

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08178

研究課題名（和文）超微小粒子PM0.1の呼吸器疾患へ与える影響の解析

研究課題名（英文）Analysis of the effect of nanoparticles to the respiratory system

研究代表者

西村 善博（NISHIMURA, Yoshihiro）

神戸大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：20291453

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：工場などから排出される煤塵や、ディーゼル排気に含まれる粒子状物質（Particulate Matter; PM）、特に粒径が $2.5\ \mu\text{m}$ 以下の微小粒子（PM_{2.5}）は生体へ曝露された際に、喘息や気管支炎の増悪リスクになることが知られている。近年ではPM_{2.5}より微細な、粒径が $0.1\ \mu\text{m}$ 以下の「ナノ粒子（PM_{0.1}）」の生体への影響が注目されているが、喘息増悪、難治化における役割は不明である。本検討からは、東京都心におけるPM_{0.1}は喘息の悪化やステロイド抵抗性に関与しない可能性が示唆されたが、今回使用したPM_{0.1}の成分解析や、PM_{0.1}の投与経路、投与量に関する更なる検証が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PM_{0.1}のような超微小粒子（ultrafine particles）は、喘息患者における気道炎症を増悪させる可能性があることが、これまでの動物実験から分かっている（Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2010;299:L374-83）。本研究はPM_{0.1}が引き起こす局所や全身への影響を詳細な分子機構とともに明らかにする世界初の研究として位置づけられるとともに、公衆健康被害予防法の開発にもつながる社会的にも重要な研究と考えられる。

研究成果の概要（英文）：Dust emitted from factories and particulate matter (Particulate Matter; PM) contained in diesel exhaust, especially fine particles with a particle size of $2.5\ \mu\text{m}$ or less (PM_{2.5}), cause asthma when exposed to living organisms. It is known to be at risk of exacerbation of bronchitis. In recent years, the effects of nanoparticles (PM_{0.1}) with a particle size of $0.1\ \mu\text{m}$ or less on living organisms have been attracting attention, but their role in asthma exacerbation and intractability is unknown. From this study, it was suggested that PM_{0.1} in central Tokyo may not be involved in worsening asthma or steroid resistance, but the component analysis of PM_{0.1} used this time, the route of administration of PM_{0.1}, and the dose need further study.

研究分野：呼吸器内科

キーワード：ナノ粒子 気管支喘息

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大気汚染物質である粒子状物質 (Particulate Matter; PM) は大気中において数 nm から数十 μm までの広い粒径範囲に分布しており、中でも 50%カットオフ粒径で 2.5 μm 以下の粒子を $\text{PM}_{2.5}$ として分類している。 $\text{PM}_{2.5}$ は発生源から直接排出される一次粒子と、大気中の光化学反応等によりガス成分 (揮発性有機化合物、窒素酸化物、硫黄酸化物) から生成される二次粒子に分類される。また、発生源には、黄砂や火山排出物などの自然起源のもの、ディーゼル車や工場、さらには家庭の厨房や暖房といった人為起源のものに分類されるが、 $\text{PM}_{2.5}$ の大部分はディーゼル排気微粒子 (Diesel Exhaust Particles; DEP) である。

$\text{PM}_{2.5}$ に関して、気管支喘息をはじめアレルギー疾患患者への健康の影響が調査研究され、病状の増悪に関わることが示されている。 $\text{PM}_{2.5}$ への短期曝露は喘息発作の増悪と関係しており、特に幼少期における喘息への感作と関係していること、さらに $\text{PM}_{2.5}$ への長期曝露は喘息のコントロールや呼吸機能の低下と関係していることなどが報告されている (Guarnieri M. et al, Lancet, 2014)。そこで、 $\text{PM}_{2.5}$ の健康への影響が懸念され、欧米諸国では、独立の項目として環境目標値が設定されており、日本においても平成 21 年 9 月に $\text{PM}_{2.5}$ に関して環境基準が設定された。

一方、50%カットオフ粒径で 0.1 μm 以下の粒子の超微小粒子は $\text{PM}_{0.1}$ と定義される。 $\text{PM}_{0.1}$ と $\text{PM}_{2.5}$ を同じ質量で比較すると、粒径が 2.5 μm 以下の微小粒子に対して、0.02 μm の超微小粒子の場合、個数で 240 万倍、表面積で 120 倍以上になると報告されており (Oberdorster G. et al, Inhal Toxicol, 1995)、同じ質量濃度であれば、 $\text{PM}_{2.5}$ より $\text{PM}_{0.1}$ の方がより高い有害性を示すと考えられる。実際、粒径が小さくなるほど粒子質量当たりの成分濃度が増加し、その毒性が増強されること (Kawanaka Y. et al, J Health Sci, 2006)、粒径 1 μm 以下の微小粒子の多くが肺胞まで到達し、さらに $\text{PM}_{0.1}$ になると、慣性力の働きが弱くなるために容易に肺胞まで到達するだけでなく、その一部が貪飲作用により直接肺胞上皮細胞に入り込むこと (Ferin J. et al, Am J Respir Cell Mol Biol, 1992)、さらに、肺胞毛細血管から吸収され、二次的に循環器疾患などの慢性疾患を引き起こすことが報告されている (Ibald-Mulli A. et al, Am J Public Health, 2001)。しかしながら、 $\text{PM}_{0.1}$ と気管支喘息との関係は明らかではない。

2. 研究の目的

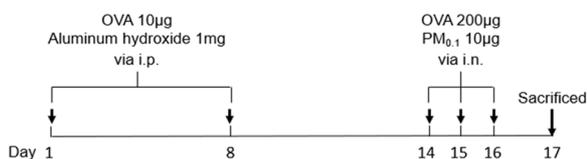
本研究の目的は、 $\text{PM}_{0.1}$ の呼吸器疾患増悪への関与を明らかにすること、 $\text{PM}_{0.1}$ が呼吸器疾患の増悪を引き起こす分子生物学的機序を明らかにすること、大気汚染物質が引き起こす呼吸器疾患の増悪に対する治療法を確立すること、公害健康被害予防法の開発にもつなげる環境汚染物質の排出基準を明らかにすることである。

3. 研究の方法

まず、早稲田大学の島田幸治郎助教の協力のもと、大気中の PM の飛散量測定・成分解析を行う。次に、喘息病態モデルマウスを用いて、大気中の PM を用いた細胞実験モデルならびに PM 曝露動物モデルを樹立し、その遺伝子発現とその発現制御機構への影響、気道炎症の増悪について明らかにする。また、PM の気道局所と全身へ与える影響を遺伝子発現レベルの変化をもとに明らかにする。

実験1

$\text{PM}_{0.1}$ が喘息の悪化に及ぼす影響についての検証



OVA群、PBS群では、Day14-16にOVAなし
PBS (リン酸緩衝生理食塩水) のみを経鼻投与
(各群3匹)

OVA, ovalbumin

実験2

$\text{PM}_{0.1}$ が喘息のステロイド抵抗性に及ぼす影響についての検証

$\text{PM}_{0.1}$ 群、OVA群で、Day14-16の経鼻投与1時間前に
デキサメタゾン20 μg を腹腔投与
(各群3匹)

1. 東京都の大気中微粒子 $\text{PM}_{2.5}$ 、 $\text{PM}_{0.1}$ の測定

PM の分級サンプリングが可能なナノサンプラー (Model 3182, Kanomax) を用いて、早稲田大学キャンパスにおいて $\text{PM}_{2.5}$ と $\text{PM}_{0.1}$ を月ごとに計測とサンプリングを行う。

2. $\text{PM}_{0.1}$ 曝露マウスモデルの作成と解析

生後6週のマスのBALB/cマウスを使用し、喘息モデルの作成および $\text{PM}_{0.1}$ の経鼻投与を行った (実験1)。また、経鼻投与1時間前にステロイドを腹腔注射する実験も行った (実験2)。それぞれ、気管支肺胞洗浄液中の細胞の解析を行った。

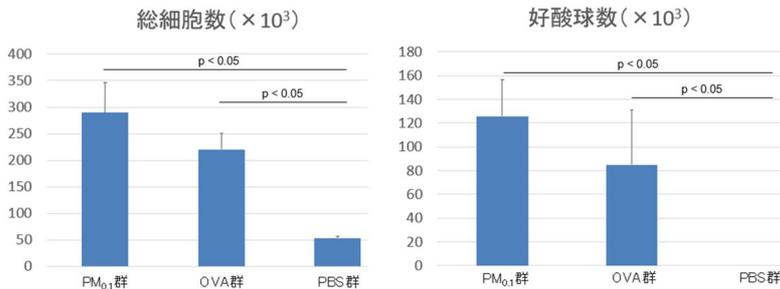
4. 研究成果

1. サンプルング結果

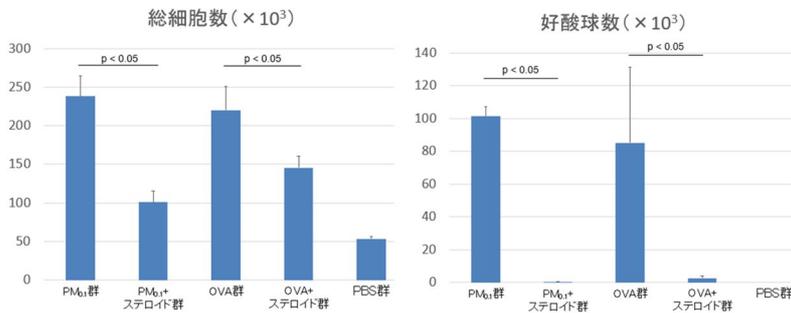
ナノサンプラー (KANOMAX JAPAN Inc.) を使用し、2019年2月に東京都新宿区において5日間で計640.5 μg のPM_{0.1}を回収した。

2. マウス曝露モデル

まず卵白アルブミン(OVA)誘導性の喘息モデルを作成し、PM_{0.1}投与群と非投与群(OVA群)で気管支肺胞洗浄液中の総細胞数と好酸球数の間で有意差を認めなかった。



また、経鼻投与1時間前にステロイドを腹腔注射を行ったが、ステロイドに対する反応性にも群間差を認めなかった。



PM_{0.1}のような超微小粒子 (ultrafine particles) は、喘息患者における気道炎症を増悪させる可能性があることが、これまでの動物実験から分かっている (Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2010;299:L374-83)。しかし、日本において、PM_{0.1}が生体に及ぼす影響について検討した研究はこれまでなく、今回、東京都心に浮遊するPM_{0.1}が喘息に及ぼす影響について検討した。本検討からは、東京都心におけるPM_{0.1}は喘息の悪化やステロイド抵抗性に関与しない可能性が示唆されたが、今回使用したPM_{0.1}の成分解析や、PM_{0.1}の投与経路、投与量に関する更なる検証が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大歳丈博、永野達也、山本正嗣、羽間大祐、桂田直子、立原素子、小林和幸、西村善博
2. 発表標題 PMO.1のマウス喘息モデルへの影響に関する検討
3. 学会等名 第1回 日本喘息学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山本 正嗣 (YAMAMOTO Masatsugu) (40542139)	神戸大学・医学部附属病院・助教 (14501)	
研究分担者	小林 和幸 (KOBAYASHI Kazuyuki) (50403275)	神戸大学・医学部附属病院・特命教授 (14501)	
研究分担者	永野 達也 (NAGANO Tatsuya) (80624684)	神戸大学・医学研究科・助教 (14501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------