

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 5月10日現在

機関番号：84407

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22659134

研究課題名（和文） 室内と屋外の亜硝酸濃度と喘息症状との関連性に関する疫学的研究

研究課題名（英文） The epidemiological research on the relationship between nitrous acid concentrations in indoor and outdoor and asthma symptoms

研究代表者

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

研究成果の概要（和文）：毎年5名の喘息症状有症者を対象に、9月から約3カ月間、週毎の室内の亜硝酸（HONO）や二酸化窒素（NO₂）やオゾン（O₃）の濃度を測定し、毎日の喘息発作や呼吸器症状を調べた。その結果、U検定ではNO₂と喘息発作との関連に有意差は無かったが、HONOと喘息発作との関連に有意差が認められた（P=0.0013）。また、測定局データを利用した多変量解析後でも、HONOと喘息発作との関連に有意差が認められた。今回の結果は、NO₂よりHONOの方が喘息発作との関連が強いことを示唆する。

研究成果の概要（英文）：Five childhood asthma provided daily information on respiratory symptoms and weekly samplers of indoor HONO, NO₂ and O₃ during about three months from September in investigated each year. In the results, a significant difference was not observed in the relationship between NO₂ and asthmatic attack by Mann-Whitney U test. However, a significant difference was observed in the relationship between HONO and asthmatic attack by Mann-Whitney U test (P=0.0013). Moreover, a significant difference was observed in the relationship between HONO and asthmatic attack by multivariate statistics using environment measurement station data. These results suggested that HONO is more correlated with asthmatic attack than NO₂.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,100,000	0	1,100,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	480,000	3,180,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学 健康科学

キーワード：疫学、喘息、亜硝酸、二酸化窒素、オゾン、大気汚染

1. 研究開始当初の背景

(1)背景：大気中 NO₂ は動物曝露実験や疫学調査で喘息との関連性が示されており、大気汚染防止法で規制されている。但し、その関連性には幾つかの矛盾がある。例えば、疫学で NO₂ の喘息影響が認められるが、動物曝

露実験では NO₂ の気道抵抗亢進影響は弱い。また、大気中 NO₂ 濃度は昼間に高く夜や朝方は低い、NO₂ 濃度と喘息症状との関連は、昼間より夜や朝方に認められる。

(2)動機：近年、大気中に HONO が存在し、NO₂ 測定で HONO も NO₂ として誤検出され

ることがわかった。NO₂ 測定値中の HONO 割合は約 10%あり、室内では HONO 濃度と NO₂ 測定値は相関する。つまり、疫学調査での室内 NO₂ 測定値と喘息との関連は、HONO が原因であるかも知れない。

また、HONO は太陽光線で OH ラジカルに分解されるため、「NO₂ 濃度と喘息症状との関連は、昼間より夜や朝方に認められる。」理由は、NO₂ ではなく HONO が喘息症状の原因なら説明がつく。

2. 研究の目的

従来、NO₂ の影響とされていた喘息症状は HONO と NO₂ とのどちらに強く関連するのかを明らかにするため、喘息症状有症者を対象として、自宅の室内や屋外で HONO 濃度や従来測定法での NO₂ 濃度を数カ月間パッシブサンプラーで測定し、HONO 濃度、従来法での NO₂ 濃度、そして、それらの差 (実際の NO₂ 濃度と見なせる値) と喘息症状との関連性を調べる。

3. 研究の方法

2006 年、2007 年に実施した大気汚染物質と喘息との関連などに関する質問紙調査 (大阪府岸和田市の 3 才 6 か月健診受診者を対象とした調査。2 年間の調査対象者は 4325 名で、回答者は 2044 名。) で喘息関連症状の有病者 336 名を対象者とし、協力依頼し、同意を得られた人から毎年 5 名を選出し、9 月～12 月の期間、室内の HONO や NO₂ 濃度と喘息関連症状などとの関連を調べる。窒素酸化物についてはパッシブサンプラーで週 1 回定期的な交換により捕集し、測定する。また、日記に喘息関連症状や暖房器具の使用などについて記入してもらう。喘息発作と室内の窒素酸化物濃度との関連性を調べ、喘息発作などにおける HONO や NO₂ の関与を検討する。また、湿度や気温や測定局の大気汚染物質濃度などのデータを用いて統計学的方法により調整する。なお、申請時の計画では、室内と屋外の HONO や NO₂ 濃度も測定し、環境汚染か室内汚染化の検討もする計画だったが、屋外の測定までするには予算不足であったため、室内測定だけに計画を変更した。

4. 研究成果

(1) 疫学調査での HONO 測定方法の検討

HONO 測定方法ではハーバード EPA 環状デニューダシステムによるアクティブ法が確立している。但し、1 定点測定のための装置器具が約 80 万円であり、大規模疫学調査で使用するには、金額的に困難である。我々は 5 定点分のそのデニューダシステムを保有していたので、毎年 5 名限定で調査を実施すると共に、調査規模を大きくした場合の HONO 測定法として、1 定点用の器具費用

が約 8 万円のニールフィルターホルダーシステム(アクティブ法)と、開発した安価なパッシブサンプラーの実用性の検討も調査協力者宅でサンプリングすることで行った。その結果、ニールフィルターホルダー法による HONO 値は、デニューダ法による HONO 値と相関性が高い家庭もあったため、ニールフィルターホルダー法の疫学調査での実用性は認められたが、相関性が低い家庭もあり、何らかの実験条件を改善する必要があると判断した。また、パッシブサンプラー法も、まだ改良が必要と考えられる。

(2) デニューダ法での HONO と喘息小発作との関連性

① HONO, NO₂, NO の濃度推移 : 2010 年の NO₂ 濃度の推移は、発作が起きた時期は各家庭共横ばい的であり濃度の起伏は無い傾向だった。NO 濃度の推移は、暖房を入れたところから各家庭で上昇し、その濃度上昇パターンは NO₂ と類似した。HONO 濃度の推移は、NO 濃度上昇時に上昇したり、暖房時期には NO₂ や NO のように上昇した。2011 年の推移は、NO 濃度が全家庭で低かったのが特徴的だった。NO₂ 濃度は横ばい的推移だった 2010 年と異なり、濃度変動が認められ、HONO と NO も NO₂ の変動と類似の変動が認められ、各窒素酸化物濃度の相関性が比較的高かった。2012 年の NO₂ 濃度の推移は、横ばい的な家庭と、週毎に徐々に濃度が上昇する傾向の家庭があった。HONO 濃度は全家庭で週毎に徐々に濃度が上昇する傾向が認められた。NO 濃度は、各家庭で様々な推移パターンを示した。

② 喘息関連症状の指標化 : 2010 年と 2011 年の調査では 10 名中、5 名で解析に有効な喘息小発作が合計 7 回起きた。大発作は誰も起きず、中発作は 2 名だけで各 1 回起きた。喘鳴や咳などの呼吸器の症状に関しては、頻度的に多すぎて指標に不向きであったり、人により症状が出たり出なかったりしたため、喘息小発作を喘息関連症状の指標とした。

③ 大気汚染物質濃度の指標化 : 調査期間が 9 月から約 3 カ月間とし、暖房による大気汚染物質濃度の推移も調べた。その結果、HONO や NO₂ や NO 濃度は暖房時期に上昇する家庭がほとんどだったが、暖房時期には喘息関連症状が治まる人が多く、HONO 濃度や NO₂ 濃度だけで喘息発作を説明しきれないことが分かった。しかし、暖房による HONO や NO₂ の濃度変化も含めた解析を試みて、前の週の濃度を 1 としてその週の変化率を指標とした。但し、調査開始週には変化率が求められないため、調査開始週データは解析の対象から外れた (調査開始週の喘息小発作は 1 回あった)。また、調査地区に近い測定局データは、各協力者のサンプリング時間と同じ時間の平均値を求め、同様に

変化率を算出し、解析に用いた。

④大気汚染物質と喘息小発作との関連：Mann-Whitney の U 検定による、大気汚染物質の濃度変化率と喘息小発作との関連性を表に示す。

	HONO 率		NO ₂ 率	
小発作	有り	無し	有り	無し
N	6	57	6	57
最大値	2.23	3	1.4	3.27
第3四分点	1.8	1.33	1.148	1.24
中央値	1.645	1	1.115	1.05
第1四分点	1.46	0.88	1.023	0.9
最小値	1.4	0.31	0.99	0.71
p value	0.00134		0.48241	

表 1. HONO や NO₂ と喘息小発作との関連

今回の小規模調査では、多くの疫学調査で喘息との関連が認められ、規制されている NO₂ では、喘息小発作との関連は認められなかったが、HONO では喘息小発作との関連が認められた。

	NO 率		O ₃ 率	
小発作	有り	無し	有り	無し
N	6	57	6	57
最大値	3.89	7.74	1.2	5.87
第3四分点	2.935	1.54	0.82	1.16
中央値	1.67	1.17	0.655	0.85
第1四分点	1.508	0.88	0.528	0.59
最小値	1.17	0.15	0.31	0.22
p value	0.03123		0.21461	

表 2. NO や O₃ と喘息小発作との関連

今回の小規模調査でも、NO と喘息小発作との関連の有意差は認められた。昭和の時代の疫学調査でも、NO₂ より NO の方が喘息との関連が強いが、NO は喘息影響がないと認められているため、喘息の原因を NO とはできないと考えられてきている。最新の環境省の窒素酸化物に関する大規模疫学調査でも、NO_x と喘息との関連が認められたと報告されているが、規制されている NO₂ 単独では喘息との関連は報告されていない。従って、今回の NO と喘息小発作との関連性は、今回の調査が、小規模で特殊な集団での結果というより、一般的な集団の結果を反映している可能性を示唆する。

	SO ₂ 率		SPM 率	
小発作	有り	無し	有り	無し
N	6	57	6	57
最大値	2.59	3.84	1.73	2.05
第3四分点	1.603	1.72	1.258	1.26
中央値	0.955	1.16	1.125	1.09
第1四分点	0.42	0.61	0.663	0.75
最小値	0.31	0.33	0.51	0.47
p value	0.48240		1.00000	

表 3. SO₂ や SPM と喘息小発作との関連

測定局データを利用して、疫学調査の報告によっては喘息との関連が示されている SO₂ と SPM については、今回の小規模調査では、有意差は認められなかった。

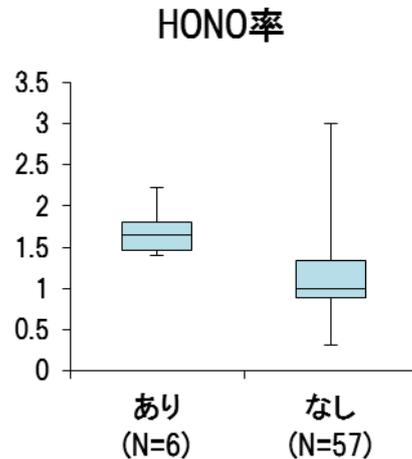


図 1. 箱ひげ図による HONO と喘息小発作との関連

喘息小発作が起きなかった時でも、HONO 率が高いときがあるが、全て暖房時期だった。暖房時期に喘息発作が起きていない理由は不明だが、暖房時期を除いて解析した場合、今回の調査でも HONO 濃度と喘息小発作との関連に有意差が認められた。一般的に、NO₂ と喘息との関連を調べる疫学調査では、暖房時期は調査対象期間から除外している。暖房時期を調査期間に含めると、NO₂ と喘息と関係の有意差が出にくくなることは、経験的に知られている。我々の変化率による解析では、暖房時期を除外しなくとも、HONO と喘息小発作との関連に有意差が認められている。今後、喘息調査を 9 月 10 月だけでなく、暖房時期にも実施することで、窒素酸化物と喘息の関連性に関する機序についても検討できる可能性があると考えている。

また、気温データや測定局データを用いてロジスティック回帰分析をした場合でも、HONO と喘息小発作との関連の有意差は認められた。

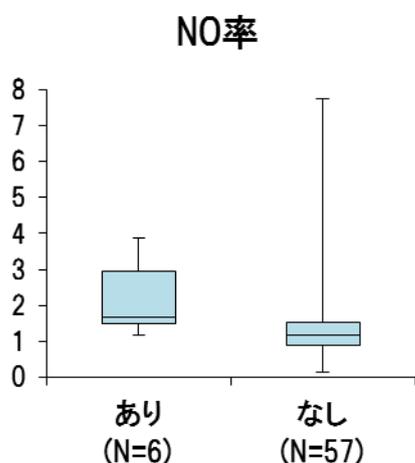


図2. 箱ひげ図によるNOと喘息小発作との関連

パッシブサンプラーによるNO濃度は環境測定局の濃度より高濃度になる場合も頻繁にあり、NO率の変動幅が大きい。U検定ではNO率と喘息小発作との関連に有意差が認められたが、気温データや測定局データを用いてロジスティック回帰分析をした結果、NOと喘息小発作との関連の有意差は認められなくなった。

(3)まとめ

現在、窒素酸化物ではNO₂が疫学調査により喘息影響が認められているが、NO₂測定法でNO₂として誤検出されるHONOと喘息との関連を調べた今回の小規模調査の結果、HONOと喘息との関連性が示されたが、NO₂と喘息との関連は認められず、NOと喘息との関連はU検定では認められたものの、ロジスティック回帰分析では認められなかった。これらの結果は、NO₂よりHONOの方が喘息発作との関連が強いことを示唆する。

HONOは燃焼により発生するため、今回の室内濃度を測定しただけの調査でHONOと喘息との関連性が認められたとしても、HONOによる室内汚染が問題なのか大気汚染が問題なのかはわからない。しかし、NO濃度の推移パターンが、調査家庭毎にかなり異なるのに対し、HONOの濃度推移パターンは同じ年では各家庭で類似したパターンを示す傾向が認められた。このことは、大気汚染や気候など、広域の環境が室内のHONO濃度に関与している可能性を示唆する。また、燃焼型暖房器具の使用により、室内HONO濃度が高濃度になることは認められるが、暖

房を入れる前までは喘息発作など喘息関連症状が起きていた子供が、暖房を入れだしてからNO₂やHONO濃度が上昇しているにも関わらず、喘息関連症状が治まる現象が観察された。その原因は不明だが、その機序が明らかになれば、喘息症状を抑制することが可能になるかも知れないと考えている。

デニューダ法によるHONO測定は高額のため、疫学調査には不向きである。今後、ニールフィルターホルダーやパッシブサンプラーでのHONO測定法(条件)を確立させることで、HONOの喘息影響の疫学調査が多数実施されることを期待する。

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5件)

- ① Masayuki Ohyama, Norimichi Takenaka, Hiroshi Bandow. Possible Link between Nitrous Acid and Asthma Induced by Fine Particles. *Journal of Clinical Toxicology*. 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. *Journal of Clinical Toxicology*. 査読有、Vol. 2. 2012. doi.org/10.4172/2161-0495.1000121
- ③ Masayuki Ohyama. Should the Regulation of Nitrogen Dioxide be Amended for the Regulation of Nitrous Acid? *Journal of Clinical Toxicology*. 査読有、Vol. 2. 2012. doi.org/10.4172/2161-0495.1000e103
- ④ Masayuki Ohyama, Kenji Oka, Shuichi Adachi, Norimichi Takenaka. Histological Effect of Nitrous Acid with Secondary Products of Nitrogen Dioxide and Nitric Oxide Exposure on Pulmonary Tissue in Mice. *Journal of Clinical Toxicology*. 査読有、Vol. 1. 2011. doi.org/10.4172/2161-0494.1000103
- ⑤ Masayuki Ohyama, Kenji Oka, Shuichi Adachi, Norimichi 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、パッシブ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、亜硝酸パッシブサンプラーの開発、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

http://www.iph.pref.osaka.jp/news/vol143/news43_2.html

<http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/back/104-2.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

竹中 規訓 (TAKENAKA NORIMICHI)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)

研究者番号：70236488

中島 孝江 (NAKAJIMA TAKAE)

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：70250338

(3) 連携研究者

(0)

研究者番号：