

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月21日現在

機関番号：320707

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2012

課題番号：21390194

研究課題名（和文） わが国で捕集される黄砂がラット呼吸器に及ぼす影響と付着成分との関連に関する研究

研究課題名（英文） Studies on health effects of the yellow dust collected in Japan, with special reference to relationship between histological changes in the respiratory tract of rats and absorbed pollutants.

研究代表者

安達 修一（ADACHI SHUICHI）

相模女子大学・栄養科学部・教授

研究者番号：90129148

研究成果の概要（和文）：日本へ飛来する黄砂粒子について、成分の化学分析、肺に沈着した時の生物学的影響などを調べた。その結果、大阪と韓国ソウルで集めた黄砂粒子から大気汚染物質が検出され、飛来する過程で都市や工業地帯の汚染物質を付着したと考えられる。肺に入った時の影響は、汚染のない黄砂粒子に比べて強く、付着した成分が健康影響を及ぼすことを予測させる結果である。黄砂粒子に含まれる発がん物質の量は、これだけで肺がんを発生するとは考えにくい量であるものの、要因の一つになることが考えられ、今後検討すべき課題である。

研究成果の概要（英文）：Biological effects of the yellow dust were evaluated by chemical analysis, superoxide generation activity and histological changes of rat lung tissue. Results indicated the importance of adsorbed pollutants on the yellow dust on these biological indices. Detected amount of carcinogens in the yellow dust samples was far low to induce lung cancer alone. It should be clarify that the synergetic or additive effect of the yellow dust on the lung carcinogenesis and other diseases related to PM2.5 exposure.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2010年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2011年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2012年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
総計	12,500,000	3,750,000	16,250,000

研究分野：衛生学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：大気汚染、黄砂、癌、ぜんそく、環境

1. 研究開始当初の背景

近年、黄砂の日本への飛来量、飛来回数が年々増加し、その健康影響が重要な問題となっている。飛来量の増加は、中国北西部や黄河流域を中心とした過放牧や耕地拡大などによる砂漠化進行が原因と考えられている。また、黄砂は長距離移動中に周囲のガスやエ

アロゾルとの反応場として振る舞うことが知られており、かつ、中国の経済成長に伴う大気汚染が日本など中国以外の国に飛来することから、黄砂は汚染物質の集積体となっている可能性がある。

黄砂の生体影響に関する研究は、近年日本や韓国で着手され、黄砂発生地は砂漠から

10 μm 以下の砂を採取し経気道的に実験動物に投与し、気道炎症を惹起することやアジュバント作用を発揮することなどが報告されている。但し、実際に日本に飛来した黄砂を採取し実験動物に投与することはまだ実施されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、日本に飛来する黄砂を実験動物に経気道投与し、黄砂の生体影響を調べること、かつ、黄砂に付着する大気汚染物質の生体影響への役割を検討することである。

一般的に、大気環境中の粉塵をフィルターで捕集しても、フィルターから大気粉塵を外すことは困難であり、実験動物に投与できない。また、PM_{2.5} (粒径 2.5 μm 以下の大気中の超微粒子) の濃縮曝露装置 (CAPs) や電気集塵機で捕集した粒子を用い、実験動物に大気粉塵を投与する方法もあるが、粒径が異なったり (日本に到達する黄砂粒径のピーク値は 4 μm)、捕集粒子に性質の偏り (有極性粒子) が生じたりするため、本目的には適切な捕集法ではない。この様に、一般的には日本に飛来する黄砂を捕集し実験動物に投与することは困難である。しかし、本研究では、テフロン (ポリテトラフルオロエチレン) 製のフィルターを用い大気粉塵をハイボリウムエアサンプラーで捕集し、フィルターは崩壊しないため大気粉塵の洗い出しが可能である (回収率約 70%)。つまり、*in vitro* 実験や *in vivo* 実験に大気粉塵を供給できることがわかった。今回、その方法を用い黄砂飛来日や夏期や冬季の大気粉塵を捕集し、各大気粉塵試料をラット気管内に投与し生体影響を調べる。また、各大気粉塵の成分分析やスーパーオキシド産生能などを行い、どの様な成分が *in vivo* 生体影響に強く関わるかを検討する。

3. 研究の方法

試料採取は、大阪市東成区中道で黄砂飛来期の対照となる大気粉じんを採取した。時期は、夏季として 2009 年 8 月~9 月、冬季として 2009 年 12 月~2010 年 1 月にテフロンフィルター上に捕集し保存した。黄砂は 2010 年 2 月より黄砂の飛来期として採取を開始した。黄砂飛来については、国立環境研究所および気象庁の黄砂飛来予測に基づいた。2010 年 3 月 14 日には黄砂飛来と予測されながら採取量は 30 μg であった。5 月末まで黄砂採取を継続した。黄砂飛来が日本よりも多く、同様に健康影響が懸念されている韓国、ソウル市内で 2011 年 1 月から 5 月まで、ハイボリウムエアサンプラーを使用しテフロンフィルターと分析用に石英フィルターによる採取を実施した。

スーパーオキシド測定: F344 雄ラットをネンブタール麻酔下で放血死させ、ハンク

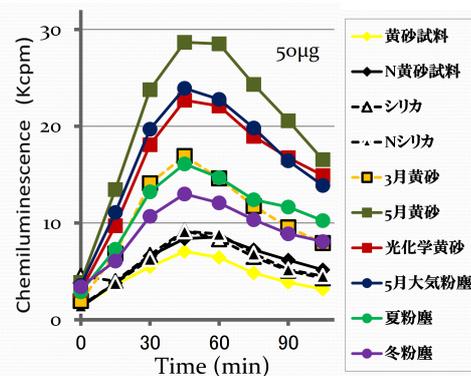
スバランスドザルツマン溶液で気管肺胞洗浄により集めた肺胞マクロファージ 1×10^5 個に対し、10%FBS、0.1mM ルシゲニン、RPMI1640 (最終量 1ml) の条件で、各試料 600、400、200、50 μg を投与し、ルミノメーター (ALOKA BLR-201) で 15 分毎に測定した。

肺内投与は、ラットへの肺内投与試料とするため、これらのフィルターから浮遊粉じんを以下の方法で回収した。テフロンフィルターを 50ml 容 PP 製遠心チューブに入れ、フットボール型攪拌子と蒸留水 (40ml) を加えて栓をし、1 分間、手で上下に強く攪拌する。フィルターは、ピンセットを使って絞り液をチューブ内へ合わせる。チューブを遠心乾燥して、試料大気粉じんとした。投与はエーテル麻酔下に試料 1.0 mg を 0.2 ml の滅菌生理食塩水に懸濁して、一定容の空気とともに肺内に注入した。

4. 研究成果

黄砂の粒径は 4 μm 付近であった。黄砂時に濃度が高かったのは、硝酸、カルシウム、ナトリウムと塩化物の各イオン。金属元素では、アルミニウム、鉄、チタンが高かった。バナジウムは、微小粒子側に偏った粒径分布がみられたが、黄砂時には粗大粒子側にもピークがあらわれた。炭素成分 (全炭素) については、顕著な影響がみられなかった。有機成分として多環芳香族炭化水素類は、黄砂飛来時にソウル市内で捕集した粒子の分析の結果、大気濃度換算で benzo(a)pyrene が 1.56 pmol/m³、2-nitrofluoranthene が 0.15 pmol/m³、1-nitropyrene が 0.28 pmol/m³ と黄砂飛来のない時期の数倍から 10 倍程度が検出された。

マクロファージのスーパーオキシド反応において、飛来黄砂は肉眼的に黒いものは大気粒子と類似の反応性だった。また、肉眼的に黒い方が少量投与の反応性が強い傾向があった。この結果は、飛来黄砂に対するマクロファージのスーパーオキシド反応は、黄砂自体より付着する大気汚染物質の影響が強く関与することを示唆する。



黄砂粒子等によるスーパーオキシド産生

それぞれ調製した大気粒子ラットに経気道肺内投与し、18ヶ月間飼育観察後に解剖、肺組織の病理組織学的な変化を比較検討した。また、解剖時に採血した血清についてIL-6、IL-8の分析を行った結果では、黄砂粒子(砂漠)に比べて、飛来した黄砂粒子や対照とした夏季および冬季の大気粒子を投与したラットで高い値であった。この結果は、スーパーオキシドの反応性と同様に、黄砂そのものよりも付着した大気汚染成分の影響が強いことを示していると考えられた。病理組織学的には、線維増殖性、気腫性病変はいずれの群においても顕著ではない。また、腫瘍性病変は、途中死亡例、18ヵ月解剖例にすべての群で認めない。また、死亡率や体重増加などに有意差を認めなかった。粉じんとして1.0 mgの投与量では、含有されるPAHが発がん量に達しなかったと考えられ、ヒトへ外挿した場合には単独で肺がんの要因とはならないものの、他の要因とともに複合的な影響を及ぼすことが考えられ、今後検討すべき課題の一つである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① M Ohyama, N Takenaka, H Bandow. Possible Link between Nitrous Acid and Asthma Induced by Fine Particles. J Clinic Toxicol. 査読有, Vol. 2. 2012. doi.org/10.4172/2161-0495.1000e107
- ② M. Ohyama, S. Akasaka, T. Otake, K. Morinaga, Y. W. Kim, K. -W. Moon, T. Kameda, S. Adachi. Effects of Atmospheric Particles and Several Model Particles of Particulate Matter Components on Human Monocyte-Derived Macrophage Oxidative Responses. J Clinic Toxicol. 査読有, Vol. 2. 2012. doi.org/10.4172/2161-0495.1000121
- ③ M Ohyama. Should the Regulation of Nitrogen Dioxide be Amended for the Regulation of Nitrous Acid? J Clinic Toxicol. 査読有, Vol. 2. 2012. doi.org/10.4172/2161-0495.1000 e103
- ④ M Ohyama, K Oka, S Adachi, N Takenaka. Histological Effect of Nitrous Acid with Secondary Products of NitrogenDioxide and Nitric Oxide Exposure on Pulmonary Tissue in Mice. J Clinic Toxicol. 査読有, Vol. 1. 2011. doi.org/10.4172/2161-0494.1000103
- ⑤ Mori T, Yoshinaga J, Suzuki K, Mizoi M, Adachi S, Tao H, Nakazato T, Li YS, Kawai K, Kasai H. Exposure to

polycyclic aromatic hydrocarbons, arsenic and environmental tobacco smoke, nutrient intake, and oxidative stress in Japanese preschool children. Sci Total Environ. 査読有, vol.409, 2011, 2881-2887. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.04.028.

- ⑥ M Ohyama, K Oka, S Adachi, N Takenaka. Effects of nitrous acid exposure on pulmonary tissues in guinea pigs. Inhalation Toxicology. 査読有, Vol. 22. 2010. 930-936

[学会発表] (計17件)

- ① 大山正幸、大阪とソウルに飛来した黄砂に対するマクロファージの活性酸素反応、黄砂に関する共同研究会(招待講演)、2013年03月07日、大阪
- ② 大山正幸、大阪と韓国に飛来した黄砂に対するマクロファージの活性酸素反応、平成24年度日本薬剤師会試験検査センター技術研修会(招待講演)、2012年12月07日、東京
- ③ 大山正幸、亜硝酸と喘息症状の関連性に関する疫学的事例調査、第53回大気環境学会、2012年09月12日、横浜
- ④ 大山正幸、環境中亜硝酸の生体影響を考える、大気環境学会、近畿支部、人体影響部会(招待講演)2012年3月13日、大阪
- ⑤ 大山正幸、モルモット肺組織に対する亜硝酸曝露の影響-透過型電子顕微鏡による量-反応関係の観察-、第52回大気環境学会、2011年9月15日、長崎
- ⑥ 大山正幸、黄砂に対するマクロファージの活性酸素反応、第52回大気環境学会、2011年9月15日、長崎
- ⑦ 永田真、平野慎悟、竹中規訓、大山正幸、定永靖宗、坂東博、パンプサンプラーによる亜硝酸の測定、第52回大気環境学会、2011年9月15日、長崎
- ⑧ 大山正幸、モルモット肺組織に対する亜硝酸曝露の影響-光学顕微鏡と電子顕微鏡による量-反応関係の観察-、第51回大気環境学会、2010年9月10日、大阪
- ⑨ 永田真、平野慎悟、竹中規訓、大山正幸、岡憲司、定永靖宗、坂東博、亜硝酸パンプサンプラーの開発、第51回大気環境学会、2010年9月9日、大阪

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安達修一 (ADACHI SHUICHI)
相模女子大学・栄養科学部・教授
研究者番号：90129148

(2) 研究分担者

大山 正幸 (OHYAMA MASAYUKI)
大阪府立公衆衛生研究所・衛生化学部・主任研究員
研究者番号：40175253

辻野 喜夫 (TSUJINO YOSHIO)
大阪府環境農林水産総合研究所・環境情報部・研究員
研究者番号：80503953

(3) 連携研究者

小田美光 (ODA YOSHIMITU)
近畿大学理工学部・シニアサイエンティスト
研究者番号：90175266

亀田貴之 (KAMEDA TAKAYUKI)
金沢大学医薬保健研究域薬学系・助教
研究者番号：50398426