

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 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：35303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21659161

研究課題名（和文） 室内気質の免疫影響に関する実験システムの構築

研究課題名（英文） Construction of the experimental system about the immunity influence of an indoor disposition

研究代表者：大槻 剛巳（OTSUKI TAKEMI）

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：40160551

研究成果の概要（和文）：マイナス荷電粒子優位の室内空気室を構築して、健康人ボランティアにより 2.5 時間滞在，ならびに夜間のみ 2 週間滞在型試験を行ってきた結果，短期間のインターロイキン 2 の軽微な，しかし有意な上昇と，中期間（2 週間）でのナチュラルキラー細胞の活性増強を観察していたので，今回，実験的にそのシステムの構築と，検証を行った結果，マイナス荷電粒子の優位の程度は，オーダーは異なっていたが，実験的にこの環境がヘルパー T 細胞の活性化とナチュラルキラー細胞の活性化を誘導することが判明した。

研究成果の概要（英文）：Result to build a negatively charged particle indoor air quality advantage, stay for 2.5 hours by healthy volunteers, have been type tested and only at night for two weeks, and minor but significant increase in interleukin-2 short-term, so had observed enhanced activity of natural killer cells in the (2 weeks) period during this time, and the experimental building of that system, the result was verified, the degree of dominance of the charged particle is negative, the order experimentally were different, experimentally, it was found that this environment to induce the activation of natural killer cell helper T cell activation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	1,200,000	0	1,200,000
22 年度	900,000	0	900,000
23 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	270,000	3,270,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：マイナス荷電粒子，室内気質，免疫，T細胞，NK細胞，活性化，サイトカイン

1. 研究開始当初の背景：室内空気室環境については、健康に対して障害をもたらす場合が、多く取り上げられている。シックハウス症候群（元来はシックビルディング症候群であるがここでは本邦の実態に沿った呼び名としてシックハウス症候群を使用し、Sick-House Syndrome: SHS とする）はその代表的な疾患であり、多くの微量の化学物質が、精神・神経・内分泌・免疫系（Psycho-Neuro-Endocrino-Immune Network: PNEI-NW）を介して、多彩なかつ病態生理としてまだまだ不明な症状を惹起することが知られている。これはまた化学物質過敏症（Multiple Chemical Sensitivity: MCS）も然りであり、SHSに比較してより低濃度の曝露で、かつ当初の症状惹起のもととなった物質以外に対しても過敏症を呈して、症状が誘導されるなどの疾病単位として捉えられている。これらの疾患群において、その症状の病態生理としての検討についてか、症例での自律神経系を利用した機能検査、あるいは脳科学を用いた曝露時の興奮脳部位などの観察などが進められると同時に、遺伝子多型の検討による個人的要素/感受性の検討、あるいは代謝酵素の測定などの検討が進められている。このように PNEI-NW を総括的に観察する必要があるのは当然であるが、別の視点から、実験的に精神、神経、内分泌、免疫のそれぞれの領域に特化した影響を観察し、それらの成果を包括的に統合することにより、全体的な病態生理の理解を進めるというアプローチも必須となってくるであろう。一方、SHS や MCS が一般的にな

るに従って、建築関連の研究者あるいは実務に携わる住宅や建材のメーカーなどは、化学物質を削減する方向性ととも、健康増進に働く室内環境の構築に努力を進めている実態がある。

例えば、室内に限らず室外も含めて、環境としては五感にてその環境を人は認識するのであるが、そこには音による聴覚、匂いなどの嗅覚、色や模様などの視覚等が、代表的なものとなる。しかし、SHS や MCS などで見られている PNEI-NW などを考えても、単一の感覚では説明できないような環境による健康増進効果も指摘されている。この端的な例が、森林浴などによるリラクゼーションによって免疫が賦活されたり、抗癌作用が惹起されるなどの、専門領域あるいは一般のマスメディアも含めた報告である。森林浴などは、日常の生活から離れる精神的なストレスからの開放、緑を中心にした視覚、運動による影響等々が複合してその生体影響には作用していることは、明白であろうが、そこには、これら以外に、木から放出される化学物質（ピネンなど）や、通称マイナスイオンと呼ばれる空気環境なども、効果があることが取り沙汰されているが、科学的な解析については、まだ、端緒についたばかりの状況である。

2. 研究の目的：今回の課題では、これらの健康への悪影響あるいは健康増進が想定されるいくつかの化学物質や物理的気質環境について、免疫面に特化して実験的な検討を行い、これら疾患の病態生理の理解を進めるとともに、その後神経細胞などへ

の応用が可能となる実験環境の構築を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法：

(1) マイナス荷電粒子優位空気質システムのインキュベーターシステムへの導入：

本課題の一つの着目点に、マイナス荷電粒子優位空気質の免疫系への影響の検討が挙げられる。この点は、曝露インキュベーターシステムが構築されないと、達成できない。免疫学的検討手法が確立しているため、このハード面が最重要となる。

マイナス荷電粒子発生装置は、既存の装置（マイナス荷電粒子発生装置●キーエンス社製高性能マイクロ除電器：SJ-M200（コントローラ）発生器本体, SJ-M020（除電ヘッド）先端部分, 他コンポーネント部品あり）が有用であり、また、測定には（モニターの機器●コムシステム社製 高性能空気イオン測定器：COM-3600）を用いることが可能である。ただし、継続的にある一定の割合で、マイナス荷電粒子優位のインキュベーター内空気質を維持するためには、発生量、流量その他の検定が必要になってくる。

(2) マイナス荷電粒子優位空気質システムにおける免疫機能の測定

- ① NK細胞機能：NK細胞機能の測定は、現在アスベスト曝露で行っており、これは多くの国際的な発表も実施している。よってシステムの整備によって、測定は可能となる。
- ② 制御性T細胞機能：本機能の測定も実施しており、既に珪肺症での異常を報告している。よってこれも、システムの整備により測定可能となる。
- ③ その他機能；樹状細胞, NK T細胞, 抑制性T細胞。これらについては、現

在、実験系は確立しており、アスベスト等の影響を検討中であるが、同様にこの機能測定法を応用可能である。

- ④ また、制御性T細胞, 樹状細胞などは *ex vivo* 誘導系が確立している。この場合、機能検討中ではなく、誘導期間中の曝露による変化を観察することも興味深い。

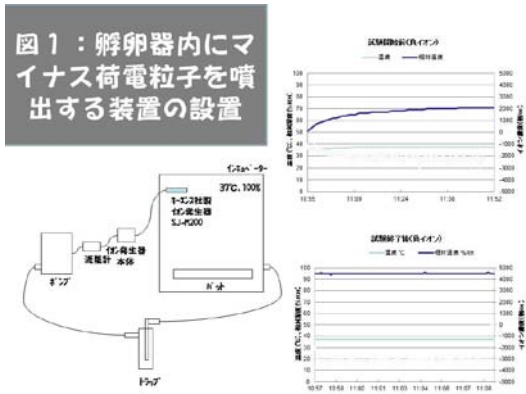
(3) 後半では、

- ① 上記の機能検査法が確立した場合、マイナスイオンについては変化が得られた分子機序を明白にして、健康増進室内環境についての検討を深める。
 - ② 免疫担当細胞以外に、神経細胞や内分泌系細胞を用いた検討を実施する。
 - ③ 曝露材料を、マイナス荷電粒子から、有機溶剤（ホルムアルデヒドやトルエン）に変更して、その細胞学的影響の確認を行う。
 - 1) 免疫担当細胞（NK細胞, 制御性T細胞, NK T細胞, 樹状細胞, B細胞。
 - 2) 神経細胞
 - 3) 内分泌細胞
- (4) それぞれの結果の照合による複合影響の検討。

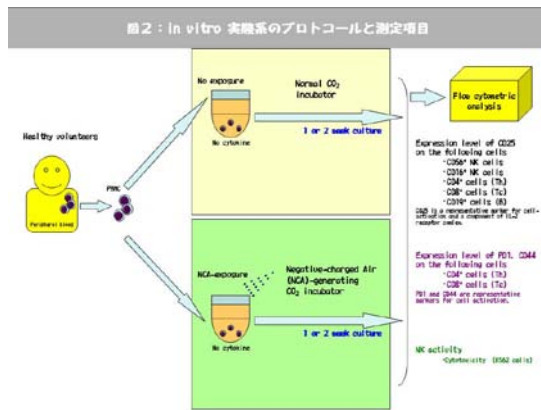
4. 研究成果：

(1) マイナス荷電粒子優位空気質システムのインキュベーターシステムへの導入とそれによる免疫担当細胞の機能変化については、十分に構築し、研究を实践できた。その結果、図1に示すように、実際にこのプロジェクトまでに構築していたマイナス荷電粒子優位な室内環境とは異なるオーダーにはなったが、インキュベーター内にこちらの条件では継続的にマイナス荷電粒子を発生させることによって、実験環境を構

築することが可能であった。

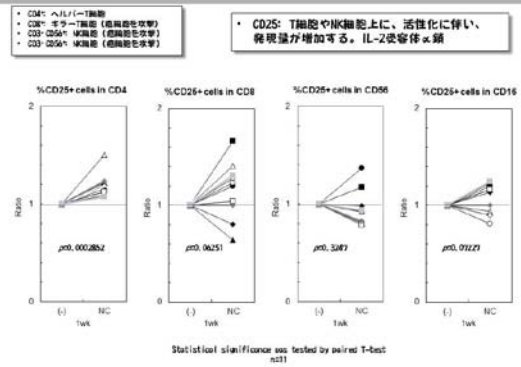


そして、健康人末梢血新鮮採取免疫担当細胞を用いて、免疫影響を観察することが可能となった (図2)



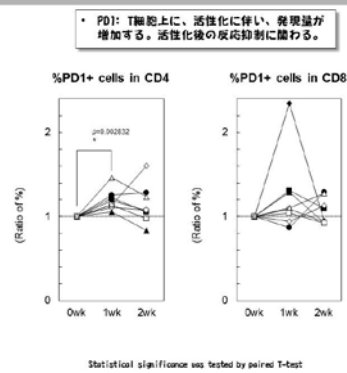
その結果、1 週間培養によって、図 3 に示すように活性化細胞のマーカーとして CD25 を用いると、特に CD4 ヘルパー T 細胞において有意な活性化が認められた。ただし、CD8 陽性細胞、CD56 あるいは CD16 を用いた NK 細胞については、認められなかった。なお、CD16 陽性 NK 細胞については、 $p < 0.1$ の有意差であり、傾向としては活性化すると捉えることも可能かと考えられた。

図3：CD25陽性細胞数（比率）への影響、1週間培養実験のまとめ (n=11)



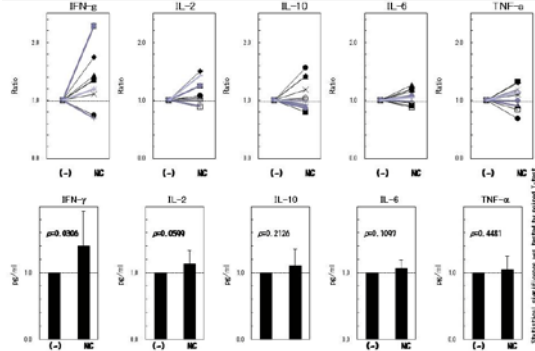
さらに、T細胞の活性化マーカーとしてPD-1分子を用いると (図4) 特に、1週間培養のCD4陽性T細胞において、その上昇が認められ、CD25で観察した結果と合致した所見であった。

図4：PD1陽性細胞数（比率）の経時変化



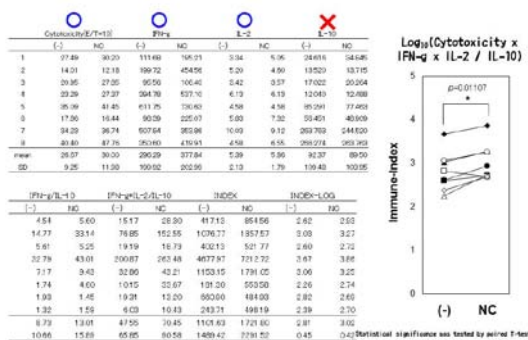
そこで、サイトカイン産生への影響を観察すると、インターフェロニン γ が有意に、そしてインターロイキン2が傾向として産生が亢進することが判明した。これもまた実験的な条件ではT細胞の活性化を促す結果であり、これまでの健康者による2.5時間滞在型試験と同様な所見であった (図5)

図5：サイトカイン産生能への影響



これらの結果を総合してみても、免疫活性化について、優勢に作用するインターフェロングammaとインターロイキン2、さらに陰性にはたらくインターロイキン10、加えて、これまでの健常人の2週間夜間のみ滞在型試験で得られたナチュラルキラー細胞活性の亢進を考慮して、実験系でのNK細胞活性を合わせ、インターロイキン10のみを陰性因子として、公式をたためしに構築すると、この公式でも有意にマイナス荷電粒子優位のインキュベーター気質は免疫系を活性化することが判明した(図6)。

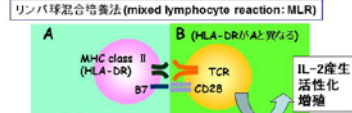
図6：免疫インデックス Immune-Index



そこでヘルパーT細胞の中に含まれる免疫刺激反応を制御抑制する制御性T細胞機能について、検討することにした(図7)。

図7：CD4+ヘルパーT細胞について

CD4+ヘルパーT細胞は抗原提示細胞が産生する免疫調節作用を持つサイトカインによりTh1細胞、Th2細胞に分化する。
Th1細胞はIL-2を産生し、NK、NKT細胞を活性化させ、ウイルス感染細胞や病原菌、がん細胞の破壊を助ける(細胞性免疫)。Th1細胞はIFN-γも産生しTh2細胞のIgE抗体産生を抑制する。Th1細胞の活性化は、アレルギー疾患やがんの発生を抑制する一方で、自己免疫疾患や炎症性疾患を増悪させる。
Th2細胞はIL-4を産生し、B細胞を活性化させ、IgE抗体の産生を促進する(液性免疫)。Th2細胞の産生するIL-4、IL-10はTh1細胞による細胞性免疫を抑制するため、アレルギー疾患が発症しやすい。

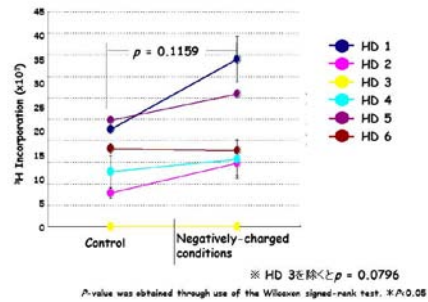


MHCクラスIIの異なるA、BのヒドリンT球を混合培養するとT細胞のTCRが非自己のMHCを認識し結合するため、T細胞が活性化され増殖反応を起こす。

マイナス荷電粒子の生体影響報告会2008/03/27 前田 亮

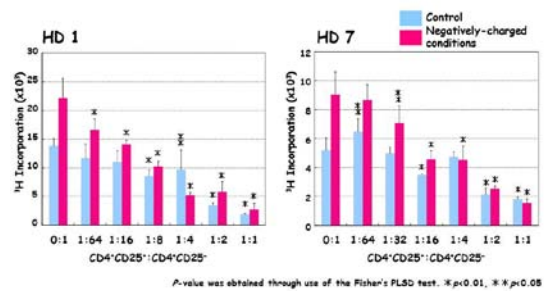
前述のようにCD4陽性T細胞自体の活性化としては、マイナス荷電優位空気室は、傾向としてやや亢進するとも思われたが、有意差は得られず、また傾向としても陽性に捉えるには、至らない判定結果であった(図8)。

図8：マイナス荷電粒子がCD4+T細胞の細胞増殖に与える影響



また、制御性T細胞機能については、mixed lymphocyte reaction法で観察したが、こちらには明らかな影響が見られなかった。全体として活性亢進があったものの、制御性T細胞を混在することによって生じる反応性T細胞の増殖抑制は認められなかった(図9)。

図9：マイナス荷電粒子がCD4+CD25+制御性T細胞の細胞増殖抑制能に与える影響



いずれの成果も、これまで健常人ボランティアを用いて、実際にマイナス荷電優位な空気室を構築して、2.5 時間ならびに夜間のみ 2 週間滞在型試験で行ってきた、短期にごく軽度には有意にインターロイキン 2 の産生亢進が惹起され、それは即時にもとに戻るものの、その繰り返しによって、2 週間の環境によって、ナチュラルキラー細胞活性が高まることと、整合性が得られる結果であった。

現在、人数は少ないものの長期モニター（月～年の単位）を実施しており、将来的にはベンチャーなどの構築も考えている。

ただし、これらの実験的システムを用いて他の化学物質（シックハウス症候群などを考慮するとホルムアルデヒドなど）の曝露や、それにマイナス荷電粒子優位な状況が加わった場合とか、シックハウス症候群を考慮して神経系の細胞培養を用いる系の構築も目標としていたが、これらの検討には至れなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 4 件）

1. 大槻剛巳、森田環境要素の免疫機能に及ぼす効果。森林セラピー Np.5 (Jan., 2011) p6. (査読無)
2. Takahashi K, Otsuki T, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Shirahama T, Miura Y, Morimoto K. Two weeks of permanence in negatively-charged air conditions causes alteration of natural killer cell function. *Int J Immunopathol Pharmacol* 22(2); 333-342, 2009 (査読有)
3. Otsuki T, Takahashi K, Mase A, Kawado T, Kotani M, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Nishimura Y, Miura Y, Shirahama T, Yoshimatsu M, Morimoto K. The biological effects of negatively-charged indoor air conditions. *Kawasaki Med J* 35(3): 205-214, 2009 (査読有)
4. 西村泰光, 高橋一聡, 間瀬昭則, 河戸隆, 小谷宗男, 阿見和久, 松島弘樹, 白濱毅, 吉松道晴, 前田恵, 村上周子, 林宏明, 熊谷直子, 陈莹, 三浦由恵, 森本兼曩, 大槻剛巳. マイナス荷電粒子優位な室内空気環境の生体影響の観察 —精神・神経・内分泌・免疫ネットワークへの影響について— 日本職業・環境アレルギー学会雑誌 2009 16(2): 15-24 (査読有)

〔学会発表〕（計 5 件）

1. 大槻剛巳. 室内空気質による健康増進への取組に関する基礎的研究. 第 2 回川崎医科大学学術集会. 2011. 8. 6. 川崎医科大学現代医学教育博物館
2. 大槻剛巳. 健康増進住宅への試み. 第 39 回メディカルテクノおかやまサロン. 2011. 4. 25. 岡山大学鹿田キャンパス総合教育研究棟 1 階
3. 大槻剛巳, 西村泰光, 前田恵, 熊谷直子, 林宏明. マイナス荷電粒子優位の室内空気環境と精神・神経・内分泌・免疫ネットワーク応答の解析—in vitro 実験系の試み—. 第 1 回川崎医科大学学術集会. 2010. 8. 7. 川崎医科大学校舎棟 M702/教職員ラウンジ
4. 大槻剛巳. 環境と生体反応：健康被害から健康増進へ。（特別講演）岡山県医用工学会平成 21 年度第 1 回セミナー.

2009. 6. 18. 岡山大学鹿田キャンパス附属図書館3階情報実習室

5. 大槻剛巳, 西村泰光, 森本兼曩. マイナス荷電空気環境による効果. 第79回日本衛生学会総会. 「森林の健康影響メカニズムをさぐる」 森林医学研究会
2009. 3. 30. 北里大学白金キャンパス

[図書] (計1件)

1. Otsuki T, Takahashi K, Mase A, Kawado T, Kotani M, Nishimura Y, Maeda M, Murakami S, Kumagai N, Hayashi H, Chen Y, Miura Y, Shirahama T, Yoshimatsu M, Morimoto K. Establishment of Negatively-charged Indoor Air Conditions and their Biological Effects. In Buildings and the Environment. Authors / Editors: Jonas Nemecek and Patrik Schulz . Pub. Date: 2009 4th Quarter ISBN: 978-1-60876-128-9 © 2009 Nova Science Publishers, Inc. 2009, pp201-214

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

特記無

6. 研究組織

(1)研究代表者:

大槻 剛巳 (OTSUKI TAKEMI)
川崎医科大学・医学部・教授
研究者番号: 40160551

(2)研究分担者:

西村 泰光 (NISHIMURA YASUMITSU)
川崎医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 90360271
武井 直子 (TAKEI NAOKO)
川崎医科大学・医学部・助教
研究者番号: 00509276
松崎 秀紀 (MATSUZAKI HIDENORI)
川崎医科大学・医学部・助教
研究者番号: 80335463
李 順姫 (LEE SUNI)
川崎医科大学・医学部・助教
研究者番号: 70414026
前田 恵 (MAEDA MEGUMI)
川崎医科大学・医学部・助教
研究者番号: 20434988

(3)連携研究者: 無