

Ⅲ-② 成人を対象とした気管支ぜん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】

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。

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した。前年度までの研究により、EBC は採取も容易で再現性もあり、その微量分析によって得られる各種分子マーカーや pH は個人の気道炎症の指標として有用であると考えられた。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有意に示され、その寄与因子であることが明らかにされた。高感受性群の抽出に応用できれば、ぜん息などのアレルギー疾患の発症予知や一次予防の指標として有用であると期待される。

そこで最終年度である今年度は、EBC の測定による気道炎症病態の解析を行い、各種の大気汚染状況を含めた臨床的指標との関連性を検討するとともに、これらに大気汚染がどう影響するかを検討する。さらに3年間の総括を行う。

1 研究従事者（○印は研究リーダー）

○滝澤 始（杏林大） 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） 齋藤 朗（東京大学）
和田 裕雄（杏林大） 小山 ひかり（帝京大学） 金 俊行（帝京大学）
山浦 真理子（帝京大学） 堀江 真史（杏林大） 三上 優（東京大学）

2 平成23年度の研究目的

前年度までの検討により、R-tube による EBC 採取の簡便性や携帯性からその疫学研究への応用の実効性を確認した。さらに、各種臨床病態との関連や幹線道路からの距離との関連、もっとも近傍の大気汚染測定データとの関連性を検討した。以上から、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。

これらの成果に基づいて、最終年度である今年度は研究施設としてこれまでの

神奈川県川崎市、東京都文京区に加え、東京都三鷹市地域を選び、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、および健常人を対象に調査を行った。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)を採取した。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った。ぜん息群および非ぜん息群において、東京都三鷹地区、神奈川県川崎市を中心に EBC の測定による気道炎症病態の解析を行い、各種の臨床的病態との関連性を検討するとともに、これらに大気汚染がどう影響するかを検討する。さらに3年間の総括を行う。

3 平成23年度の研究対象及び方法

- 1) 調査研究対象：各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、呼吸器疾患のない患者および健常人。

各種病態群の分類は、ぜん息や COPD のスクリーニングのために国際的評価が定まっている IPAG 診断・治療ハンドブック日本語版(慢性気道疾患プライマリケア医用ガイド 2005 International Primary Care Airways Group (IPAG) : 日本呼吸器学会編) IPAG の問診表に基づいて、以下の群に分類した。

- a. 健常群：問診表の項目が1つも陽性でない、かつスパイロメータ検査で正常であることを確認した群
- b. 気管支喘息：問診表から過去または現在喘息症状が認められる群
- c. 喘息未発症群：主に慢性(2ヶ月以上)咳を主訴として受診するも明確な気道閉塞症状を示さず、かつ以下の呼吸器疾患と確定できない群(咳喘息やアトピー性咳も将来喘息を発症する可能性のある群として含めた)
- d. そのほかの呼吸器疾患群(COPD、慢性副鼻腔炎、後鼻漏、副鼻腔気管支症候群、胃食道逆流症、気管支拡張症、特発性間質性肺炎、

実際の解析対象としては、a, b, c の3群を選んだ。

- 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。EBC中 pH も測定した。
- 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。

*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

1) 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(8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。

2) 三鷹市地域の大気汚染データと呼気凝縮液中炎症マーカーの関連

東京都環境局のホームページ

(http://www.kankyo.metro.tokyo.jp/air/air_pollution/result_measurement.html)、および大気汚染状況速報(そらまめ君)(<http://soramame.taiki.go.jp/>)から公開されている市内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、いままでの結果を参考に、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EBC採取当日のデータを用いた。

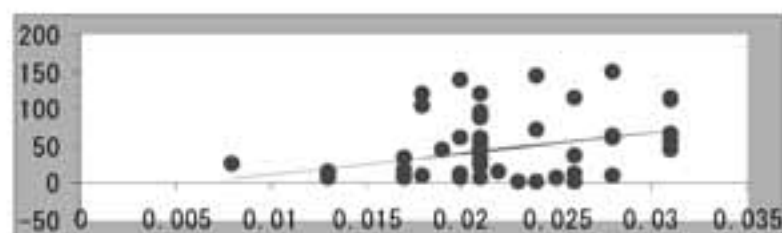
4 平成23年度の研究成果

1. 川崎市における気管支ぜん息患者における検討結果

1.1 川崎市におけるぜん息群における EBC マーカーと大気汚染との関連に関する検討

1.1.1 まず、PM10に関して、測定前1か月間の平均値の大気汚染データとの関連を以下に示す。EBC VEGF, HGF, bFGF, IL-1RA, IL-8, EGF 濃度のいずれとも弱いものの有意な相関関係を認めた(図1~6)。

EBC 中 VEGF (pg/ml)

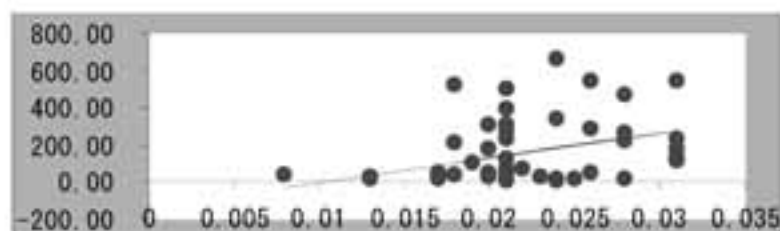


最短距離の測定局における1か月平均PM10濃度(mg/m³)

$R=0.352$ $p<0.01$

図1 EBC 中 VEGF と最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度との関連。
有意な関連を認めた。

EBC 中 HGF (pg/ml)

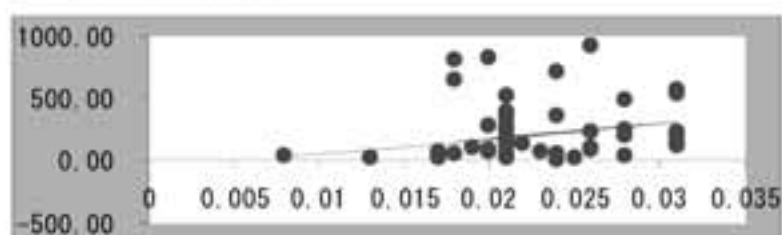


最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度

$R=0.3998$ $p<0.001$

図2 EBC 中 HGF と最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度との関連。
有意な関連を認めた。

EBC 中 FGF (pg/ml)

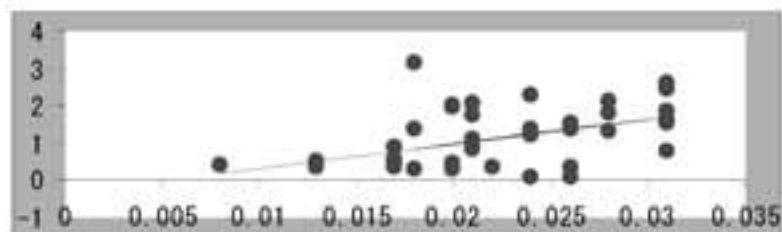


最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度

$R=0.280$ $p<0.05$

図3 EBC 中 FGF と最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度との関連。
有意な関連を認めた。

EBC 中 IL-1RA (pg/ml)

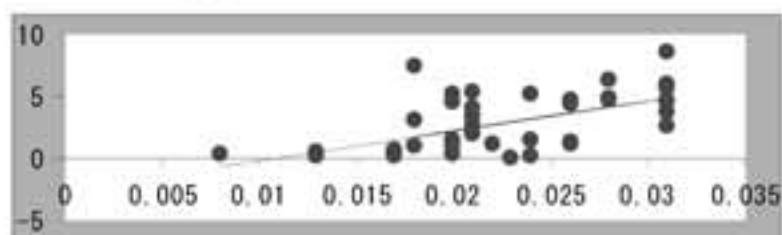


最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度

$R=0.302$ $p<0.05$

図4 EBC 中 IL-1RA と最短距離の測定局における1カ月平均PM10濃度との関連。
有意な関連を認めた。

EBC 中 IL-8 (pg/ml)

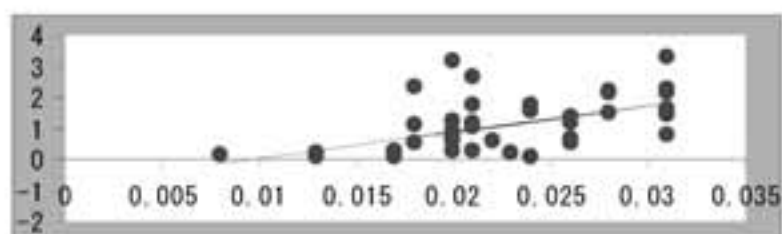


最短距離の測定局における 1 カ月平均 PM10 濃度

$R=0.4335$ $p<0.01$

図 5 EBC 中 IL-8 と最短距離の測定局における 1 年平均 PM10 濃度との関連。
有意な関連を認めた。

EBC 中 EGF (pg/ml)



最短距離の測定局における 1 カ月平均 PM10 濃度

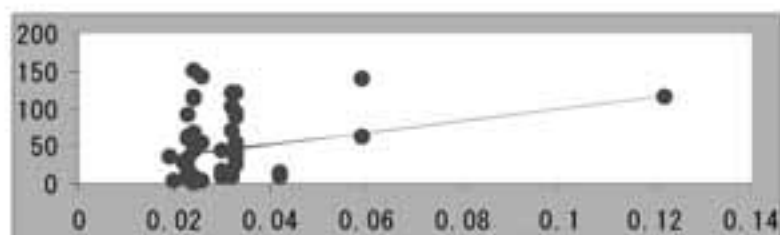
$R=0.3775$ $p<0.05$

図 6 EBC 中 EGF と最短距離の測定局における 1 年平均 PM10 濃度との関連。
有意な関連を認めた。

測定前 1 か月間の平均値の NO_2 に関して、有意な相関関係を示したものはなかった。
続いて、測定前 1 年間の平均値 PM10 の大気汚染データとの関連を検討したが、PM10
については有意な相関を示したものはなかった。

1.1.2 さらに、測定前 1 年間の平均値の NO_2 に関して、以下に示す。EBC VEGF と bFGF
の濃度との間に有意な相関関係を示した (図 7)。

EBC 中 VEGF



最短距離の測定局における1年平均NO₂濃度

$R=0.2704$ $p<0.05$

図7 EBC中VEGFと最短距離の測定局における1年平均NO₂濃度との関連。
有意な関連が認められた。

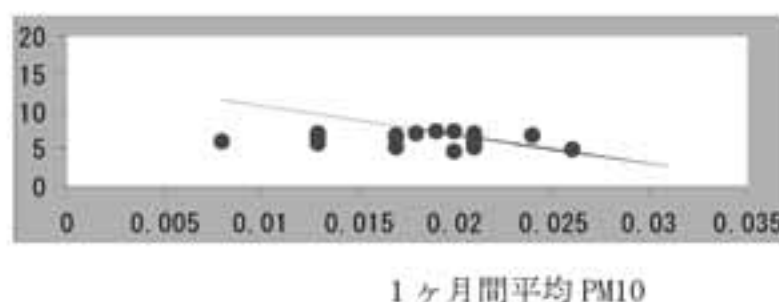
続いて、測定日直近のPM10データとEBC中の分子マーカーを比較した。

EBC中分子マーカーと最短距離の測定局における直近のPM10濃度との関連では
有意な関連は認めなかった（図示さず）。

1.1.3 EBC中pHと大気汚染データとの関連

次に、EBC pHとPM10、NO₂との関連性を検討した（図8）。

EBC pH



$R=-0.4778$ $p<0.001$

図8 EBC pHと1ヶ月間平均PM10との関連性
有意な負の関連を認めた。

EBCのpHは1ヶ月前のPM10平均濃度との間に有意な負の相関を示した。一方、前年度有意な負の相関関係を示したNO₂観測データとは相関を認めなかった。PM10の大気中濃度が高いほど、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。

以上のように、気管支ぜん息群においては、PM10との相関では、EBC中の6種の分子マーカーのいずれとも弱いものの、最近1ヶ月平均測定値と有意な相関を認めた。NO₂との相関では、昨年度と同様に最近1年間の測定値とEBC VEGF、bFGFとの間に有意な相関を認めた。一方、最近1ヶ月間のNO₂の濃度とは相関は見られなかった。また、EBC中pHは1か月間の平均PM10濃度と有意な負の相関を示し、大気汚染濃度と気道の酸化度が相関する結果であった。

1.2 気管支ぜん息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

次に、気管支ぜん息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を、地図上の直線距離を用いて検討した。

・EBC 中分子マーカー濃度と幹線道路までの直線距離との相関

幹線道路までの距離との相関では6つのマーカーとも有意な相関は無かった。

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 は今年度のデータでは有意な相関を認めなかった。

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、昨年度までの同様に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なかった。

以上から気道の炎症の悪化の個人マーカーとしての EBC pH の測定の意義は、さらに検討する必要がある。

2. 東京都三鷹地区におけるぜん息の EBC マーカーと大気汚染との関連性

川崎市と同様に大気汚染測定値と個人気道炎症マーカーとの相関を検討した。

三鷹地区においては EBC 中分子マーカーと大気汚染濃度との間には、いずれも有意な相関がなかった。全般的に川崎地区より濃度が低い傾向がある上に、測定局の密度が低く、直近の測定局が川崎より遠方であったことも、このような結果に係る可能性がある。

3. ぜん息群における EBC マーカーを規定する因子の解析：重回帰解析から

3.1 全体解析

3年間のデータを踏まえて、EBC 中の各バイオマーカーを規定する因子を重回帰分析により検討した。説明変数として、これまでの単回帰解析の成績を参考にして、年齢・性別・重症度・PM10 の直近1年間平均値、直近1か月間平均値、1日前のデータおよび NO₂ の直近1年間平均値、直近1か月間平均値、1日前のデータ、ならびに幹線道路までの距離、の10項目を用いた。

その結果、

- ・ EBC 中 VEGF に関する重回帰解析で有意であったのは1年間の NO₂ 測定平均値であった (図9)。
- ・ EBC 中 HGF に関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間と1年間の NO₂ 測定平均値であった (図10)。
- ・ EBC 中 bFGF に関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間と1年間の NO₂ 測定平均値であった (図11)。
- ・ EBC 中 IL-1RA に関する重回帰解析では有意であったものはなかった (図12)。
- ・ EBC 中 IL-8 に関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間の PM10 測定平均値であった (図13)。
- ・ EBC 中 EGF に関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間の PM10 測定平均値

であった（図 14）

・EBC 中 pH に関する重回帰解析で有意であったのは幹線道路までの距離であった（図 15）。

マーカー	VEGF								
回帰統計									
重相関 R	0.560343								
重決定 R2	0.313984								
補正 R2	0.161536								
標準誤差	39.29008								
観測数	106								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	割された分散	有意 F				
回帰	10	31794.51	3179.451	2.059617	0.048764				
残差	95	69466.95	1543.71						
合計	105	101261.5							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	115.1615	69.02195	1.668476	0.102166	-23.8559	254.1788	-23.8559	254.1788	
X 値 1	-6.27827	8.086194	-0.77642	0.441564	-22.5647	10.00816	-22.5647	10.00816	重症度
X 値 2	-793.511	607.9808	-1.30516	0.198474	-2018.05	431.0254	-2018.05	431.0254	PM1yr
X 値 3	595.1021	1525.517	0.390099	0.698304	-2477.45	3667.65	-2477.45	3667.65	PM1mo
X 値 4	-162.575	864.7541	-0.188	0.85172	-1904.28	1579.129	-1904.28	1579.129	PM1day
X 値 5	1640.181	555.2812	2.953784	0.004977	521.7869	2758.575	521.7869	2758.575	NO21yr
X 値 6	-2385.7	1256.335	-1.89894	0.063995	-4916.09	144.6875	-4916.09	144.6875	NO21mo
X 値 7	277.9829	637.7973	0.435848	0.66503	-1006.61	1562.573	-1006.61	1562.573	NO21day
X 値 8	-0.01364	0.00906	-1.50601	0.139052	-0.03189	0.004603	-0.03189	0.004603	距離
X 値 9	0.569946	12.37655	0.04605	0.963474	-24.3577	25.4976	-24.3577	25.4976	性別1男
X 値 10	-0.43225	0.357894	-1.20776	0.233449	-1.15309	0.288585	-1.15309	0.288585	年齢

図 9 EBC 中 VEGF に関する重回帰解析

10 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 年間の NO₂ 測定平均値であった

マーカー	HGF										
回帰統計											
重相関 R	0.606314										
重決定 R2	0.367616										
補正 R2	0.227086										
標準誤差	156.0778										
観測数	106										
分散分析表											
	自由度	変動	分散	割された分散	有意 F						
回帰	10	637247.7	63724.77	2.615931	0.013429						
残差	95	1096212	24360.26								
合計	105	1733460									
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%			
切片	312.4704	274.186	1.139629	0.260471	-239.769	864.7095	-239.769	864.7095			
X 値 1	-39.5463	32.12198	-1.23113	0.22467	-104.243	25.15067	-104.243	25.15067	重症度		
X 値 2	-2792.51	2415.172	-1.15623	0.253687	-7656.91	2071.9	-7656.91	2071.9	PM1yr		
X 値 3	4280.769	6060.034	0.706393	0.483585	-7924.77	16486.3	-7924.77	16486.3	PM1mo		
X 値 4	-286.336	3435.19	-0.08335	0.93394	-7205.16	6632.492	-7205.16	6632.492	PM1day		
X 値 5	7727.685	2205.825	3.503308	0.001051	3284.925	12170.45	3284.925	12170.45	NO21yr		
X 値 6	-13663.6	4990.723	-2.7378	0.008828	-23715.4	-3611.75	-23715.4	-3611.75	NO21mo		
X 値 7	3057.459	2533.616	1.206757	0.233831	-2045.51	8160.424	-2045.51	8160.424	NO21day		
X 値 8	-0.04836	0.03599	-1.3437	0.185782	-0.12085	0.024128	-0.12085	0.024128	距離		
X 値 9	1.594077	49.16519	0.032423	0.974278	-97.4297	100.6179	-97.4297	100.6179	性別1男		
X 値 10	0.406112	1.421715	0.285649	0.776458	-2.45737	3.269593	-2.45737	3.269593	年齢		

図 10 EBC 中 HGF に関する重回帰解析

10 項目の説明変数のうち有意であったのは1ヶ月間と1年間のNO₂測定平均値であった

マーカー	bFGF										
回帰統計											
重相関 R	0.674181										
重決定 R2	0.45452										
補正 R2	0.333302										
標準誤差	191.8452										
観測数	106										
分散分析表											
	自由度	変動	分散	割された分散	有意 F						
回帰	10	1380030	138003	3.749616	0.001023						
残差	95	1656206	36804.58								
合計	105	3036236									
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%			
切片	463.0368	337.0197	1.373916	0.176273	-215.756	1141.829	-215.756	1141.829	重症度		
X 値 1	-15.8601	39.48319	-0.40169	0.689812	-95.3833	63.66311	-95.3833	63.66311	PM1yr		
X 値 2	-5085.42	2968.643	-1.71304	0.093587	-11064.6	893.7365	-11064.6	893.7365	PM1mo		
X 値 3	-4039.56	7448.778	-0.54231	0.59028	-19042.2	10963.05	-19042.2	10963.05	PM1day		
X 値 4	1935.266	4222.413	0.458332	0.64892	-6569.11	10439.64	-6569.11	10439.64	NO21yr		
X 値 5	13242.67	2711.322	4.884211	1.35E-05	7781.784	18703.55	7781.784	18703.55	NO21mo		
X 値 6	-20110.7	6134.419	-3.27834	0.002018	-32466.1	-7755.35	-32466.1	-7755.35	NO21day		
X 値 7	5519.624	3114.23	1.772388	0.0831	-752.758	11792.01	-752.758	11792.01	距離		
X 値 8	-0.05945	0.044238	-1.34381	0.185747	-0.14855	0.029653	-0.14855	0.029653	性別1男		
X 値 9	48.5281	60.4321	0.803019	0.426185	-73.1884	170.2446	-73.1884	170.2446	年齢		
X 値 10	-0.79488	1.747522	-0.45486	0.651395	-4.31457	2.724808	-4.31457	2.724808			

図 11 EBC 中 bFGF に関する重回帰解析

10 項目の説明変数のうち有意であったのは1ヶ月間と1年間のNO₂測定平均値であ

[illegible]

図 12 EBC 中 IL-1RA に関する重回帰解析

10項目の説明変数のうち有意であったものはなかった

10項目の説明変数のうち有意であったものはなかった

マーカー	IL-8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
------	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

図 13 EBC 中 IL-8 に関する重回帰解析

10 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 ヶ月間の PM10 測定平均値であった

マーカー	EGF								
回帰統計									
重相関 R	0.728992								
重決定 R2	0.531429								
補正 R2	0.40127								
標準誤差	0.680021								
観測数	47								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	割された分散	有意 F				
回帰	10	18.88063	1.888063	4.082933	0.000839				
残差	36	16.64742	0.462428						
合計	46	35.52805							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	1.025946	1.466422	0.699625	0.488658	-1.94809	3.999987	-1.94809	3.999987	
X 値 1	-0.12775	0.1523	-0.83883	0.407101	-0.43663	0.181125	-0.43663	0.181125	重症度
X 値 2	-16.8402	11.34362	-1.48455	0.146367	-39.8461	6.165765	-39.8461	6.165765	PM1yr
X 値 3	66.04748	27.63443	2.390043	0.022204	10.00226	122.0927	10.00226	122.0927	PM1mo
X 値 4	-11.9711	19.81693	-0.60409	0.549575	-52.1617	28.21947	-52.1617	28.21947	PM1day
X 値 5	2.588561	10.95669	0.236254	0.814575	-19.6326	24.80977	-19.6326	24.80977	NO21yr
X 値 6	15.80594	29.20354	0.541234	0.59168	-43.4216	75.03346	-43.4216	75.03346	NO21mo
X 値 7	-20.138	14.02581	-1.43578	0.159698	-48.5836	8.307706	-48.5836	8.307706	NO21day
X 値 8	0.000183	0.000167	1.097239	0.279822	-0.00016	0.000522	-0.00016	0.000522	距離
X 値 9	0.154843	0.227965	0.67924	0.50133	-0.30749	0.617178	-0.30749	0.617178	性別1男
X 値 10	-0.01296	0.00744	-1.7414	0.090154	-0.02805	0.002133	-0.02805	0.002133	年齢

図 14 EBC 中 EGF に関する重回帰解析

10 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 ヶ月間の PM10 測定平均値であった

マーカー	pH								
回帰統計									
重相関 R	0.712861								
重決定 R2	0.508171								
補正 R2	0.218861								
標準誤差	0.663883								
観測数	58								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	割された分散	有意 F				
回帰	10	7.741556	0.774156	1.756489	0.14739				
残差	47	7.492587	0.44074						
合計	57	15.23414							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	8.149467	3.184168	2.55937	0.020314	1.431458	14.86747	1.431458	14.86747	
X 値 1	-0.12449	0.278826	-0.44648	0.660886	-0.71276	0.463782	-0.71276	0.463782	重症度
X 値 2	-14.6187	19.72688	-0.74105	0.468774	-56.2388	27.00139	-56.2388	27.00139	PM1yr
X 値 3	-48.8122	70.02105	-0.69711	0.495159	-196.544	98.9193	-196.544	98.9193	PM1mo
X 値 4	40.05506	26.85208	1.491693	0.154103	-16.5979	96.70799	-16.5979	96.70799	PM1day
X 値 5	-3.87963	18.83582	-0.20597	0.83926	-43.6197	35.86047	-43.6197	35.86047	NO21yr
X 値 6	-60.823	69.5592	-0.87441	0.394082	-207.58	85.93405	-207.58	85.93405	NO21mo
X 値 7	15.1665	17.28654	0.877359	0.392522	-21.3049	51.63791	-21.3049	51.63791	NO21day
X 値 8	0.000375	0.000177	2.121678	0.048862	2.09E-06	0.000747	2.09E-06	0.000747	距離
X 値 9	-0.27655	0.420434	-0.65776	0.519499	-1.16358	0.610493	-1.16358	0.610493	性別1男
X 値 10	0.013326	0.010423	1.278511	0.218249	-0.00867	0.035318	-0.00867	0.035318	年齢

図 15 EBC 中 pH に関する重回帰解析

10 項目の説明変数のうち有意であったのは幹線道路までの距離であった

3.2 中等症以上のぜん息群における EBC 中バイオマーカーの因子解析：

次に、前年度までに示された、中等症以上のぜん息における EBC 中バイオマーカーを規定する因子を重回帰解析により検討した。その因子解析を重症度を除いて 9 項目の説明変数について重回帰分析にて行った。

マーカー VEGF									
回帰統計									
重相関 R	0.633348								
重決定 R2	0.40113								
補正 R2	0.185537								
標準誤差	34.30476								
観測数	35								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	用された分散	有意 F				
回帰	9	19706.14	2189.571	1.860588	0.106312				
残差	25	29420.41	1176.816						
合計	34	49126.55							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	-63.4196	73.3257	-0.8649	0.395316	-214.437	87.5975	-214.437	87.5975	
X 値 1	-0.0045	0.013909	-0.32378	0.748796	-0.03315	0.024142	-0.03315	0.024142	距離
X 値 2	-14.2566	14.81503	-0.96231	0.345111	-44.7688	16.2555	-44.7688	16.2555	性別1男
X 値 3	0.215161	0.494548	0.435066	0.667247	-0.80338	1.233703	-0.80338	1.233703	年齢
X 値 4	-22.3253	491.1172	-0.04546	0.964103	-1033.8	989.1495	-1033.8	989.1495	PM1yr
X 値 5	5602.35	2026.485	2.764565	0.010549	1428.726	9775.974	1428.726	9775.974	PM1mo
X 値 6	-542.398	986.6268	-0.54975	0.587369	-2574.39	1489.598	-2574.39	1489.598	PM1day
X 値 7	-447.812	1424.757	-0.31431	0.755895	-3382.15	2486.53	-3382.15	2486.53	NO21yr
X 値 8	533.6973	1057.106	0.504866	0.618074	-1643.45	2710.848	-1643.45	2710.848	NO21mo
X 値 9	-797.568	623.2356	-1.27972	0.212392	-2081.15	486.0097	-2081.15	486.0097	NO21day

図 16 中等症以上のぜん息患者群における EBC 中 VEGF に関する重回帰解析

9 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 ヶ月間の PM10 平均値であった

マーカー	HGF								
回帰統計									
重相関 R	0.534857								
重決定 R2	0.286072								
補正 R2	0.029058								
標準誤差	155.3138								
観測数	35								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	用された分母	有意 F				
回帰	9	241647.2	26849.69	1.113061	0.389633				
残差	25	603059.7	24122.39						
合計	34	844706.9							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	-167.83	331.98	-0.50554	0.617606	-851.556	515.8957	-851.556	515.8957	距離
X 値 1	0.004319	0.062972	0.068579	0.945871	-0.12537	0.134012	-0.12537	0.134012	性別1男
X 値 2	-66.5567	67.07464	-0.99228	0.330569	-204.7	71.58611	-204.7	71.58611	年齢
X 値 3	1.398002	2.239054	0.624372	0.53804	-3.21342	6.009419	-3.21342	6.009419	PM1yr
X 値 4	228.3679	2223.52	0.102706	0.919016	-4351.06	4807.792	-4351.06	4807.792	PM1mo
X 値 5	18443.27	9174.854	2.010198	0.055317	-452.696	37339.24	-452.696	37339.24	PM1day
X 値 6	-3214.8	4466.925	-0.71969	0.478391	-12414.6	5985.006	-12414.6	5985.006	NO21yr
X 値 7	-1847.89	6450.549	-0.28647	0.776879	-15133	11437.27	-15133	11437.27	NO21mo
X 値 8	1601.368	4786.018	0.334593	0.740723	-8255.62	11458.36	-8255.62	11458.36	NO21day
X 値 9	-3164.97	2821.682	-1.12166	0.272665	-8976.33	2646.395	-8976.33	2646.395	

図 17 中等症以上のぜん息患者群における EBC 中 HGF に関する重回帰解析
9 項目の説明変数のうち有意であったものはなかった。

マーカー	FGF								
回帰統計									
重相関 R	0.538444								
重決定 R2	0.289922								
補正 R2	0.034294								
標準誤差	135.708								
観測数	35								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	用された分母	有意 F				
回帰	9	187986.7	20887.41	1.134158	0.376582				
残差	25	460416.7	18416.67						
合計	34	648403.4							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	-198.897	290.073	-0.68568	0.499226	-796.313	398.5201	-796.313	398.5201	距離
X 値 1	0.018166	0.055023	0.330146	0.74404	-0.09516	0.131487	-0.09516	0.131487	性別1男
X 値 2	-22.0026	58.60757	-0.37542	0.710513	-142.707	98.702	-142.707	98.702	年齢
X 値 3	1.075575	1.95641	0.54977	0.587356	-2.95373	5.104877	-2.95373	5.104877	PM1yr
X 値 4	-391.73	1942.837	-0.20163	0.841839	-4393.08	3609.617	-4393.08	3609.617	PM1mo
X 値 5	18077.47	8016.68	2.254983	0.03314	1566.812	34588.14	1566.812	34588.14	PM1day
X 値 6	-4474.89	3903.05	-1.14651	0.262439	-12513.4	3563.589	-12513.4	3563.589	NO21yr
X 値 7	-2508.9	5636.273	-0.44513	0.660053	-14117	9099.223	-14117	9099.223	NO21mo
X 値 8	2792.902	4181.862	0.667861	0.510342	-5819.8	11405.61	-5819.8	11405.61	NO21day
X 値 9	-2418.63	2465.491	-0.98099	0.335994	-7496.41	2659.142	-7496.41	2659.142	

図 18 中等症以上のぜん息患者群における EBC 中 bFGF に関する重回帰解析
9 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 ヶ月間の PM10 平均値であった

マーカー	IL-1RA								
回帰統計									
重相関 R	0.695368								
重決定 R2	0.483537								
補正 R2	0.29761								
標準誤差	1.251421								
観測数	35								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	用された分母	有意 F				
回帰	9	36.6553	4.072811	2.600683	0.028529				
残差	25	39.15136	1.566054						
合計	34	75.80666							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	-6.2376	2.674886	-2.33191	0.028059	-11.7466	-0.72857	-11.7466	-0.72857	距離
X 値 1	0.000723	0.000507	1.425161	0.166477	-0.00032	0.001768	-0.00032	0.001768	性別1男
X 値 2	0.211859	0.540445	0.392008	0.698375	-0.90121	1.324926	-0.90121	1.324926	年齢
X 値 3	0.015517	0.018041	0.860087	0.397914	-0.02164	0.052673	-0.02164	0.052673	PM1yr
X 値 4	42.91466	17.91572	2.395364	0.024415	6.016545	79.81277	6.016545	79.81277	PM1mo
X 値 5	190.2531	73.92518	2.57359	0.016381	38.00133	342.5049	38.00133	342.5049	PM1day
X 値 6	7.952218	35.99166	0.220946	0.826929	-66.174	82.07844	-66.174	82.07844	NO21yr
X 値 7	3.379045	51.97445	0.065014	0.94868	-103.664	110.4224	-103.664	110.4224	NO21mo
X 値 8	20.1344	38.56271	0.522121	0.606182	-59.287	99.55579	-59.287	99.55579	NO21day
X 値 9	-49.1144	22.73533	-2.16027	0.040536	-95.9387	-2.29009	-95.9387	-2.29009	

図 19 中等症以上のぜん息患者群における EBC 中 IL-1RA に関する重回帰解析
9 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 ヶ月間および 1 年間の平均の PM10 濃度であった。直前の NO₂ 濃度も有意であった。

マーカー	IL-8								
回帰統計									
重相関 R	0.430554								
重決定 R2	0.185377								
補正 R2	-0.10789								
標準誤差	4.271776								
観測数	35								
分散分析表									
	自由度	変動	分散	用された分母	有意 F				
回帰	9	103.8139	11.53488	0.632115	0.75898				
残差	25	456.2017	18.24807						
合計	34	560.0156							
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%	
切片	-9.67828	9.13083	-1.05996	0.299298	-28.4836	9.127017	-28.4836	9.127017	距離
X 値 1	0.000594	0.001732	0.34321	0.73431	-0.00297	0.004162	-0.00297	0.004162	性別1男
X 値 2	-0.26843	1.844831	-0.14551	0.885479	-4.06793	3.531068	-4.06793	3.531068	年齢
X 値 3	0.051738	0.061583	0.840134	0.408797	-0.07509	0.178571	-0.07509	0.178571	PM1yr
X 値 4	73.85509	61.15602	1.20765	0.238483	-52.0981	199.8083	-52.0981	199.8083	PM1mo
X 値 5	352.4309	252.3466	1.396615	0.174806	-167.287	872.1485	-167.287	872.1485	PM1day
X 値 6	115.6589	122.859	0.941395	0.355511	-137.374	368.6917	-137.374	368.6917	NO21yr
X 値 7	-71.841	177.4169	-0.40493	0.688975	-437.238	293.5559	-437.238	293.5559	NO21mo
X 値 8	-8.76164	131.6354	-0.06656	0.947461	-279.87	262.3465	-279.87	262.3465	NO21day
X 値 9	-27.2221	77.60798	-0.35076	0.728704	-187.059	132.6145	-187.059	132.6145	

図 20 中等症以上のぜん息患者群における EBC 中 IL-8 に関する重回帰解析
9 項目の説明変数のうち有意であったのものはなかった

マーカー	EGF									
回帰統計										
重相関 R	0.574581									
重決定 R2	0.330143									
補正 R2	0.088994									
標準誤差	1.634352									
観測数	35									
分散分析表										
	自由度	変動	分散	用された分母	有意 F					
回帰	9	32.91172	3.656858	1.369043	0.253917					
残差	25	66.77763	2.671105							
合計	34	99.68935								
	係数	標準誤差	t	P-値	下限 95%	上限 95%	下限 95.0%	上限 95.0%		
切片	-5.04469	3.493392	-1.44407	0.161137	-12.2395	2.150086	-12.2395	2.150086	距離	
X 値 1	0.000743	0.000663	1.121687	0.272654	-0.00062	0.002108	-0.00062	0.002108	性別1男	
X 値 2	-0.26768	0.70582	-0.37925	0.707705	-1.72134	1.185981	-1.72134	1.185981	年齢	
X 値 3	0.017367	0.023561	0.737087	0.467931	-0.03116	0.065892	-0.03116	0.065892	PM1yr	
X 値 4	54.41878	23.39787	2.325801	0.028435	6.229967	102.6076	6.229967	102.6076	PM1mo	
X 値 5	155.9687	96.54605	1.615485	0.118757	-42.8716	354.8091	-42.8716	354.8091	PM1day	
X 値 6	-12.7047	47.005	-0.27028	0.78916	-109.513	84.1039	-109.513	84.1039	NO21yr	
X 値 7	43.13787	67.87846	0.635516	0.530866	-96.6604	182.9362	-96.6604	182.9362	NO21mo	
X 値 8	-4.67493	50.36278	-0.09283	0.926782	-108.399	99.04916	-108.399	99.04916	NO21day	
X 値 9	-41.9661	29.69227	-1.41337	0.169878	-103.119	19.18623	-103.119	19.18623		

図 21 中等症以上のぜん息患者群における EBC 中 EGF に関する重回帰解析
9 項目の説明変数のうち有意であったのは 1 ヶ月間の PM10 平均値であった

以上のように、中等症持続型以上の重症度のぜん息患者群でのサブ解析では、単回帰分析に一致して、主に 1 ヶ月間の PM10 平均値が有意な相関因子として浮かび上がってきた。

以上のように、ぜん息群の全体解析では重回帰解析で有意だった因子が、NO₂ と PM10 であったのに対して、中等症以上のぜん息群で同様の重回帰解析を行った結果は、VEGF, FGF, IL-1RA, および EGF において、PM10 の 1 か月間の平均値が有意であった。この所見は、昨年度の単回帰解析の結果とも対応しており興味深い。

4. 第 8 期環境保健調査研究の総括

(1) 第 8 期環境保健調査研究における各年度の目標（計画）

【平成 21 年度】

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、大規模コホート調査により、ぜん息の発症や増悪への影響が示されてきた。しかし、これらの研究成果を実際の健康被害対策に生かすためには、個人の気道局所の炎症病態との関連性を明らかにする必要がある。そこで、今回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。

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、間質性肺炎および健常人。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、高感度ELISA法を主に用いる。採取と再現性、サンプルでの炎症分子マーカーの測定に関する初期的な検討を行った。

【平成22年度】

1) 研究の対象及び規模：各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70例を目標とする。

2) 研究方法

＊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、循環系イベントの発症の有無も調査する。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、高感度ELISA法を主に用いる。

＊解析項目：各群における分子マーカーの比較、それぞれの種々の内的外的要因との関連に加え、公開されている地域別大気汚染データや幹線道路からの距離と各マーカーの関連を統計学的に解析する。今まで検討してきた各種マーカーについて、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。

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。

【平成23年度】

1) 研究の対象及び規模

前年度に引き続き、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4医療施設で各群計200例を目標とする。

2) 研究方法

＊調査項目：前年度同様、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。

＊解析項目：前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。

前年度に引き続き、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

び健康人の3群について、解析を進め、各分子マーカーへの大気汚染物質の寄与について重回帰分析を行う。

(2) 第8期環境保健調査研究における研究成果

【平成21年度】

各種臨床病態との関連や幹線道路からの距離との関連、もっとも近傍の大気汚染測定データとの関連性を検討した。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。その結果、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康群とぜん息群の間に位置することが多かった。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気道炎症マーカーの上昇が認められた。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。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。

【平成22年度】

ぜん息群においては、PM10との相関では、EBC中の分子マーカーと最近1ヶ月平均測定値や年平均値と有意な相関を認めるものがあつた。NO₂との相関では、最近1年間の測定値とEBC VEGF、bFGFなどとの間に有意な相関を認めた。また、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ものの、EBC中pHと幹線道路までの直線距離との間には有意な負の相関関係が認められた。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。さらに、平成22年度において、中等症以上のぜん息群を対象に同様のサブ解析を行い、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。一方、「潜在的なぜん息発症例」を含むと思われる「未発症群」においては、両年度ともに、EBC中の個人の炎症マーカーと種々の大気汚染物質の濃度あるいは幹線道路までの距離との間に有意な相関の傾向が認められなかった。

【平成23年度】

川崎市においてはPM10に関して、測定前1ヶ月間の平均値の大気汚染データとEBC VEGF、HGF、bFGF、IL-1RA、IL-8、EGF濃度のいずれとも弱いものの有意な相関関係を認めた。

また、これまで集積したデータをもとに、EBC中のバイオマーカーを規定する因子を、重回帰解析により検討した。その結果、EBC中VEGFに関する重回帰解析で有意であったのは1年間のNO₂測定平均値であった。EBC中HGFに関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間と1年間のNO₂測定平均値であった。EBC中bFGFに関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間と1年間のNO₂測定平均値であった。EBC中IL-1RAに関する重回帰解析では有意であったものはなかった。EBC中IL-8に関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間のPM10測定平均値であった。EBC中EGFに関する重回帰解析で有意であったのは1ヶ月間のPM10測定平均値であった。EBC中pHに関する重回帰解析で有意であったのは幹線道路までの距離であった。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。これはEBC pHという迅速性に富み測定も簡便な検査である個人の気道バイオマーカーとして有望であることを示唆する新しい知見であると考えられる。

5. 期待される活用の方向性

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した。EBCは採取も容易で再現性もあり、その微量分析によって得られる各種分子マーカーやpHは個人の気道炎症の指標として有用である。大気汚染データとの有意に相関し、その寄与因子であることが明らかにされた。高感受性群の抽出に応用できれば、ぜん息などのアレルギー疾患の発症予知や一次予防の指標として用いることができると期待される。

しかし、本研究にはいくつかの問題点も指摘される。すなわち、現在の大気汚染モニタリングではDEPのよい代替指標とされるPM2.5がほとんど測定されておらず、ぜん息気道炎症病態との直接的な相関解析が不可能であることである。川崎市での予備的検討ではPM2.5とPM10との間に良好な相関を認めたものの将来の課題としたい。また、主任研究者の異動に伴い、主たる測定解析場所を川崎市と東京都三鷹市の2か所に増やしたものの、後者の汚染状況は低濃度であり、ぜん息気道炎症との相関は認めなかった。本文には示せなかったが、三鷹地区のEBCマーカーと川崎市の全体との比較では、前者で有意にEBCのマーカーが低かった。今後症例数

を増やすことで、さらに大気汚染地区の健康被害を EBC の分子マーカーや PH 測定で評価することの有用性を明らかにできると推定され、喘息予備軍の患者をスクリーニングすることにも応用が可能で、健診等における活用が期待される。

【学会発表・論文】

学会発表：

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の臨床的意義。アレルギー (0021-4884) 59 巻 3-4 Page389 (2010. 04)

4. H. Takizawa et al.: Airway Inflammatory Markers In Patients With Asthma Are Correlated With Air Pollution
2012 ATS International Conference in San Francisco, California, USA

[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.
9. Takizawa H.
Recent development of drug delivery systems for the treatment of asthma and related disorders.
Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 2009 Nov;3(3):232-9. Review.
10. Hajime Takizawa: Impact of Air Pollution on Allergic Diseases. *Korean J Intern Med* 2011;26:262-273.