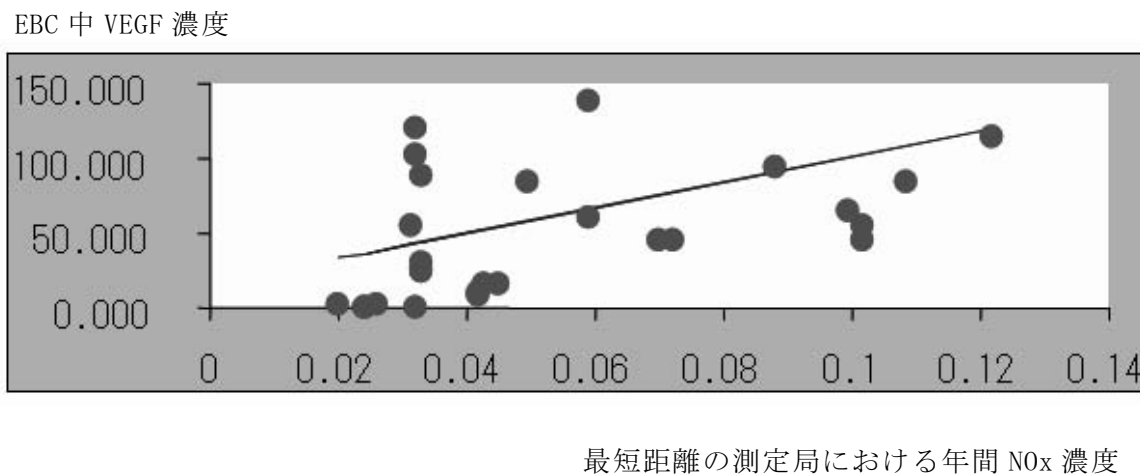


図 6 年間平均 NO_x と EBC VEGF との関連。有意な正の相関を認めた(精密 P 値=0.037, 相関係数 $r=0.469$, 寄与率 $r^2=0.220$)。

同様の相関関係を EBC 中 HGF (精密 P 値=0.033, 相関係数 $r=0.477$, 寄与率 $r^2=0.228$)および bFGF (精密 P 値=0.0038, 相関係数 $r=0.617$, 寄与率 $r^2=0.380$)においても認めた。

一方、1ヶ月間平均NOxとの有意な相関は認められなかったがEBC bFGFは $p=0.07$ と正の相関傾向を認めた。

次に、幹線道路から住居地までの距離との関連を調べた。6種類のどの炎症マーカーとも関連性は認めなかった。

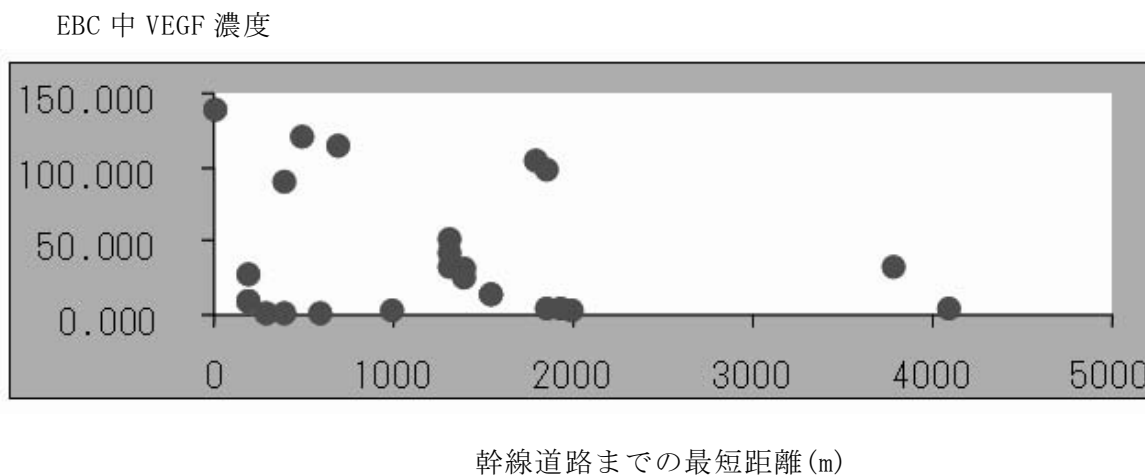
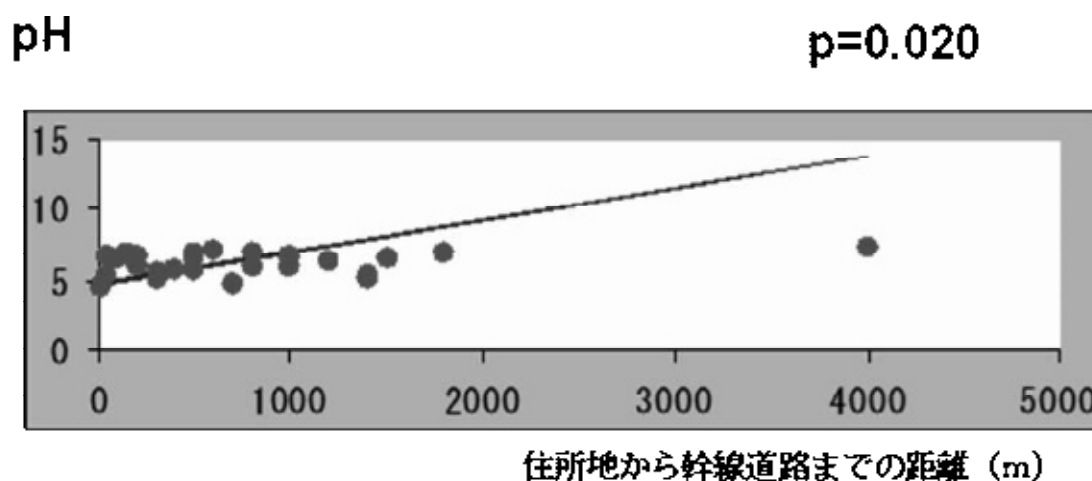


図7 EBC 中の VEGF と幹線道路から住居地までの距離との関連。有意な相関関係は認めなかった。

次に、EBC 中 pH と住所地から幹線道路までの距離との関連を調べた。

幹線道路までの距離との相関で EBC pH は有意な相関を認めた (図 8)。すなわち、幹線道路に近いほど pH が低下する傾向があり、気道炎症の悪化が想定される結果であった。



相関関係 $r=0.271$

図8 EBC 中 pH と住所地から幹線道路までの距離との関連。幹線道路までの距離との相関で EBC pH は有意な相関を認めた。

次に、EBC pH と PM10, NO2 との関連性を検討した。PM10 とは有意な関連性を示さなかったが、NO2 とは有意な負の相関関係を示した〈図 9, 10〉。すなわち、NO2 観測データが高いほど、pH が低くなる、すなわち気道炎症が悪化する関係が認められた。

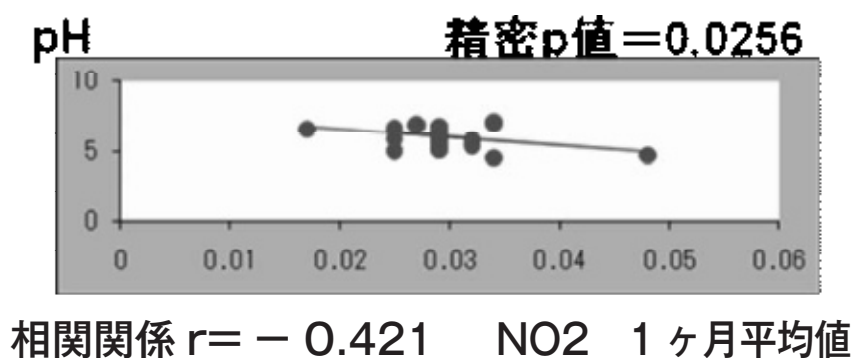


図 9 EBC pH と 1 ヶ月間平均 NO2 との関連性。有意な負の相関を認めた。

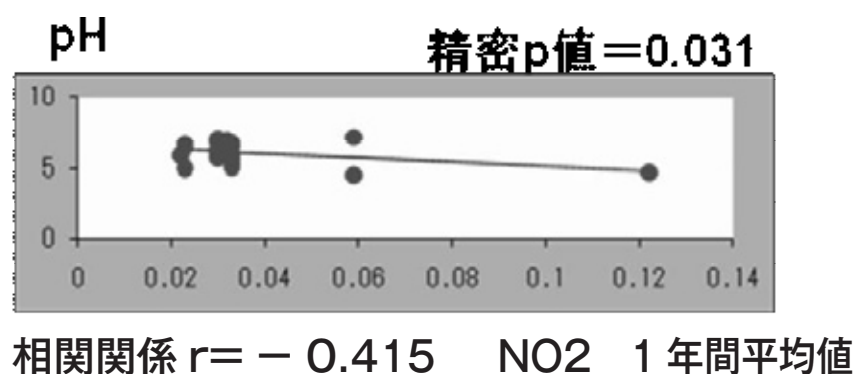


図 10 EBC pH と 1 年間平均 NO2 との関連性。有意な負の相関を認めた。

以上のように、EBC 中の 6 種類の分子マーカーと住所地から幹線道路までの距離との関連については、有意な関連は認めなかった。一方、EBC 中 pH と幹線道路までの直線距離との間には有意な相関関係が認められた。これは新しい知見であると考えられる。EBC 中 pH は PM10 の観測データとは相関を認めなかったが、NO2 データとは有意な負の相関関係を認めた。このことはこれらの大気汚染濃度が高いほど、気道の炎症が悪化することを示唆したものであり、EBC pH の測定が大気汚染状況と気道炎症病態との関連性を示す個人バイオマーカーとして有用である可能性を示唆したものである。

b) ぜん息群におけるサブ解析の結果：

中等症以上の気管支ぜん息における大気汚染データとの関連性に関する検討

実生活でありうる DE 暴露の急性影響の検討 James McCreanor, et al. N Engl J Med 2007;357:2348-58.) においては、60 例の軽症～中等症の成人喘息患者を対象としてランダム化クロスオーバー試験が行われ、バス、公共タクシー（ディーゼル車）のみ通行する交通量の多い道路（Oxford Street）と車の乗り入れが禁止された近傍の公園（Hyde Park）を同じ速度で 2 時間歩行した。呼吸機能と EBC pH を含む気道炎症のバイオマーカーを測定した。PM2.5, ultrafine particles, elemental carbon と NO2 が道路沿道で高値であり、道路歩行群において有意な増悪効果が示された。ところが、軽症群と中等症群に分けたサブ解析では、その影響は軽症喘息群では有意ではなく、中等症群においてのみ有意な増悪影響を示した。すなわち実生活でありうる健康暴露影響は急性暴露の場合は中等症以上で明らかであった。そこで、今回の検討においても中等症以上のぜん息群において、大気汚染物質測定濃度との関連性をサブ解析として行った。

その結果、全体解析では PM10 と個人の気道分子マーカーとの間で有意な相関を認めたのが EBC 中 EGF のみだったのに対して、最近 1 ヶ月間の平均 PM10 と 6 種類の気道分子マーカーとの間にそれぞれ有意な相関関係を認めた（図 11～16）。

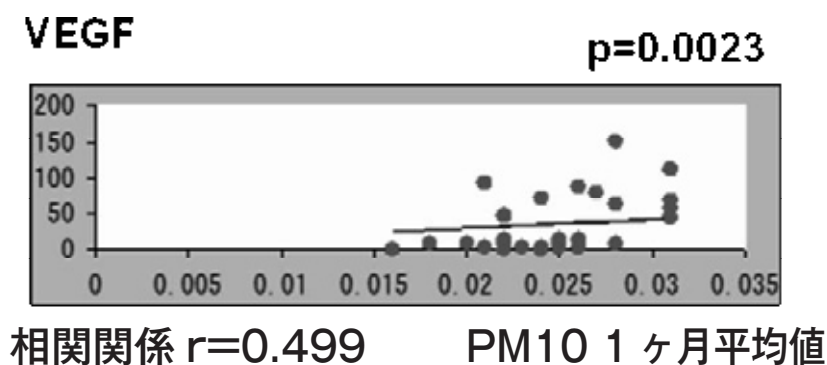
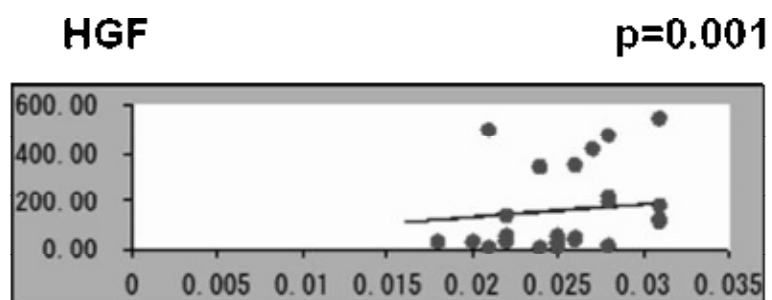
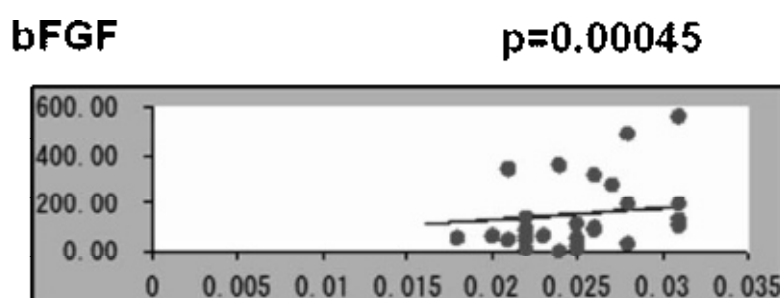


図 11 中等症以上のぜん息群におけるサブ解析：EBC VEGF と最近 1 ヶ月間の平均 PM10 との関連。有意な相関を認めた。



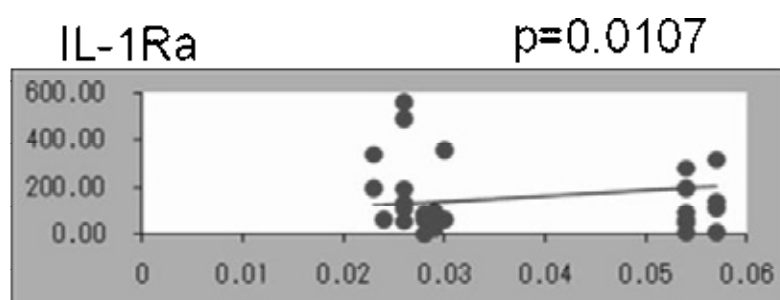
相関関係 $r=0.529$ PM10 1ヶ月平均値

図 12 中等症以上のぜん息群におけるサブ解析：EBC HGF と最近 1 ヶ月間の平均 PM10 との関連。有意な相関を認めた。



相関関係 $r=0.561$ PM10 1ヶ月平均値

図 13 中等症以上のぜん息群におけるサブ解析：EBC bFGF と最近 1 ヶ月間の平均 PM10 との関連。有意な相関を認めた。



$r=0.425$ 最近 1 年間 PM10 濃度

図 14 中等症以上のぜん息群におけるサブ解析：EBC IL-1Ra と最近 1 年間の平均 PM10 との関連。有意な相関を認めた。

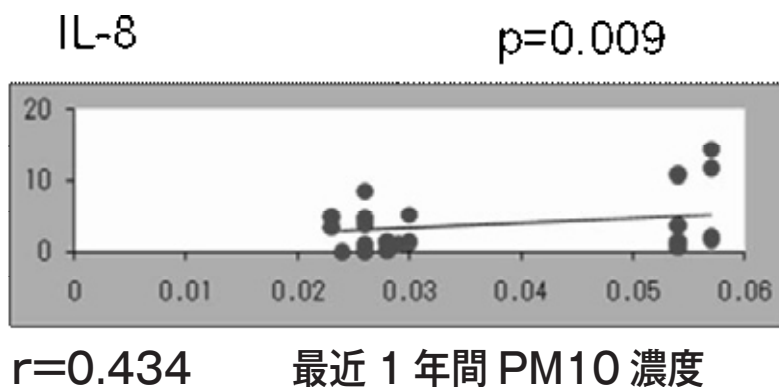


図 15 中等症以上のぜん息群におけるサブ解析：EBC IL-8 と最近 1 年間の平均 PM10 との関連。有意な相関を認めた。

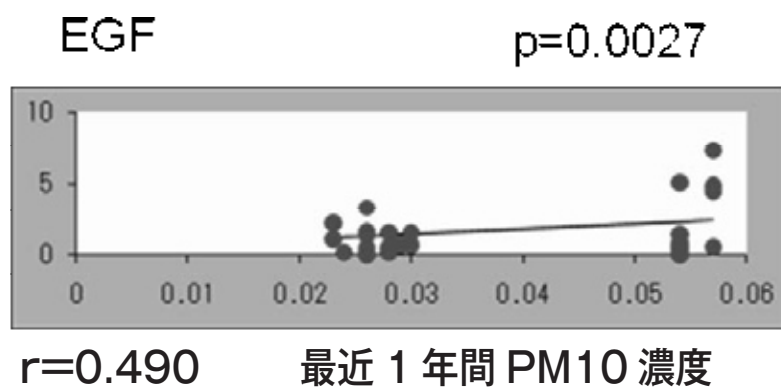


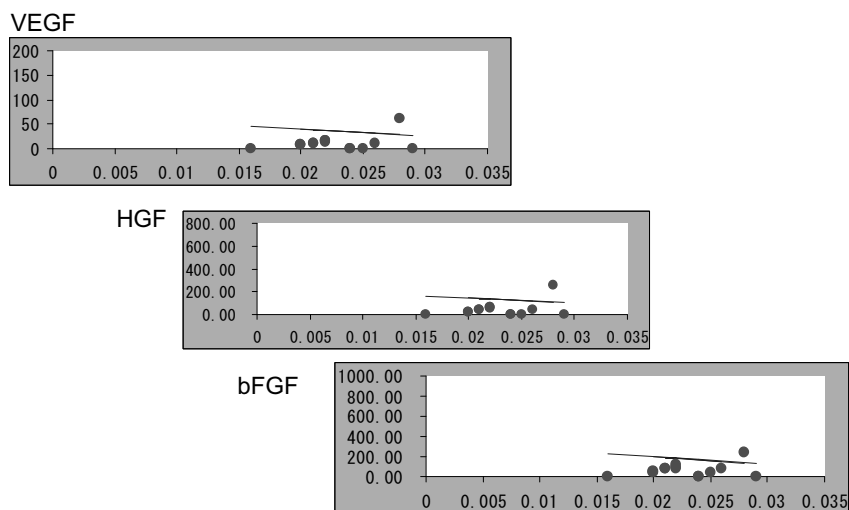
図 16 中等症以上のぜん息群におけるサブ解析：EBC EGF と最近 1 年間の平均 PM10 との関連。有意な相関を認めた。

以上、中等症以上のぜん息についてのサブ解析では、PM10 の最近 1 ヶ月間の平均値、および 1 年間の平均値と 6 種類の個人の気道炎症マーカーとの間に有意な相関関係が認められた。また、最近 1 ヶ月間の平均 NO₂ と bFGF との間に有意な相関関係を認めた。直近 1 日間の測定値と有意な相関を示したマーカーはなかった。

c) 気管支ぜん息未発症群における大気汚染物質濃度との関連

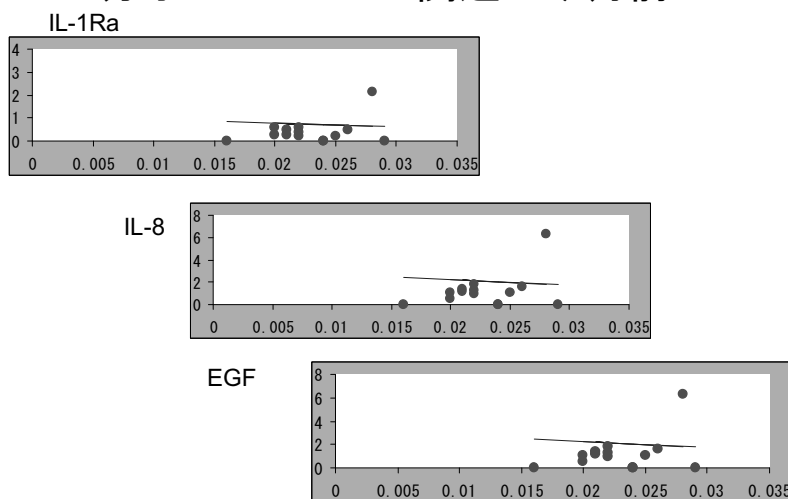
最近1年間、1ヶ月間のPM10との相関を検討したが有意な相関は見られなかった(図17)。

ぜん息未発症群における大気汚染データとEBC分子 マーカーとの関連: 1ヶ月前のPM10



- 有意な関連を認めなかった

ぜん息未発症群における大気汚染データと EBC分子マーカーとの関連: 1ヶ月前のPM10

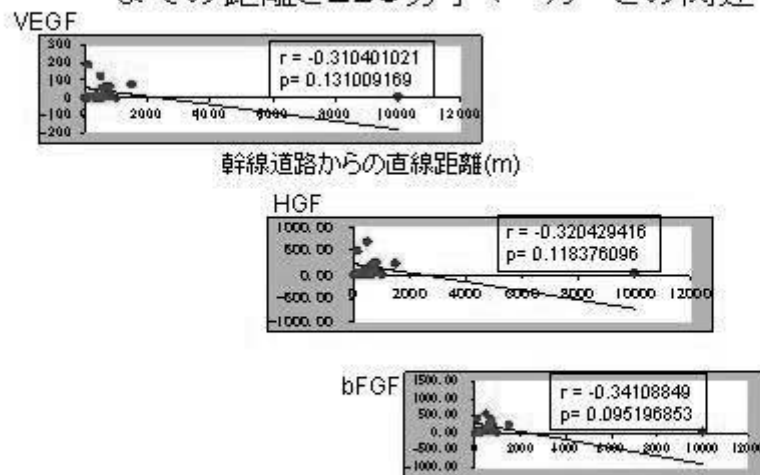


- 有意な関連を認めなかった

図 17 1ヶ月間のPM10との相関。有意な相関は見られなかった

また、幹線道路までの距離との関連も検討したが、有意な関係は認めなかった〈図 18〉。

気管支ぜん息未発症群における住所地から幹線道路までの距離とEBC分子マーカーとの関連



- 有意ではないが距離が近いほど値が高い傾向を認めた

図 18 EBC マーカーと幹線道路までの距離との関連。有意な関係は認めなかった。

以上、ぜん息未発症群においては、EBC 中 6 種類の分子マーカー濃度とどの時期の大気汚染データとの間にも、有意な相関は認めなかった。

EBC 中 6 種類の分子マーカー濃度と幹線道路までの距離との間に、有意ではないが逆相関の傾向があった。とくに、basic FGF との間には距離が近いほど上昇する傾向が認められた。

(5) ぜん息未発症例からのぜん息への移行

経過観察中に 5 名が咳ぜん息などから呼吸困難発作を伴う典型的ぜん息に移行したが、その前後で有意に変動した分子マーカーはなかった。

(6) 循環器系イベント

経過中に明らかな医師の認めた循環器系イベントは観察されなかった。

5 考察

EBC の採取は、昨年度同様、測定した症例全例で操作はなんら支障なく可能であり、副作用などもまったく認めなかった。所要時間が約 5 分であり安静換気のみなため、今後の疫学調査への応用の可能性が期待される。今年度は、ぜん息群において臨床的な検討も行った。その結果、気管支ぜん息群における検討では、重症度との関連が示唆され、

とくに最重症型では軽症持続型に比較して有意に気道炎症マーカーの上昇が認められた。喘息の病型では、アレルギー型(A群)と非アレルギー型(B群)とでは有意な差はなかった。さらに、呼吸機能検査の検査データとの相関では、1秒率(FEV1%) および%1秒量(%FEV) とEBC中HGFとの間に有意の負の相関を認めた。

続いて、大気中汚染物質の濃度と呼気凝縮液中炎症マーカーの関連及び幹線道路からの距離と各種マーカーの関連について検討した。

前年度初めて、川崎市公害監視センターから公開されている市内の一般局(9箇所)および自排局(10箇所)の大気汚染物質の濃度データと呼気凝縮液中の気道炎症マーカーの相関を検討した。各人の自宅または勤務地住所からもっとも近傍の測定局のデータを用いた。EBCのデータとの相関関係をみるにあたり、過去の大気汚染曝露という観点からは、直近1年間の平均値、直近1ヶ月間の平均値、及びリアルタイムの曝露データとして当日のデータを用いた。

ぜん息患者群での大気汚染と気道炎症病態との関連性ばかりでなく、ぜん息未発症群における気道炎症病態さらにそれらと大気汚染状況との関連性について検討することが出来た。限定的ではあるが、ぜん息群においては、測定1か月前の平均PM10濃度との間に相関関係が認められた。一方、「潜在的なぜん息発症例」を含むと思われる「未発症群」において、幹線道路までの距離との間に有意ではないが、逆相関の傾向が認められたことも興味深い。

今年度の検討では、より多数例でのより詳細な検討が可能であった。そして、大気汚染データとの関連において、EBC中EGFはPM101ヶ月間平均値と有意な相関を示した。またEBC中の分子マーカーVEGFとbFGFはNO21年間平均値と有意な相関を示した。さらに、EBC中pHと幹線道路までの直線距離との間には有意な相関関係が認められた。これは新しい知見であると考えられる。

EBC中pHはPM10の観測データとは相関を認めなかったが、NO2データとは有意な負の相関関係を認めた。このことはこれらの大気汚染濃度が高いほど、気道の炎症が悪化することを示唆したものであり、EBCpHの測定が大気汚染状況と気道炎症病態との関連性を示す個人バイオマーカーとして有用である可能性を示唆したものである。気道被覆液のpHは気道の炎症の指標となると考えられており、測定が簡単で再現性も良好なことから、今後個人の気道炎症マーカーとして期待できる(その意義について図19に示す)

EBC中のpHの意義

(Hunt et al. Am J Respir Crit Care Med 161:694-699, 2000)

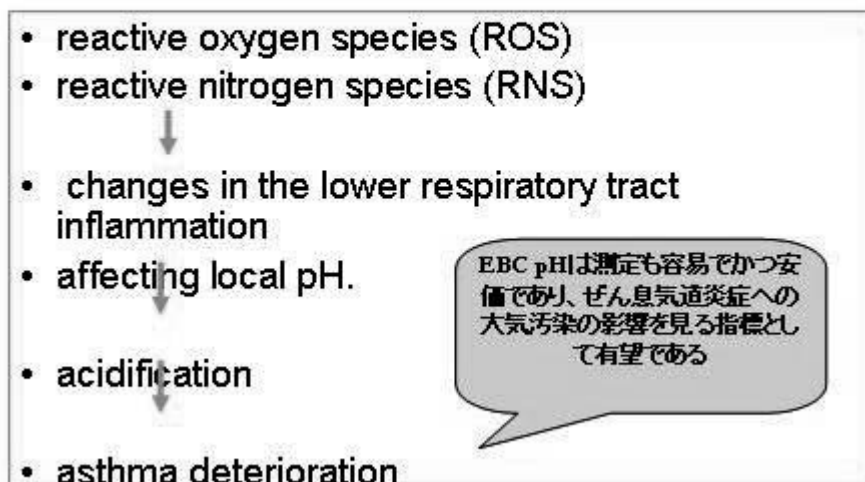


図 19 気道炎症のマーカーとしての pH

急性暴露影響を検討した従来報告では、日常生活でありうる DEP の急性暴露影響は中等症以上のぜん息に限られていた。そこで、今回の検討でも中等症以上のぜん息群においてサブ解析を行った。その結果、中等症以上のぜん息についてのサブ解析では、PM10 の最近 1 ヶ月間の平均値、および 1 年間の平均値と 6 種類の個人の気道炎症マーカーとの間に有意な相関関係が認められた。また、最近 1 ヶ月間の平均 NO₂ と bFGF との間に有意な相関関係を認めた。直近 1 日間の測定値と有意な相関を示したマーカーはなかった。

今後より大規模な疫学研究において個人の気道炎症マーカーの評価の実用性が示されたことが大きな成果と言える。前年度の EBC 中のバイオマーカーでもっとも有望視されたのは IL-8 や IL-1Ra であった。その理由は前者が *in vitro* においてもっともよく DEP によって誘導されるサイトカインであり、一方 IL-1Ra はそうした炎症反応において上昇しやすい内因性の抗炎症物質だからである。

一方、VEGF, HGF, basic FGF は、細胞増殖因子として気管支ぜん息をはじめとする気道疾患において病態的な意義が注目される分子である。

以上から、今回の比較的少数例における検討で、EBC の採取とその分子マーカー測定は、個人の気道炎症マーカーとして疫学的研究調査に応用可能であること、さらにぜん息群や潜在的なぜん息群を対象に、大気汚染状況との関連性を調査する新たなツールとして実効性がある事が示された。今後、さらに新たなバイオマーカーの開発が、喘息病態における酸化ストレス状態の検討、さらには DEP 暴露状況との関係の解明につながる事が予想される。酸化ストレスの候補マーカーとしては、pH, 8-isoprostane, 8-OHdG, malondialdehyde などがあげられ、一方防御因子としては GST-P1 などが想定される。今回認められた EBC 中の各種バイオマーカーの上昇は、ぜん息発症への 1 段階を検知する

マーカーとして有用である可能性があり、今後さらに多数例での検討が望まれる。EBCを用いた多数例での調査研究の報告は世界的に見てもほとんどなく、今後わが国において積極的に進展させる価値があるものと考えられた。

6 次年度へ向けた課題

引き続き、対象者数をふやし、ぜん息患者、慢性咳などの呼吸器症状とアレルギー素因を示しながらも未だぜん息の典型的表現型を示さない患者、および健常人の3群について、最終的に参加3医療施設で各群計150例を目標とする。今年度の検討を発展させ、気道分子マーカーと地域別大気汚染データや幹線道路からの距離との関連を総括する。また、2年目最終観察日までにぜん息未発症群からのぜん息発症群を検討し、その発症前気道炎症マーカーとの関連を検討する。循環系イベントの発症の有無との関連性も調査する。酸化ストレスの候補マーカーについても、測定技術の再現性や感度特異度を検証することにより、今後の疫学調査に有用なマーカーの抽出を試みる。

また、種々の因子を分析して、大気汚染がEBC中の気道炎症バイオマーカーへどの程度の寄与因子となっているかについての解析を目的として、重回帰分析を行う。

現在のような厳しい環境規制の中で、暴露量に大した差がない可能性が高く、生体への影響について、その有意差を見つけることが非常に難しい。今回の検討を通じて、気道バイオマーカーの上昇する群を追跡しぜんそくを発症するかどうかといった長期調査も、将来的に検討するべきと考えている。

7 期待される成果および活用の方向性

DEPとぜん息などの呼吸器疾患との関連性を示す研究は多数あるが、ぜん息群における気道炎症マーカーと大気汚染物質との関連性を明らかにした研究はほとんど見られない。英国からのぜん息患者60名を用いたDEPへの急性暴露研究では(Respiratory Effects of Exposure to Diesel Traffic in Persons with Asthma. James McCreanor, et al. N Engl J Med 2007;357:2348-58.)、DEP濃度の高い沿道と非汚染地域を各2時間クロスオーバー方式で歩いてもらい、その前後の呼吸機能とともに気道炎症病態を比較した。その結果、汚染地域での臨床的悪化と一致して気道pHの低下(酸性化)、IL-8と好中球およびその活性化指標の好中球ミエロオキシダーゼの上昇が認められた。この報告はDEP(正確にはDEPに起因する粒子状物質)によるぜん息の急性悪化に一致して気道炎症マーカーが変化することを明確にしたはじめての研究である。一方、日常生活でのぜん息群における気道炎症マーカーと大気汚染物質との関連性を明らかにした研究はほとんど見られない。

本調査研究は、ぜん息群のみならず、ぜん息類似の気道炎症病態を有するもののぜん息としての典型的な表現型を示さない群、および健常群という、多様な調査対象を設定して、ぜん息およびぜん息未発症群における気道炎症病態と、大気汚染状況との関連性

を示そうというユニークな調査研究であり、各群の気道炎症病態が大気汚染により影響されるかがわかるばかりでなく、ぜん息発症のリスク群を知る第一段階の情報を与える可能性をもつ。とくに EBC 中の各種分子マーカーと一般大気汚染状況との関連を検討した報告はほとんどなく、きわめてユニークかつ意義深いと考える。呼気凝縮液 (EBC) は気管支喘息を中心に気道炎症のバイオマーカーとしての有用性が報告され期待されている。しかし、疫学的調査研究に用いられた報告は少なく、とくに本調査研究のように大気汚染との関連で検討した報告はほとんど見られない。今年度は、昨年までの成果をもとに、同意を得た喘息患者および咳などの慢性呼吸器症状を示すものの諸検査によってもいまだぜん息を発症していない群においても採取と測定を実施して、成長因子やサイトカインを測定した。ぜん息群において臨床的な検討も行った。その結果、気管支ぜん息群における検討では、重症度との関連が示唆され、とくに最重症型では軽症持続型に比較して有意に気道炎症マーカーの上昇が認められた。喘息の病型では、アレルギー型 (A 群) と非アレルギー型 (B 群) とでは有意な差はなかった。さらに、呼吸機能検査の検査データとの相関では、1 秒率 (FEV1%) および %1 秒量 (%FEV) と EBC 中 HGF との間に有意の負の相関を認めた。以上の知見は EBC 中の分子マーカーの測定がぜん息の気道炎症病態を反映していることを示唆しており、大気汚染との関連性を検討する上で、個人のバイオマーカーとして有望であることを期待させる。

今回のデータは、EBC のバイオマーカーとしての有用性を示唆し、さらに一部の分子マーカーでは喘息群で有意に上昇を認めたこと、これらと種々の臨床的指標、さらに大気汚染状況との関連を検討しえたことは、今後の実効的な大気汚染健康被害対策に意義を持つと考えられる。

【まとめ】

DEP の及ぼすぜん息などのアレルギー疾患への影響は、試験管内の検討、動物モデルでの検討を経て、ヒトボランティアでの暴露実験、さらに近年の大規模コホート研究により、ほぼ確立された。こうした科学的根拠と社会的要請に基づいて、諸外国ではすでに PM2.5 の大気環境基準を定めており、わが国においてもようやく設定されようとしている。今回の検討では、大気汚染データとの関連において、EBC 中 EGF は PM10 1 ヶ月間平均値と有意な相関を示した。また EBC 中の分子マーカー VEGF と bFGF は NO2 1 年間平均値と有意な相関を示した。さらに、EBC 中 pH と幹線道路までの直線距離との間には有意な相関関係が認められた。これは新しい知見であると考えられる。EBC 中 pH は PM10 の観測データとは相関を認めなかったが、NO2 データとは有意な負の相関関係を認めた。このことはこれらの大気汚染濃度が高いほど、気道の炎症が悪化することを示唆したものであり、EBC pH の測定が大気汚染状況と気道炎症病態との関連性を示す個人バイオマーカーとして有用である可能性を示唆したものである。

急性暴露影響を検討した従来の報告では、日常生活でありうる DEP の急性暴露影響は中等症以上のぜん息に限られていた。そこで、今回の検討でも中等症以上のぜん息群においてサブ解析を行った。その結果、中等症以上のぜん息についてのサブ解析では、PM10

の最近 1 ヶ月間の平均値、および 1 年間の平均値と 6 種類の個人の気道炎症マーカーとの間に有意な相関関係が認められた。また、最近 1 ヶ月間の平均 NO₂ と bFGF との間に有意な相関関係を認めた。直近 1 日間の測定値と有意な相関を示したマーカーはなかった。

また今後分析検討すべき分子マーカーとしては、マウスの実験で高感受性群において上昇が確認された酸化ストレスマーカーである 8-OHdG、そのほかの候補マーカーとしては、pH, 8-isoprostane, 8-OHdG, malondialdehyde などがあげられる。今年度の検討では 6 種類のバイオマーカーに加え、pH が有望な結果であった。今後より検討を進めたい。以上から、今回の比較的少数例における検討で、EBC の採取とその分子マーカー測定は、個人の気道炎症マーカーとして疫学的研究調査に応用可能であること、さらにぜん息群や潜在的なぜん息群を対象に、大気汚染状況との関連性を調査する新たなツールとして実効性がある事が示された。今後、さらに新たなバイオマーカーの開発が、喘息病態における酸化ストレス状態の検討、さらには DEP 暴露状況との関係の解明につながる事が期待される。個人の気道バイオマーカーの測定を通じて、その健康被害への感受性が簡便かつ正確に評価されるようになることが期待される。

次年度においては、今回の検討で認められた、ぜん息群（特に中等症以上）において EBC 中の分子マーカーが、測定 1 か月前の平均 PM₁₀ 濃度や NO₂ 濃度との間に相関関係をさらに追及する。

中でも EBC の pH 測定値は PM₁₀ 測定値や幹線道路からの距離と相関関係を示し、安価かつ迅速な指標として期待される

【発表学会・論文】

[発表]

1. 滝澤始：特別企画シンポジウム1 生活環境習慣病としてのアレルギーを検証する I，環境因子と アレルギー～成長と衛生仮説～環境因子としての大気汚染の関わり．

第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2009 年 10 月、東京。

アレルギー (0021-4884) 58 巻 8-9 Page1091 (2009. 09)

2. 李英姫，滝澤始，吾妻安良太，菅原勇，川田智之，工藤翔二：Nrf2KO マウス喘息モデルにおけるディーゼル排気粒子曝露の気道炎症反応への影響。日本衛生学雑誌 (0021-5082) 65 巻 2 号 Page307 (2010. 04)

3. 小山ひかり，大林王司，金俊行，藤野昇三，大田健，山内康宏，幸山正，滝澤始：気管支喘息患者の呼気凝集液中増殖因子測定 of 臨床的意義。アレルギー (0021-4884) 59 巻 3-4 Page389 (2010. 04)

論文：

1. Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Kawada T, Kudoh S, Sugawara I. The Effects of Oxidative Stress Induced by Prolonged Low-Dose Diesel Exhaust Particle Exposure on the Generation of Allergic Airway Inflammation Differ between BALB/c and C57BL/6 Mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 31(2):230-7, 2009.

2. Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Itakura S, Kamitani S, Desaki M, Kawasaki S, Nagase T. Procaterol Inhibits Lung Fibroblast Migration. *Inflammation.* 32(6):387-92, 2009.

3. Kikuchi K, Kohyama T, Yamauchi Y, Kato J, Takami K, Okazaki H, Desaki M, Nagase T, Rennard SI, Takizawa H. C-reactive protein modulates human lung fibroblast migration. *Exp Lung Res.* 35(1):48-58, 2009.

4. Kikuchi Y, Tateda K, Fuse ET, Matsumoto T, Gotoh N, Fukushima J, Takizawa H, Nagase T, Standiford TJ, Yamaguchi K. Hyperoxia exaggerates bacterial dissemination and lethality in *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia. *Pulm Pharmacol Ther.* 22(4):333-9, 2009.

5. Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Takahashi S, Yamamoto M, Kawada T, Kudoh S, Sugawara I. Nrf2 is closely related to allergic airway inflammatory responses induced by low-dose diesel exhaust particles in mice. *Clin Immunol.*

137(2):234-41, 2010.

6. Yamauchi Y, Kohyama T, Takizawa H, Kamitani S, Desaki M, Takami K, Kawasaki S, Kato J, Nagase T. Tumor necrosis factor- α enhances both epithelial-mesenchymal transition and cell contraction induced in A549 human alveolar epithelial cells by transforming growth factor- β 1. *Exp Lung Res.* 36(1):12-24, 2010.

7. Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Kamitani S, Kawasaki S, Nagase T. Histamine stimulates human lung fibroblast migration. *Mol Cell Biochem.* 337(1-2):77-81, 2010.

8. Li YJ, Takizawa H, Kawada T. Role of oxidative stresses induced by diesel exhaust particles in airway inflammation, allergy and asthma: their potential as a target of chemoprevention. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2010 Sep;9(4):300-5.