

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：37111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12219

研究課題名(和文) 黄砂の物理・化学・生物的諸特性とアレルギー性結膜炎の病態の関係解明

研究課題名(英文) Investigation of relationships between physical chemical and biological characteristics of Asian dust particles and pathogenesis of allergic conjunctivitis

研究代表者

西田 千春(Nishita, Chiharu)

福岡大学・福岡から診る大気環境研究所・ポスト・ドクター

研究者番号：00572463

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：近年、黄砂の飛来とアレルギー症状の関連が報告されているが、症状の増悪の原因となる黄砂の特性やアレルギー症状の病態との関係については、不明な点が多い。本研究では、アレルギー症状の増悪と関係する可能性のある黄砂の特性やアレルギー性結膜炎の病態に関する知見を得ることを目的とし、春季の福岡において大気観測とアレルギー性結膜炎の症状に関する調査と涙液の採取を行った。大気観測の結果、黄砂飛来時には単位大気体積中の粗大粒子の酸化能が高まることが明らかとなった。また、可溶性マンガン濃度の増加が黄砂飛来時の粗大粒子の酸化能の上昇の重要な要因の一つであることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Asian dust affects Japan especially in spring. Previous studies have observed association of Asian dust events with worsening of allergenic diseases. However, characteristics of Asian dust particles that cause the adverse health effects and its relation to pathogenesis of the allergenic diseases have been poorly understood. To elucidate the characteristics of dust particles that can be a factor causing the allergenic reactions and the pathogenesis of the allergenic diseases relating to Asian dust exposure, this study performed atmospheric aerosol sampling and collected questionnaires and tear samples from healthy subjects. Results of the atmospheric observation revealed that oxidative potential of coarse particles increases during Asian dust events. Soluble manganese is suggested to be an important factor causing the high oxidative potential of coarse particles during Asian dust event.

研究分野：大気科学

キーワード：黄砂 健康影響 酸化能 遷移金属 結膜炎 アレルギー

## 1. 研究開始当初の背景

黄砂は、日本では、春先から初夏にかけて、しばしば観測される大気現象である。近年、日本における疫学研究により、黄砂曝露と眼・鼻・咽喉頭・喘息のアレルギー性疾患の増悪との関係が報告されている。しかし、黄砂がヒトの健康に影響をおよぼす要因やメカニズムは明らかにされていない。また、これまでの疫学研究では、黄砂曝露指標として、PM<sub>10</sub>(粒径 10 μm 以下の粒子の質量濃度)や気象庁が提供する目視観測に基づいた黄砂情報、またはライダーデータ(光の消散係数と偏向解消度)などが用いられてきた。しかし、黄砂の健康影響に直接関係する可能性のある化学成分や指標に関する観測データはほとんど得られておらず、健康影響との関係も明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

本研究は、春季の福岡市において、大気観測と大気エアロゾル粒子のサンプリングを行い、健康影響に直接関係する可能性のある化学成分(遷移金属)や指標(酸化能)の黄砂飛来時の変化を明らかにすることを目指した。また、黄砂を含む粗大粒子の特性とアレルギー性結膜炎の病態との関係を明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

### (1) 大気観測

2016年3月から5月にかけて、光学式粒子カウンタ(OPC)を用いた大気エアロゾル粒子の粒径別粒子数濃度の測定を行った。同時に、インパクターサンプラーを用いて、大気エアロゾル粒子を粗大粒子(粒径 > 2.5 μm)と微小粒子(粒径 < 2.5 μm)に分級してサンプリングを行った。採取した粒子サンプルを用いて、以下の4種類の化学分析を行った。

- ① 金属元素濃度
- ② 可溶性金属元素濃度
- ③ 水溶性イオン成分濃度
- ④ 酸化能(DTT消費率)

金属元素濃度については、前処理として HF-HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を用いたマイクロ波加熱分解を行った後、誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)による各種金属元素濃度の分析を行った。可溶性金属元素濃度については、pH7.4のトリス硝酸緩衝液によるサンプルの抽出と不溶性粒子の濾過による除去を行い、ICP-MSにより抽出液中の各種金属元素濃度の分析を行った。イオン成分は超純水でサンプルの抽出を行い、イオンクロマトグラフィー(IC)を用いて各種イオン成分の濃度の分析を行った。酸化能は、DTTアッセイを用いて測定を行った。DTTアッセイは、ジチオスレイトール(DTT)の消費速度を指標として、物質の酸化能を測る方法である。本研究では

pH7.4のリン酸緩衝液中における 100 μM の DTT の消費速度の測定を行った。

### (2) 結膜炎調査

黄砂飛来時期において正常群を対象に涙液を採取し、黄砂量、IgE、その他各種サイトカインを測定し、同時に問診や臨床所見を把握することで、黄砂と眼表面におけるアレルギー反応のメカニズムについて検討した。対象は2016年4月から5月まで期間において、20歳以上の成人のコンタクトレンズ非装用者で4名の健常者を対象とした。これらに対して、計11回の測定を行い、これに加えて期間中に眼症状が出現した場合は、これら計測と同時に診察、問診を追加記載とした。なお、アレルギー所見の解析については「アレルギー性結膜疾患の新しい臨床評価基準と重症度分類」を元に臨床評価をスコアリングした。これと同時に、Japanese allergic conjunctival disease(以下、JACQLQ)を使用し、自覚症状についても問診によりスコアリングを行った。涙液中の検査に関しては、総IgE抗体量および各種サイトカイン(Eotaxin, IgE, IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, MCP-1, RANTES, TNF)を Human CBA Flex set を使用して計測する。黄砂粒子の検出に関しては、洗眼液に含まれている液中微粒子を電子顕微鏡およびエネルギー分散型X線分析によって解析する。

## 4. 研究成果

### (1) 大気観測

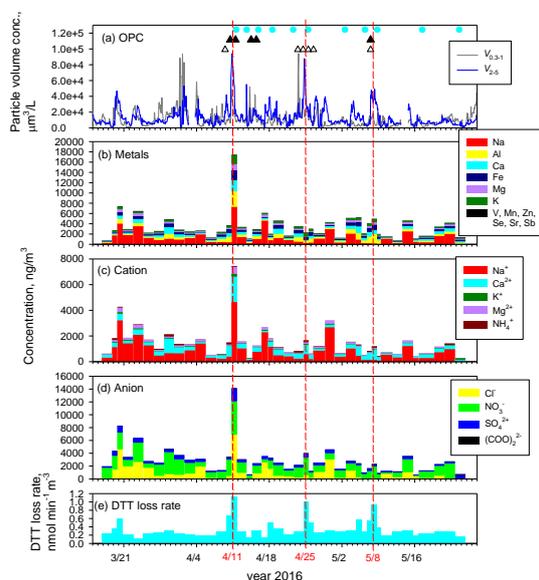
Fig. 1は、2016年春季の観測期間中の各種測定・分析項目の時間変化を示す。Fig. 1aは、OPCによって測定された大気微粒子の粒径別粒子数濃度のデータから球形粒子を仮定して見積もった粒径 0.3-1 μm の粒子の体積濃度( $V_{0.3-1}$ )と粒径 2-5 μm の粒子の体積濃度( $V_{2-5}$ )の変化である。黄砂粒子は、主に粒径 1 μm 以上の粒子として存在するため、 $V_{2-5}$ は黄砂飛来の指標として利用することができる。4月11日、4月25日、5月8日に $V_{2-5}$ の増加が観測され、黄砂の飛来によるものと考えられる。

気象庁により福岡で黄砂が観測された日を、Fig. 1aの上部に黒色の三角で示した。また、福岡以外の気象観測所で黄砂が観測された日を、Fig. 1aの上部に白色の三角で示した。4月11日と5月8日については、気象庁により、その前後の日に福岡において黄砂が観測されており、 $V_{2-5}$ の増加(Fig. 1a)は黄砂の飛来によるものと考えられる。4月25日については、福岡では気象庁による黄砂の報告はなかったが、下関や鳥取を含む西日本の多地点で黄砂が観測されており、福岡にも黄砂が飛来していたと考えられる。なお、Fig. 1aの上部に結膜炎に関する調査を行った日を青丸で示した。

Fig. 1bは、ICP-MS分析によって得られた、

粗大粒子(粒径  $2.5\ \mu\text{m}$  以上の大気粒子)中の各種金属元素の大気濃度の変化を示す。粗大粒子には、Al、Ca、Fe等の地殻起源と考えられる元素以外に、海塩起源と考えられるNaが高い割合で含まれていた。

Fig. 1c と Fig. 1d は、それぞれ、IC分析によって得られた粗大粒子中の各種陽イオンと陰イオンの大気濃度の変化を示す。粗大粒子中のイオン成分では、 $\text{Na}^+$ や $\text{Cl}^-$ の濃度が高かった。これらの成分は、海塩起源の成分と考えられる。また、硝酸イオン濃度も高く、福岡市の大気中の海塩粒子は、窒素酸化物によって変質していると考えられる。また、 $\text{NO}_3^-$ の一部は、鉱物粒子に付着している可能性も考えられる。同じ黄砂イベントでも、4月11日の黄砂イベントでは、海塩粒子も同時に多く存在していた。一方、4月25日、5月8日の黄砂イベントでは、海塩粒子濃度が低かったと考えられる。



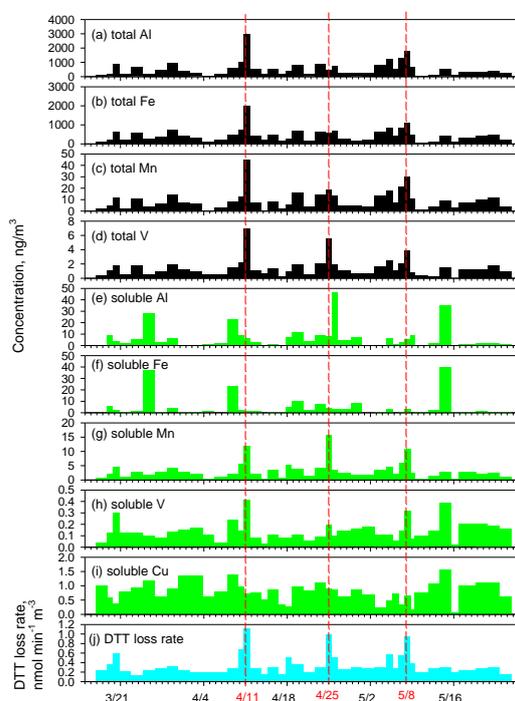
**Fig. 1** 2016年春季の福岡市の大気中の (a) 粒径  $0.3\text{--}1\ \mu\text{m}$  の粒子の体積濃度 ( $V_{0.3-1}$ ) と粒径  $2\text{--}5\ \mu\text{m}$  の粒子の体積濃度 ( $V_{2-5}$ )、(b) 粗大粒子に含まれる各種元素濃度、(c) 粗大粒子に含まれる陽イオン濃度、(d) 粗大粒子に含まれる陰イオン濃度、(e) 粗大粒子の DTT 消費速度の変化。赤破線は黄砂イベントを示す。

Fig. 1e は、DTT アッセイによって測定した粗大粒子の単位大気体積当たりの DTT 消費速度 ( $\text{nmol}\ \text{min}^{-1}\ \text{m}^{-3}$ ) の変化を示す。DTT 消費速度は、非黄砂時には約  $0.2\ \text{nmol}\ \text{min}^{-1}\ \text{m}^{-3}$  程度だったが、黄砂イベント時には非黄砂時の約5倍にまで増加した。黄砂イベント時には、粗大粒子の酸化能が増大することが明らかとなった。一方、海塩粒子由来の成分 ( $\text{Na}^+$ や $\text{Cl}^-$ ) の濃度と DTT 消費速度の変化には、明ら

かな関係は見られなかった。

Fig. 2a から Fig. 2d は、それぞれ、粗大粒子に含まれる Al、Fe、Mn、V の大気中元素濃度の変化を示す。Fe、Mn、V の大気濃度の変化は、Al の大気濃度の変化とよく似ていることから、粗大粒子に含まれる Fe、Mn、V は主に鉱物粒子に由来すると考えられる。

Fig. 2e から Fig. 2i は、それぞれ、粗大粒子中の pH 7.4 の緩衝溶液に溶ける(可溶性の) Al、Fe、Mn、V、Cu の大気濃度の変化を示す。可溶性の Al や Fe、Cu の大気中元素濃度は、黄砂イベント時に、必ずしも増加しなかった。一方、可溶性の Mn と V の大気中の元素濃度は、黄砂イベント時に増加した。特に、可溶性 Mn 濃度 (Fig. 2g) については、DTT 消費率 (Fig. 2j) の変化とよく似た変化が見られた。

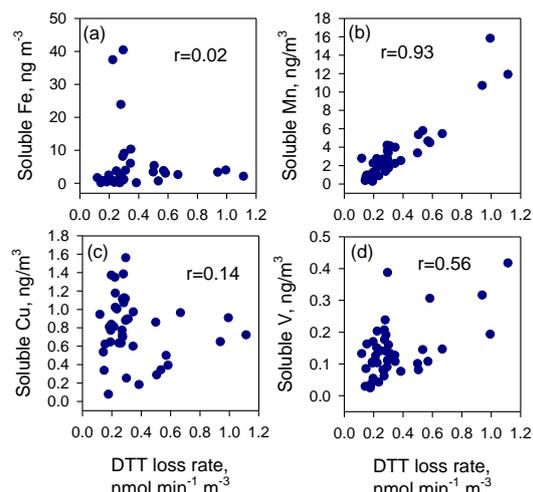


**Fig. 2** 2016年春季の福岡市の大気中の粗大粒子に含まれる (a) Al、(b) Fe、(c) Mn、(d) V 濃度と、粗大粒子に含まれる可溶性の (e) Al、(f) Fe、(g) Mn、(h) V、(i) Cu の大気中濃度の変化と (j) 粗大粒子の DTT 消費速度の変化。赤破線は黄砂イベントを示す。

pH 7.4 の緩衝溶液への Al と Fe の溶出率は、中央値で、それぞれ、0.6%と 0.4%だった。一方、Mn と V の溶出率の中央値は、それぞれ、32%と 10%であり、Al や Fe と比べて、高かった。

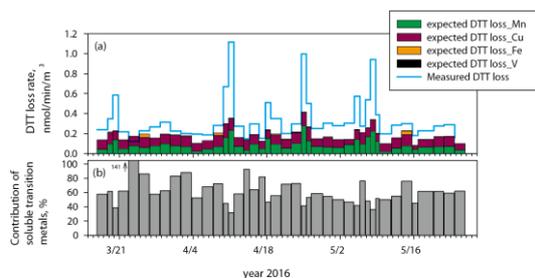
Fig. 3 は、粗大粒子の DTT 消費速度と粗大粒子に含まれる可溶性の遷移金属 (Fe、Mn、Cu、V) の濃度の相関図を示す。DTT 消費速度と可溶性鉄濃度の関係 (Fig. 3a) と DTT 消費速

度と可溶性銅濃度の関係 (Fig. 3c) には、ほとんど相関が見られなかった。一方、DTT 消費率と可溶性マンガン濃度の関係 (Fig. 3b) と DTT 消費速度と可溶性バナジウム濃度の関係 (Fig. 3d) には、正の相関が見られた。特に、DTT 消費速度と可溶性マンガン濃度の間には非常に強い相関 ( $r=0.93$ ) が見られた。九州北部地域の春季の粗大粒子の酸化能の変化を支配する要因の一つとして、可溶性のマンガン濃度が重要と考えられる。



**Fig. 3** 粗大粒子の DTT 消費率と粗大粒子に含まれる可溶性の (a)Fe、(b)Mn、(c)Cu、(d)V の大気中元素濃度との関係

先行研究 (Charrier and Anastasio, 2012) により明らかにされている溶液中の遷移金属イオン濃度と DTT 消費速度の関係に基づき、観測された可溶性の遷移金属の濃度から、可溶性遷移金属による DTT 消費率速度の見積もりを行った。Fig. 4a は、DTT 消費速度の見積もり値 (積み上げ棒グラフ) と実際に測定された DTT 消費率 (青線) の変化の比較を示す。DTT 消費率に対する Fe と V の寄与は、Mn と Cu の寄与と比べて、極めて小さいと見積もられた。測定された DTT 消費率に対して可溶性遷移金属によって説明できる DTT 消費速度の割合 (Fig. 4b) は、一つのサンプル (141%) を除いて、約 40-80% の範囲であり、黄砂イベント時には約 40% にまで低下する。この結果は、可溶性の Mn と Cu が、粗大粒子の酸化能に対して重要な役割を果たしていることを示すと同時に、粗大粒子の酸化能に対して大きな寄与を持つ化学成分が可溶性の Mn と Cu 以外に存在することが予想される。



**Fig. 4** (a) 2016 年春季の福岡市の大気中の粗大粒子に含まれる緩衝溶液 (pH7.4) に溶ける遷移金属 (Mn、Cu、Fe、V) の濃度から見積もられた DTT 消費率と実際に測定された DTT 消費率の変化の比較と、(b) 測定された DTT 消費率に対し可溶性遷移金属で説明できる割合の変化

## (2) 結膜炎調査

当大学研究倫理審査委員会の認証後、十分な説明を行い、計 4 名を登録した。経過中、涙液分泌不良により 1 人が離脱し、最終的には計 3 人の継続調査となった。涙液および洗眼液の採取はのべ 19 日間となった。

採取後、各サイトカインの測定について、片目分を使用して予備分析を実施した。今後、これらの結果をもとに本格的な分析を実施する予定である。

## <引用文献>

- ① Charrier, J. G., and Anastasio, C., On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals, *Atmos. Chem. Phys.*, 12, 9321-9333, 2012.

## 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 4 件)

- ① Uchiyama, A., Chen, B., Yamazaki, A., Shi, S., Kudo, R., Nishita-Hara, C., Hayashi, M., Abib, A., Matsunaga, T., Aerosol optical characteristics in Fukuoka and Beijing measured by integrating nephelometer and aethalometer: Comparison of source and downstream regions, *J. Meteorol. Soc. Jpn.*, 96, 215-240, 2018, 査読あり
- ② Kiriya, M., Okuda, T., Yamazaki, H., Hatoya, K., Kaneyasu, N., Uno, I., Nishita, C., Hara, K., Hayashi, M., Funato, K., Inoue, K., Yamamoto, S., Yoshino, A., Takami, A., Monthly and

diurnal variation of the concentrations of aerosol surface area in Fukuoka, Japan, measured by diffusion charging method, *Atmosphere*, 8, 114-, 2017, 査読あり

- ③ Ko R, Hayashi M, Hayashi H, Hayashi K, Kato H, Kurata Y, Fuchino Y, Nakamichi T, Migita H, Yano H, Sakata T, Uchio E., Correlation Between Acute Conjunctivitis and Asian Dust on Ocular Surfaces, *J. Toxicol. Environ. Health A*, 216, 367-75, 2016, 査読あり
- ④ 西田千春、黄砂とアレルギー、黄砂とアレルギー性結膜炎の関係解明に向けて、**アレルギーの臨床**、35、670-672、2015、査読なし

[学会発表] (計 5 件)

- ① 西田千春、平林幹啓、原圭一郎、林政彦、春季の福岡市における大気エアロゾル粒子の酸化能、第35回エアロゾル科学・技術研究討論会、2018年7月31日~8月2日、名古屋大学(愛知県名古屋市)
- ② Ryota Ko, Masahiko Hayashi, Miho Tanaka, Eiichi Uchio, Effects of Asian dust particles in a reconstructed cultured human corneal epithelial model, ARVO annual meeting 2018, 28 April-3 May 2018, Honolulu, USA.
- ③ 西田千春、原圭一郎、林政彦、福岡市における大気エアロゾル粒子濃度の変化とその要因、第33回エアロゾル科学・技術研究討論会、2016年8月31日~9月2日、大阪府立大学(大阪府堺市)
- ④ Ryota Ko, Masahiko Hayashi, Hideyuki Hayashi, Eiichi Uchio, The clinical characteristics of conjunctivitis related with Asian dust, ARVO annual meeting 2015, Denver, USA
- ⑤ 高良太、林政彦、林英之、内尾英一、林和恵、加藤整、蔵田善規、瀧野由起、中道俊文、右田博敬、矢野博子、坂田哲哉、黄砂における結膜炎の臨床所見の特徴についての分析、第119回日本眼科学会総会、2015年4月16日~18日、ロイトン札幌(北海道札幌市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西田 千春 (NISHITA, Chiharu)  
福岡大学・福岡から診る大気環境研究所・  
ポストドクター  
研究者番号：00572463

### (2) 研究分担者

内尾 英一 (UCHIO, Eiichi)  
福岡大学・医学部・教授  
研究者番号：70232840

### (3) 連携研究者

平林 幹啓 (HIRABAYASHI, Motohiro)  
国立極地研究所・特任助手  
研究者番号：20399356

原 圭一郎 (HARA, Keiichiro)  
福岡大学・理学部・助教  
研究者番号：10390593

林 政彦 (HAYASHI, Masahiko)  
福岡大学・理学部・教授  
研究者番号：50228590

### (4) 研究協力者

高 良太 (KO, Ryota)