

研究種目：基盤研究(c)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591269

研究課題名(和文) 室内環境化学物質の胎児期曝露の次世代影響：乳幼児期のアレルギーと肥満細胞の解析

研究課題名(英文) The effect of inhalation of an indoor environmental chemical during pregnancy and infancy on mast cell

研究代表者

野口 順子 (NOGUCHI JUNKO)

産業医科大学・医学部・教務職員

研究者番号：30389423

研究成果の概要：

胎児期に化学物質に曝露されて生まれてきた子供の、幼児期における生体応答がどのような影響を受けているかをモデルマウスを作成して調べた所、細胞分化に重要な役割を果たしているSTAT5 という分子が活性化されていた。また胎児期に化学物質を曝露されたマウスの骨髄細胞から分化誘導した肥満細胞はアレルギー増悪因子(例えばヒスタミン、プロスタグランジンやアレルギーに関与するサイトカイン)を対照群よりも多く産生した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：小児科学 研究分野コード：7211

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：①アレルギー・ぜんそく ②肥満細胞 ③室内環境化学物質 ④胎児期曝露

1. 研究開始当初の背景

近年、環境や生活スタイルの変化に伴い、以前には曝露を受けることがなかったような多くの物質に我々は曝露されるようになった。また女性就労者数の増加に伴い、妊婦が出産直前まで働いているという職場も珍しくなくなってきた。そのため母体が妊娠中に化学物質による曝露を受けるという状況が、現代社会で十分起こりえる状況となっている。一旦、母体が化学物質に曝されると胎盤は化学

物質の侵入を阻止できないため、侵入してきた化学物質に胎児は曝されることになる。このような状況から室内環境化学物質の妊婦・胎児への影響が懸念されており、妊婦・胎児への影響評価のための基礎データの収集は早急な課題である。一方、小児の過敏症の一つであるアレルギー性喘息罹患率がここ数年で急増していることが疫学調査により報告されている(学校保健統計調査2003年より)。その原因の一つとして遺伝的素因が

あり、更に重要な役割を果たすのが環境因子である。このことは、非常に早い段階での影響(細胞レベルや個体レベル)が、その後の表現系に影響していることを示唆している。しかしながら、このような胎児期曝露と幼児期の生体応答を評価するための実験系を構築し、その生体影響を解析した例は未だ散見されるだけで、影響評価についても明確な回答は得られていない。

2. 研究の目的

本研究では室内環境中の化学物質(例えば、過敏症との関連が示唆されているホルムアルデヒド、トルエンやたばこの煙等、について、胎児期すなわち出生前での曝露という曝露様式と生体反応、特にアレルギー反応をモチーフとした実験システムを構築し、室内環境化学物質が次世代に与える生体影響について免疫応答を中心に評価することを目的としている。本課題では室内環境化学物質の胎児期曝露という点に着目している。動物実験モデルを用いた解析、特に胎児期曝露に着目し、幼児期の免疫応答を解析している研究は非常にユニークである。得られた成果と疫学調査の比較により、幼児期アレルギー症状の増加を理解する上で役立つものと考えられ、社会に対する貢献も期待できる。

3. 研究の方法

平成19年度に構築した胎児期化学物質曝露システムを用い、胎児期曝露マウスを作成し、アレルギー反応の解析を分化誘導した肥満細胞を中心に検討する。化学物質としてアレルギー疾患との関与が示唆されているホルムアルデヒドを用いた。

(1) 胎児期化学物質曝露モデルの作成：

マウスを交配させ、妊娠(ブランク)確認後、化学物質の全身曝露を出産直前までの14日間行う。化学物質の濃度は室内環境濃度の許容濃度で曝露を行った。

(2) アレルギー応答の解析：

(1)及び(2)の胎児期曝露マウスと対照群マウスを用いて、アレルギー反応を解析する。

①リンパ球の抗原特異的な増殖反応、サイトカイン産生、ELISA法にて測定する。

②リンパ球の細胞溶解液を調製し、リン酸化酵素の活性化をウエスタンブロット法にて解析する。

(3) 肥満細胞の解析：

(1)及び(2)の胎児期曝露マウスと対照群マウスの骨髄細胞から肥満細胞を分化誘導する。得られた肥満細胞のFcεRIを介した抗

原刺激による脱顆粒反応、サイトカイン、PGD2の産生能などを比較検討し、肥満細胞によるアレルギー応答を解析した。

以上の結果より、胎児期化学物質曝露と幼児期マウスのアレルギー応答との関連を評価する。

4. 研究成果

(1) 胎児期化学物質曝露モデルの作成：

化学物質の濃度は室内環境濃度の許容濃度(80ppb)で曝露を行った。曝露による出生率や、仔マウスの体重増加に化学物質の影響はなかった。

(2) シグナル伝達物質の活性化の解析：

胎児期曝露マウスの胸腺細胞においてSTAT5の活性化が認められた。

(3) 肥満細胞の解析：

(1)の胎児期曝露マウスと対照群マウスの骨髄細胞から肥満細胞を分化誘導し、FcεRIを介した抗原刺激による脱顆粒反応、サイトカイン、PGD2の産生能などを比較検討し、肥満細胞によるアレルギー応答を解析した。得られた骨髄細胞中のCD34+細胞が化学物質曝露群で顕著に増加していた(図1)。この骨髄細胞から分化誘導した肥満細胞では、アレルギー性炎症の増悪因子であるPGD2の産生や(図2)、histamineの産生、放出の指標となるb-hexosaminidaseの貯蔵量(図3)および脱顆粒反応(図4)、Th2応答を亢進させるIL-6、IL-13の産生増加を認めた。

その結果、化学物質による胎児期曝露を受けた個体は胸腺細胞、骨髄細胞において、それぞれ、STAT5の活性化の亢進、CD34+細胞の増加を見出した。この活性化は①幼児期になってもその影響が持続していること、②影響はより未熟な細胞に顕著に観察されることが確認された。③その影響は骨髄細胞から分化誘導した肥満細胞においても観察された。STAT5の活性化は、Th1細胞の分化を抑制することにより、Th1/Th2バランスをTh2に偏向させること、CD34+細胞はアレルギー性炎症の重要なエフェクター細胞となることが報告されていることと併せ、胎児期における化学物質の曝露は個体allergy-sensitiveな方向性をもたらすことが示唆された。

化学物質による胎児期曝露を受けた個体は、①幼児期になってもその影響が持続していること、②影響はより未熟な細胞に顕著に観察されることが、③その影響は骨髄細胞から、試験管内で分化誘導した肥満細胞でも、観察されることを見出した。

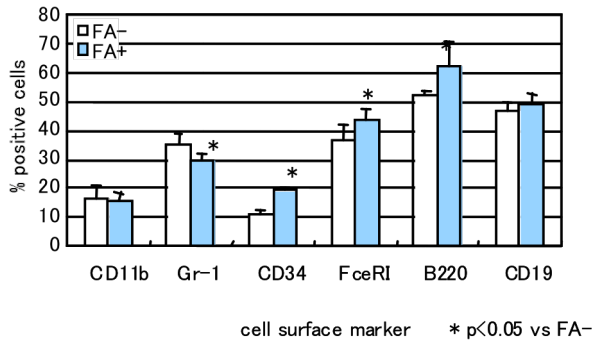


図1 骨髄細胞の細胞表面マーカーの発現量

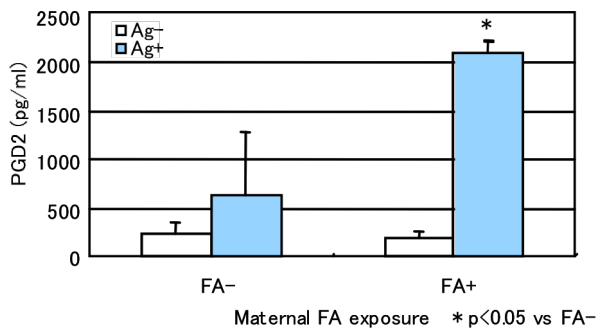


図2 抗原刺激によるPGD2の産生

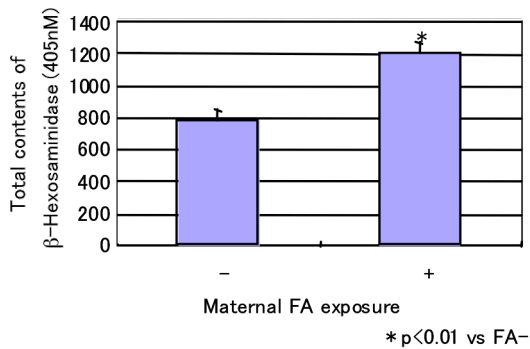


図3 肥満細胞のβ-hexosaminidase 全貯蔵量

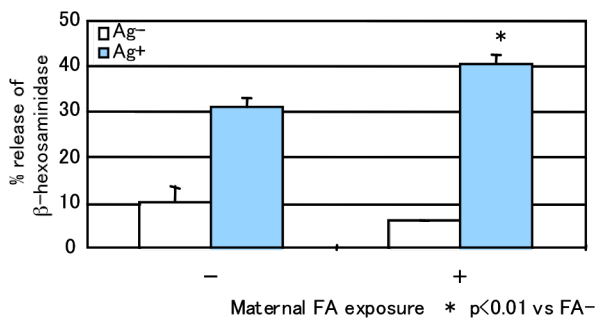


図4 抗原刺激によるβ-hexosaminidaseの脱顆粒

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2件)

1. Yoshida, Y. et al.

An indoor air pollutant 2-ethyl-hexanol activates CD4 Cells.

Chemico-Bio Intera 177, 137-141, 2009. 査読有

2. Kuroda, E. Noguchi, J. Yamashita, U.

IL-3 is an important differentiation factor for the development of prostaglandin E2-producing macrophages between C57BL/6 and BALB/c mice.

European J. Immunology, 37: 2185-2195, 2007, 査読有

[学会発表] (計3件)

1. 野口順子 他

マウスpDC機能におけるPGE2とtype I Interferonの関係.

第38回日本免疫学会,

2008. 12. 2,

国立京都国際会館

2. J. Noguchi et al.

Prostaglandin E2 is an important factor for murine plasmacytoid dendritic cell functions

The 10th International Symposium on Dendritic cells

2008. 10. 3

International Conference Centre Kobe

3. Noguchi, J. et al. Strain difference
of murine plasmacytoid dendritic cell
function.

第38回日本免疫学会,

2007. 11. 21 高輪プリンスホテル

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野口 順子 (NOGUCHI JUNKO)

産業医科大学・医学部・教務職員

研究者番号：30389423

(2) 研究分担者

吉田 安宏 (YOSHIDA YASUHIRO)

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10309958

榊田 尚樹 (KUNUGITA NAOKI)

産業医科大学・産業保健学部・准教授

研究者番号：90178020

山下 優毅 (YAMASHITA UKI)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号：00028680