

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H01622

研究課題名（和文）環境塵中の界面活性剤がアレルギー疾患の発症へ与える影響の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the effects of surfactants in environmental dust on the development of allergic diseases

研究代表者

森田 英明（Morita, Hideaki）

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・免疫アレルギー・感染研究部・室長

研究者番号：90365320

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：家庭用合成洗剤をマウスに吸入させると、喘息様好酸球性気道炎症が誘導されることを見出した。また、合成洗剤の含有成分のうち、界面活性剤が好酸球性気道炎症の誘導に関与していることを見出した。合成洗剤が気道上皮細胞におけるIL-33の発現増強を誘導すること、IL-33が2型自然リンパ球（ILC2）を活性化し2型サイトカインの産生誘導することにより、好酸球性気道炎症が惹起されることを見出した。更に、生活環境中における界面活性剤の存在を検討するため、家屋内の種々の場所から細塵を採取し、塵中の界面活性剤の濃度を測定したところ、収集できたすべての塵の中から一定度の界面活性剤の活性が検出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近代化に伴いアレルギー疾患の患者数が増加した理由として、衛生的な環境となったことにより幼少期に微生物への曝露が減少したことが原因とする衛生仮説が広く知られている。一方で近年、人間の体が外界と接する部分に存在する細胞（上皮細胞）のバリア機能が、外的/内的要因を含む何かしらの要因で障害されることがアレルギー疾患の発症につながるという「上皮バリア仮説」が提唱されている。本研究は、環境中に存在する合成洗剤を始めとする界面活性剤が、上皮細胞の破壊を介して喘息様気道炎症を誘導することを世界で初めて明らかにした研究であり、この上皮バリア仮説を裏付ける結果となり、非常に大きな学術的、社会的意義を有している。

研究成果の概要（英文）：We found that asthma-like eosinophilic airway inflammation was induced by inhalation of laundry detergents in mice. In addition, among the ingredients contained in synthetic detergents, surfactants were involved in the induction of eosinophilic airway inflammation. Laundry detergents induced IL-33 expression in airway epithelial cells, and IL-33 activated type 2 innate lymphocytes (ILC2) to produce type 2 cytokines, resulting in eosinophilic airway inflammation. Furthermore, in order to investigate the presence of surfactants in the living environment, fine dust was collected from various places in the house and the activity of surfactants in the dust was measured. As a result, we found that a certain degree of surfactant activity was detected from all the fine dust collected.

研究分野：免疫アレルギー

キーワード：界面活性剤 気管支喘息 環境塵

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、先進諸国において、アレルギー疾患患者数が増加しており大きな社会問題となっている。一旦発症したアレルギー疾患を根治させることは困難であり、疾患発症の詳細な分子メカニズムの理解に基づく、より効果的な発症予防法の開発が求められている。疫学研究から衛生的な環境になったことがアレルギー疾患数の増加に繋がっている可能性が示唆されているが、そのメカニズムは不明な点が多い。衛生的な環境を作り出す契機一つとして合成洗剤の一般家庭への普及が挙げられるが、興味深いことに、気管支喘息をはじめとしたアレルギー疾患の有病率の増加はこの合成洗剤が爆発的に普及した時期と一致している。これらの事実は、合成洗剤への曝露がアレルギーの発症につながる可能性を示唆しているが、そのメカニズムは全く明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では、合成洗剤をはじめとする界面活性剤への曝露がアレルギー炎症を誘導するメカニズムを明らかにすると共に、生活環境塵中における界面活性剤の有無を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 合成洗剤および界面活性剤によるアレルギー性炎症惹起機構の解明

家庭用合成洗剤をマウスに経気道的に吸入した後、気道炎症の程度を評価した。また、合成洗剤に含まれる成分のうち界面活性剤に着目し、各種合成界面活性剤(陰イオン性界面活性剤(ラウリル硫酸ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム)、陽イオン性界面活性剤(塩化ベンザルコニウム))をマウスに経気道的に吸入した後、気道炎症の程度を評価した。

気道炎症の評価には、以下の手法を用いて行いた。

肺の病理像解析 (H&E、PAS 等)

気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞 (血球測定装置)

更に、界面活性剤による気道炎症惹起のメカニズムを明らかにするため、気管支肺胞洗浄液、肺のサイトカイン測定、肺組織での遺伝子発現変化解析 (Real-time PCR) および、肺における免疫細胞の組成についてフローサイトメトリーを用いて解析した。

また、合成洗剤、界面活性剤のヒト気道への影響を調べるため、ヒト初代気道上皮培養細胞を用いて、その影響を検討した。

(2) 環境塵中の界面活性剤の有無の検討

家屋内の種々の場所から細塵を採取し、塵中の界面活性剤の活性を測定した。具体的には研究参加同意を得たボランティアの家庭内の種々の場所(リビングの床、ベッド(または布団)、ソファ(またはクッション)、洗面所/脱衣所)から掃除機を用いて細塵を収集し、粉塵中に存在する界面活性剤の活性を臨界ミセル濃度(critical micelle concentration: CMC)を用いて測定した。尚、本研究は国立成育医療研究センター倫理審査委員会の承認を得て行われた(承認番号2020-004)。

4. 研究成果

マウスに家庭用合成洗剤(洗濯用洗剤)を吸入させると、肺において気道に高度な炎症細胞浸潤と粘液産生増多が誘導されることを明らかにした(図1A)。合成洗剤による気道上皮バリア機能に対する影響を検討するため、バリア機能において重要な役割を担うタイトジャンクションの構成因子の一つであるZO-1の発現量を測定した。その結果、洗剤を吸入させたマウスでは、PBSを吸入させたマウスと比較して、ZO-1の発現量が低くなることを見出した(図1B)。また、気管支肺胞洗浄液中の免疫細胞数を検討したところ、洗剤を吸入したマウスでは、気管支肺胞洗浄液中の総白血球数、好酸球数、好中球数が有意に増加することを明らかにした(図1C)。

家庭用合成洗剤にはさまざまな成分が含まれるが、その中でも界面活性剤に着目し、界面活性剤による気道への影響を検討した。具体的には、陰イオン性界面活性剤(ラウリル硫酸ナトリウム、ドデシル硫酸ナトリウム)及び陽イオン性界面活性剤(塩化ベンザルコニウム)をマウスに吸入させ、気道炎症の程度を評価した。その結果、陰イオン性界面活性剤および陽イオン性界面活性剤の両方とも、好酸球性気道炎症を誘導することも明らかにした。

これらの事実から、家庭用合成洗剤(洗濯用洗剤)を吸入させると喘息様好酸球性気道炎症が誘導されること、また洗剤成分の中でも界面活性剤がその誘導に関与している可能性が明らかと

なった。

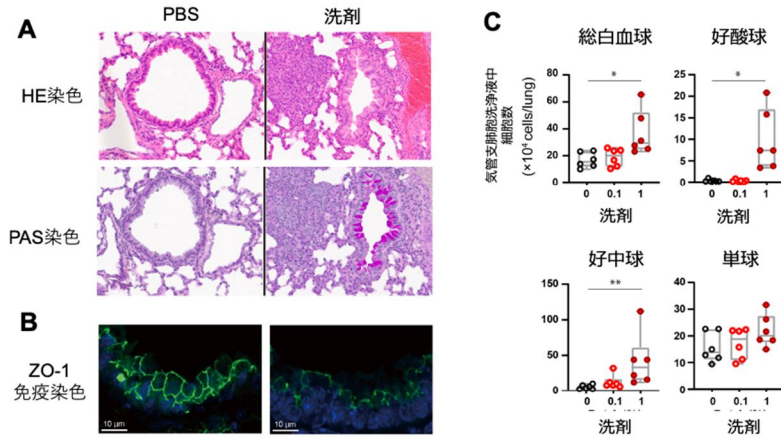


図 1：合成洗剤の経気道的吸入が気道に及ぼす影響

次に、家庭用合成洗剤による好酸球性気道炎症に関与する分子を明らかにするため、合成洗剤または PBS を吸入した後に、気管支肺胞洗浄液を採取し、洗浄液中の 2 型サイトカインの濃度を測定した。その結果、合成洗剤を吸入したマウスでは、気管支肺胞洗浄液中において 2 型サイトカイン (IL-5, IL-13) が増加していることを明らかにした (図 2A)。IL-5 を産生する細胞を検討したところ、合成洗剤の吸入により 2 型自然リンパ球 (ILC2) が IL-5 を大量に産生することを明らかにした (図 2B)。合成洗剤による好酸球性気道炎症に ILC2 が関与するかどうかを明らかにするため、T 細胞、B 細胞、ILC が欠損している *Rag2^{-/-}Il2rg^{-/-}* マウス、T 細胞、B 細胞が欠損している *Rag2^{-/-}* マウスに合成洗剤を吸入し、気道炎症の程度を評価した。その結果、合成洗剤によって誘導される好酸球浸潤は、*Rag2^{-/-}* マウスでは野生型と比較して同等に誘導されるのに対して、*Rag2^{-/-}Il2rg^{-/-}* マウスでは全く誘導されないことを明らかにした (図 2C)。またその際、気管支肺胞洗浄液中の IL-5 の濃度も、*Rag2^{-/-}* マウスでは野生型と比較して同等に検出されるのに対して、*Rag2^{-/-}Il2rg^{-/-}* マウスではほとんど検出されないことを明らかにした (図 2D)。

これらの事実から、家庭用合成洗剤による好酸球性気道炎症には、ILC2 の活性化と、2 型サイトカインの産生が関与している可能性が明らかとなった。

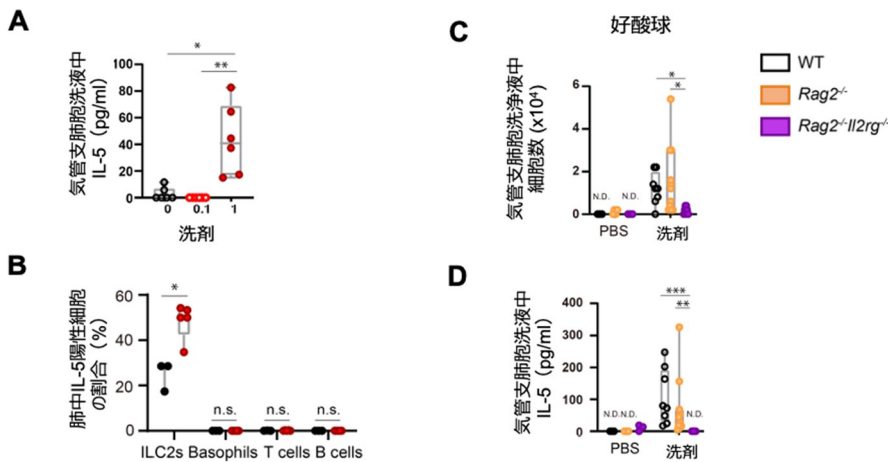


図 2：合成洗剤による好酸球性気道炎症における ILC2 の役割

次に、家庭用合成洗剤を吸入させることで、ILC2 が活性化されるメカニズムを明らかにするため、家庭用合成洗剤を吸入したマウスの肺におけるサイトカイン発現を検討した。その結果、家庭用合成洗剤を吸入させたマウスでは、肺胞上皮細胞における IL-33 の発現が増強していることを見出した (図 3A)。また、ヒト気道上皮培養細胞を家庭用合成洗剤で刺激培養したところ、家庭用合成洗剤で刺激すると IL-33 の発現が有意に増強することを見出した (図 3B)。更に、家庭用合成洗剤による好酸球性気道炎症は、IL-33 欠損マウスでは全く誘導されないことも見出した。IL-33 は ILC2 を活性化して 2 型サイトカインの産生増強を誘導することが知られていることから、家庭用合成洗剤による好酸球性気道炎症には、気道上皮細胞における IL-33 の発現増強が関与している可能性が示唆された。

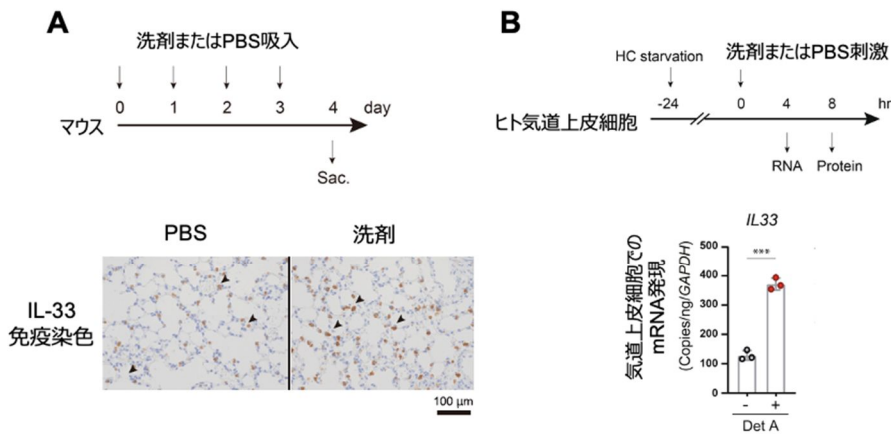


図3：合成洗剤が気道上皮細胞に及ぼす影響

人の生活環境中における界面活性剤の存在を明らかにするため、研究参加同意を得たボランティアの家庭内の種々の場所(リビングの床、ベッド(または布団)、ソファ(またはクッション)、洗面所/脱衣所)から掃除機を用いて細塵を収集し、粉塵中に存在する界面活性剤の活性を臨界ミセル濃度(critical micelle concentration: CMC)を用いて測定した(図4A)。その結果、収集できた全ての細塵から、一定度の界面活性剤活性が検出された。その活性は、洗面所/脱衣所よりも、リビングの床やベッド(または布団)、ソファ(またはクッション)などで多いことを見出した(図4B)。また、界面活性剤の活性量は、家庭ごとに有意に異なることも明らかにした(図4C)。

生活環境中に一定度の界面活性剤が存在している事実から、日常生活の中で埃と共に界面活性剤に経気道的に曝露される可能性があることが示唆された。

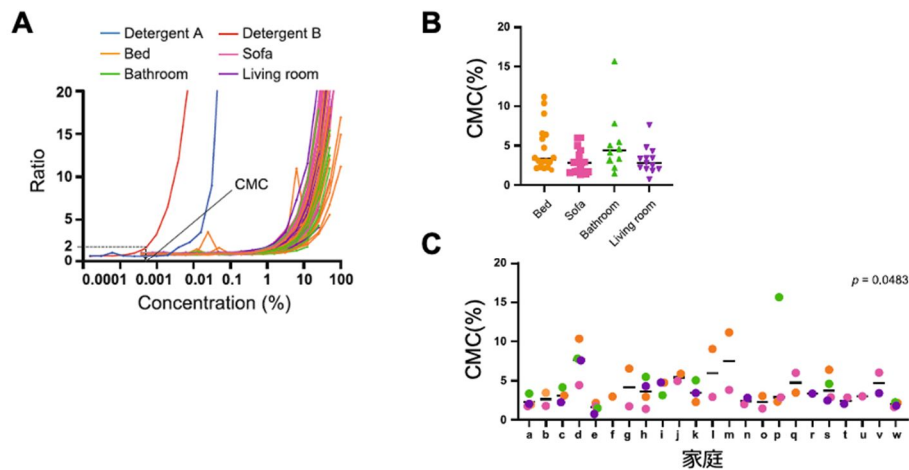


図4：生活環境塵中における界面活性剤の存在

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hideaki Morita, Hirohisa Saito, Kenji Matsumoto	4. 巻 149
2. 論文標題 Immune checkpoint molecules on ILC2s as potential therapeutic targets for allergic diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 60-62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jaci.2021.10.021.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tadech Boonpiyathad, Mongkol Lao-Araya, Chirawat Chiewchalernsri, Sasipa Sangkanjanavanich, Hideaki Morita	4. 巻 -
2. 論文標題 Allergic Rhinitis: What Do We Know About Allergen-Specific Immunotherapy?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontier Allergy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/falgy.2021.747323.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Keisuke Orimo, Masato Tamari, Hirohisa Saito, Kenji Matsumoto, Susumu Nakae, Hideaki Morita	4. 巻 76
2. 論文標題 Characteristics of tissue-resident ILCs and their potential as therapeutic targets in mucosal and skin inflammatory diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 3332-3348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/all.14863.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saito K, Orimo K, Kubo T, Tamari M, Yamada A, Motomura K, Sugiyama H, Matsuoka R, Nagano N, Hayashi Y, Arae K, Hara M, Ikutani M, Fukuie T, Sudo K, Matsuda A, Ohya Y, Fujieda S, Saito H, Nakae S, Matsumoto K, Akdis CA, Morita H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Laundry detergents and surfactants induced eosinophilic airway inflammation by increasing IL-33 expression and activating ILC2s	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/all.15762.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 森田英明、斎藤博久、松本健治
2. 発表標題 乳児期の免疫機構とアレルギー疾患発症予防戦略
3. 学会等名 第70回日本アレルギー学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hideaki Morita, Kenji Matsumoto
2. 発表標題 Environmental factors trigger allergic inflammation through disruption/activation of epithelial cells
3. 学会等名 The 51st Annual Meeting of The Japanese Society of Immunology（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hideaki Morita
2. 発表標題 Role of innate immunity in allergic diseases
3. 学会等名 Asia Pacific Academy of Pediatric Allergy, Respiratory&Immunology 2022（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hideaki Morita
2. 発表標題 Inhaled laundry detergents induce eosinophilic airway inflammation through IL-33 and ILC2 activation
3. 学会等名 EAACI Summer Symposium on Epithelial Barriers and Microbiome（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022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	大矢 幸弘 (Ohya Yukihiro) (80392512)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・アレルギーセンター・センター長 (82612)	

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		
スイス	SIAF, University of Zurich		