

令和 2 年 7 月 7 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08396

研究課題名(和文) 大気中のバイオエアロゾルと喘息増悪の関係の解明

研究課題名(英文) Association of bioaerosol in outdoor air with asthma exacerbation

研究代表者

渡辺 徹志 (Watanabe, Tetsushi)

京都薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90182930

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：長期にわたり大気中のタンパク質とエンドトキシンモニタリングを行うとともに同期間に医療機関の救急外来を受診し、喘息発作と診断された患者について調査を行い、それらの大気中の濃度と喘息発作患者数との関係について解析した。その結果、大気中のエンドトキシン濃度が、喘息発作と関連することが報告されている気象要因を考慮しても、喘息発作患者数と有意な正の関連性を有することを明らかにした。一方、大気中のタンパク質濃度は喘息発作患者数と有意な関連性を示さなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、屋内でのアレルゲンタンパク質やエンドトキシンへのばく露が喘息増悪と関連することが明らかにされていたが、大気中のそれらの物質と喘息との関係については不明であった。本研究により、初めて大気中のエンドトキシン濃度と喘息発作患者数の間に有意な正の関連性があることを明らかにした。それらの吸入は、マスク等の着用により容易に防ぐことが可能であることから、本研究成果は喘息発作を予防に貢献することができるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：We measured the concentrations of airborne protein and endotoxin in outdoor air and analyzed the data on emergency department (ED) visits for asthma at medical centers for long period. Moreover, we collected data on meteorological factors that had been reported to be associated with asthma exacerbation. We examined the association of the levels of these substances and meteorological factors with the number of ED visits for asthma. The results of a Poisson regression analysis indicated that endotoxin was a significant factor for ED visits for asthma. On the other hand, there was no association between protein level and ED visits for asthma.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：リボポリサッカライド エンドトキシン タンパク質 大気 喘息

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息(喘息)は、アレルギー性の呼吸器疾患であり、本邦では小児および成人における喘息の有病率は、それぞれ約 10~15% および約 7% と高い。喘息患者は慢性の気道炎症を有しており、刺激により発作性の気道狭窄を起こす。そのため、喘息患者は呼吸困難により救急外来を受診することが多く、喘息発作の予防は患者の QOL を維持する上で非常に重要である。喘息発作の誘発因子として硫酸化物など人為的ガス状大気汚染物質や黄砂など浮遊粒子状物質などの影響について検討されてきたが、それらの物質と喘息発作の間で関連性がみられたという報告と、みられなかったという報告があり、それらの物質については、喘息発作との関連性の有無について結論が定まっていなかった。また、喘息発作と気温、湿度、気圧など気象因子との関連性についても報告されていたが、それらの関連性の有無についても結論は定まっていなかった。

一方、屋内でのアレルゲンタンパク質やエンドトキシンへのばく露について、喘息増悪と関連することを示す十分な証拠があると報告されていた。また、春季や秋季に日本に飛来する黄砂には微生物が付着し、黄砂飛散時に大気中の微生物数が増加することが報告されていた。これらのことから、大気中のタンパク質やエンドトキシンが喘息発作と関連する可能性が予想されたが、それらに関して世界的にも報告されていなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、大気中のタンパク質やエンドトキシンなど生物由来物質(バイオエアロゾル)と喘息発作の関連性を明らかにすることである。

3. 研究の方法

患者調査は、京都薬科大学、洛和会音羽病院(京都市)、福岡徳洲会病院(福岡県春日市)において倫理委員会の承認を得た後、実施した(京都薬科大学 承認番号 17-16-18、19-16-16、洛和会音羽病院 承認番号 16-018、福岡徳洲会病院 承認番号 280801)。各医療機関において匿名化した患者データについて、救急外来を受診し、喘息発作と診断された患者の受診日、性、年齢、主訴、診断結果、転帰を調査した。

京都薬科大学および福岡県保健環境研究所において大気粉塵を粒径 2.5 μm 以下の微小粒子とそれ以上の粗大粒子に分けて、1 週間分ずつハイポリウムエアサンプラーを用いて捕集した。各大気粉塵について 0.025% Tween20-注射用水(エンドトキシンフリー)を用いて超音波抽出を行った。得られた抽出液について、タンパク質およびエンドトキシンを、それぞれマイクロ BCA 法および LAL 試薬を用いたキネティック法により測定した。また、別途、各大気粉塵について精製水を用いて抽出し、各抽出液について水溶性イオンをイオンクロマトグラフ法により測定した。気象データとして気温、相対湿度、風速、気圧の値を気象庁ホームページより得た。

環境因子(大気中のタンパク質およびエンドトキシンの濃度、気温、相対湿度、風速等)と喘息発作患者数の関連性については、IBM SPSS Statistics Version 22 を用い、ポアソン回帰分析により解析した。 p 値が 0.05 より小さいとき統計的に有意と判断した。

4. 研究成果

(1) 京都市における大気中のタンパク質、エンドトキシンと喘息発作の関係

大気粉塵捕集期間に喘息発作のために洛和会音羽病院の救急外来を受診した患者の延べ人数を Fig. 1 に示す。全期間中の患者延べ人数は 490 人(小児 261 人、成人 229 人)であった。1 週間の患者数は 1 人から 15 人であり、患者数は秋季と春季に多かった。

京都薬科大学において捕集した微小粒子中のタンパク質濃度を Fig. 2 に示す。また、微小粒子中および粗大粒子中のエンドトキシンの濃度を Fig. 3 に示す。タンパク質とエンドトキシンは全ての試料から検出された。タンパク質濃度は、全期間にわたって、粗大粒子中(0.02~0.46 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)より微小粒子中(0.17~5.09 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)において顕著に高く、微小粒子中のタンパク質濃度は春季に高い週が多かった。一方、エンドトキシン濃度は、微小粒子中(0.00003~0.01279 EU/ m^3)より粗大粒子中(0.0004~0.0292 EU/ m^3)において高く、秋季(9月)に高濃度の週が多くみられた。

気温、相対湿度、風速および気圧の影響を考慮して、微小粒子中および粗大粒子中のタンパク質とエンドトキシンの各濃度と救急外来を受診した喘息発作患者数の関係をポアソン回帰分析した結果を Table 1 に示す。喘息発作により救急外来を受診した患者数と微小粒子中および粗大粒子中のエンドトキシン濃度の間に有意な正の関連性がみられた。一方、微小粒子中および粗大粒子中のタンパク質は、喘息発作患者数と有意な関連性はみられなかった。気象因子のうち、気温において喘息発作患者数と有意な関連性がみられた。

(2) 福岡都市圏における大気中のタンパク質、エンドトキシンと喘息発作の関係

大気粉塵捕集期間に喘息発作のために福岡徳洲会病院の救急外来を受診した小児患者(0~14 歳)と成人患者(15~64 歳)の延べ人数を Fig. 4 に示す。全期間中の小児患者および成人患者の延べ人数はそれぞれ 181 人および 143 人であった。小児の一週間ののべ患者数は、0 人から 16 人であり、患者は秋季と春季に多かった。一方、成人の一週間ののべ患者数は、0 人から 8 人であり、特に患者数が多い季節はみられなかった。

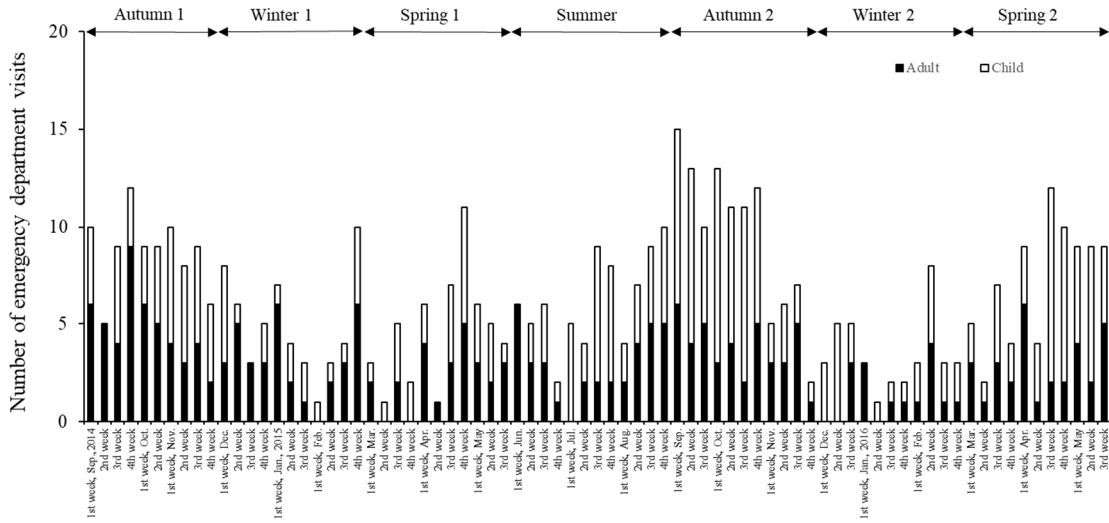


Fig. 1 Number of emergency department visits for asthma in Kyoto

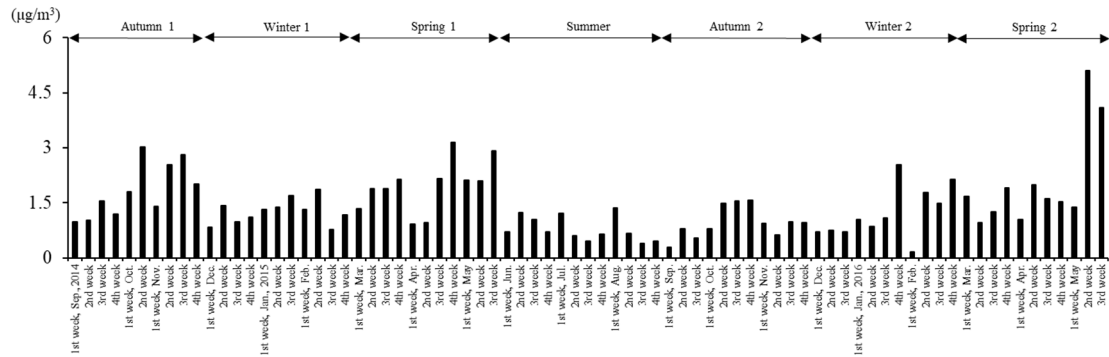


Fig. 2 Concentration of protein in fine particles in outdoor air in Kyoto

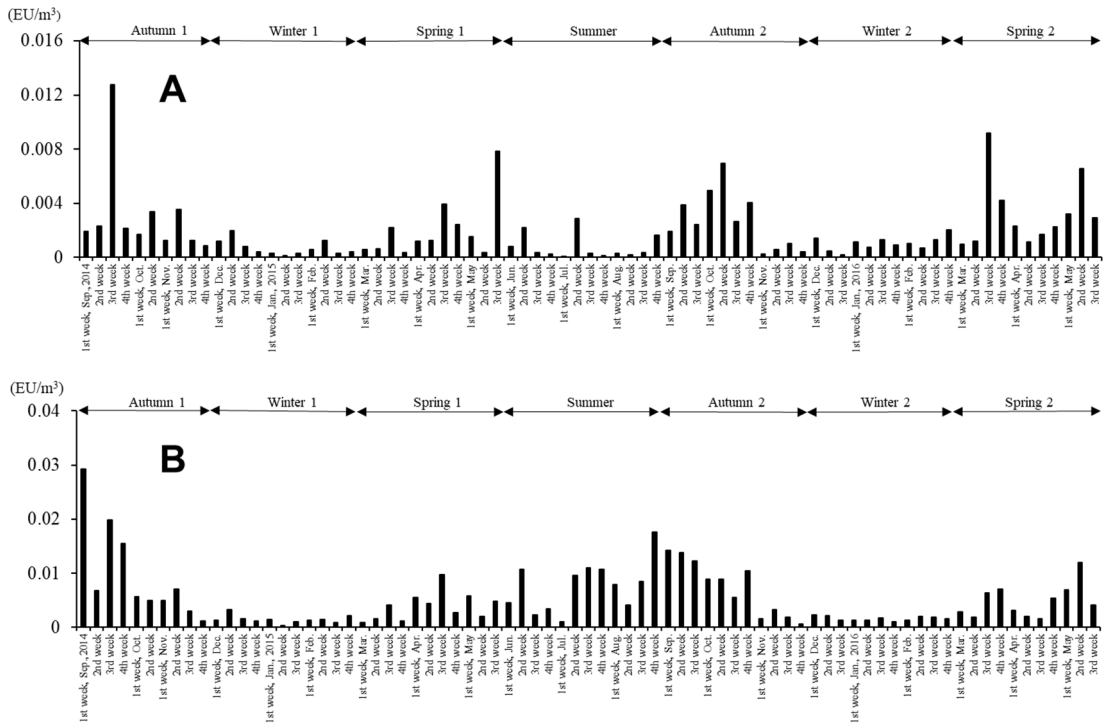


Fig. 3 Concentration of endotoxin in fine (A) and coarse (B) particles in outdoor air in Kyoto

Table 1 Poisson regressions of protein and endotoxin with meteorological factors on emergency department visits for asthma in Kyoto

Variable	Coef	SE	<i>p</i> value
Protein (fine particles) ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	0.032	0.062	0.609
Intercept	-16.566	16.538	0.317
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	0.046	0.01	<0.001
Relative humidity (%)	-0.002	0.009	0.823
Wind speed (m/s)	-0.170	0.172	0.324
Air pressure (hPa)	0.018	0.016	0.264
Endotoxin (fine particles) (EU/m^3)	59.792	20.907	0.004
Intercept	-18.42	16.674	0.269
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	0.043	0.010	<0.001
Relative humidity (%)	0.009	0.009	0.333
Wind speed (m/s)	-0.100	0.170	0.556
Air pressure (hPa)	0.019	0.016	0.242
Protein (coarse particles) ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	-1.011	0.702	0.150
Intercept	-12.459	16.738	0.457
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	0.019	0.01	<0.001
Relative humidity (%)	-0.004	0.007	0.588
Wind speed (m/s)	-0.186	0.168	0.270
Air pressure (hPa)	0.014	0.016	0.383
Endotoxin (coarse particles) (EU/m^3)	29.637	9.044	0.001
Intercept	-13.346	16.85	0.428
Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	0.030	0.011	0.007
Relative humidity (%)	-0.007	0.008	0.343
Wind speed (m/s)	-0.210	0.174	0.226
Air pressure (hPa)	0.015	0.016	0.349

Coef: regression coefficient, SE: standard error of the regression

Statistically significant: $p < 0.05$

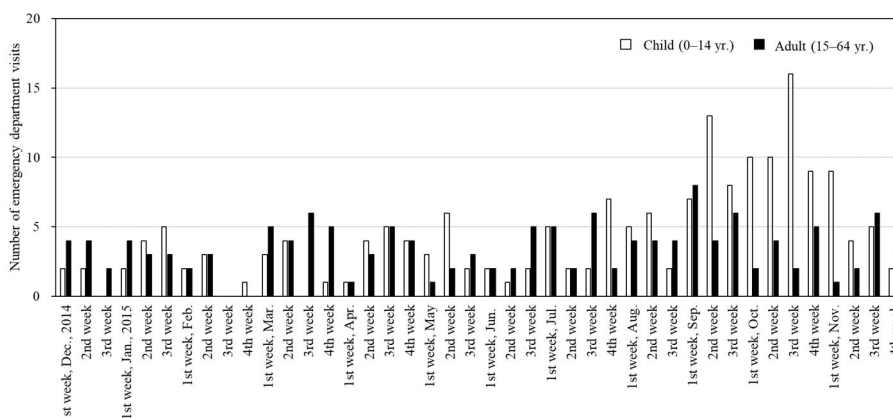


Fig. 4 Number of emergency department visits by children and adults for asthma in the Fukuoka metropolitan area

福岡県保健環境研究所において捕集した微小粒子中および粗大粒子中のタンパク質およびエンドトキシンの濃度を Fig. 5 に示す。タンパク質とエンドトキシンは全ての試料から検出された。タンパク質の濃度は、ほとんどの週で、粗大粒子中 ($0.04\text{--}1.41 \mu\text{g}/\text{m}^3$) より微小粒子中 ($0.34\text{--}7.33 \mu\text{g}/\text{m}^3$) において顕著に高かった。微小粒子中のタンパク質濃度は春季 (4 月と 5 月) と 6 月および 10 月に高い週がみられた。一方、エンドトキシン濃度は、微小粒子中 ($0.0010\text{--}0.0246 \text{EU}/\text{m}^3$) より粗大粒子中 ($0.0001\text{--}0.0132 \text{EU}/\text{m}^3$) において高く、秋季 (9 月、10 月) に高濃度の週が多かった。

気温、相対湿度および風速の影響を考慮して、微小粒子中および粗大粒子中のタンパク質とエンドトキシンの各濃度と救急外来を受診した小児および成人の喘息発作患者数の関係をポアソン回帰分析した結果を Table 2 に示す。小児患者数については、微小粒子中および粗大粒子中のエンドトキシン濃度と気温において有意な正の関連性がみられた。成人患者については、いずれの要因についても関連性がみられなかった。

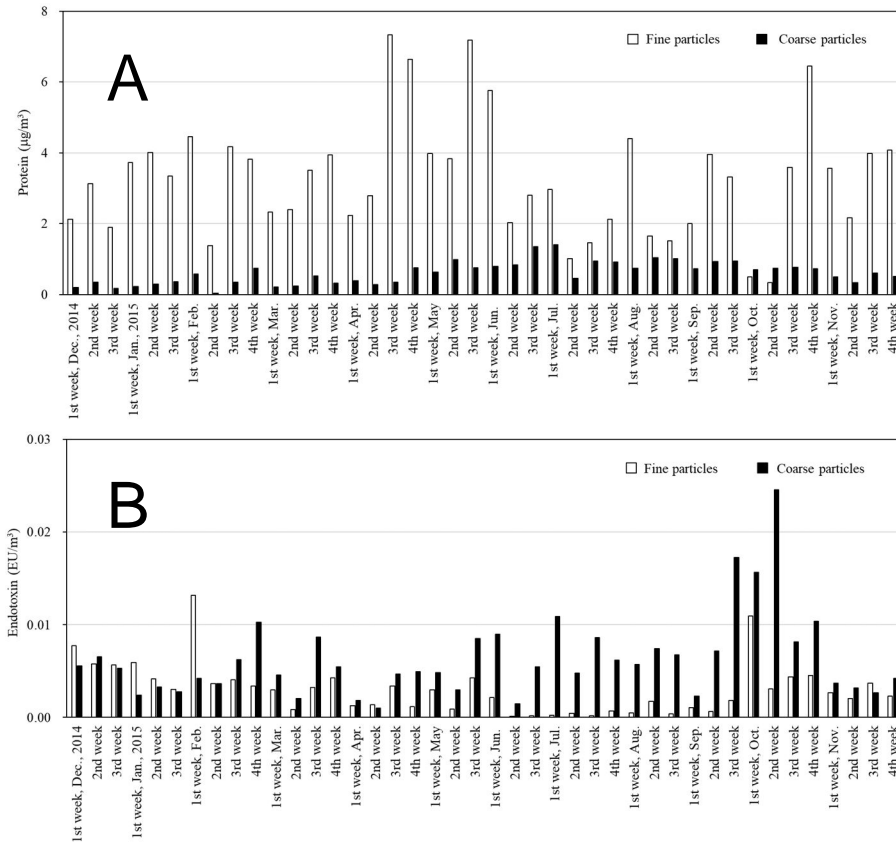


Fig. 5 Concentration of protein (A) and endotoxin (B) in fine and coarse particles in outdoor air in the Fukuoka metropolitan area

Table 2 Poisson regressions of protein and endotoxin with meteorological factors on emergency department visits by children and adults for asthma in the Fukuoka metropolitan area

Variables	Children			Adults		
	Coef	SE	<i>p</i> value	Coef	SE	<i>p</i> value
Protein (fine particles)	-0.034	0.047	0.476	0.021	0.054	0.700
Intercept	2.484	0.862	0.004	0.389	0.901	0.666
Temperature	0.040	0.014	0.003	0.023	0.016	0.143
Relative humidity	-0.009	0.009	0.301	-0.003	0.011	0.760
Wind speed	-0.339	0.157	0.031	0.202	0.149	0.175
Endotoxin (fine particles)	71.963	30.469	0.018	-30.256	42.140	0.473
Intercept	1.309	0.838	0.118	0.887	0.843	0.293
Temperature	0.051	0.015	<0.001	0.019	0.017	0.268
Relative humidity	-0.002	0.009	0.862	-0.006	0.010	0.531
Wind speed	-0.308	0.154	0.045	0.187	0.144	0.195
Protein (coarse particles)	0.010	0.388	0.979	0.495	0.456	0.277
Intercept	2.145	0.731	0.003	0.480	0.747	0.521
Temperature	0.039	0.016	0.016	0.011	0.019	0.556
Relative humidity	-0.007	0.090	0.420	-0.007	0.011	0.475
Wind speed	-0.313	0.165	0.058	0.258	0.158	0.101
Endotoxin (coarse particles)	38.909	14.483	0.007	14.265	19.056	0.454
Intercept	1.448	0.784	0.065	0.354	0.811	0.662
Temperature	0.033	0.014	0.020	0.020	0.016	0.207
Relative humidity	-0.003	0.009	0.750	-0.003	0.010	0.774
Wind speed	-0.230	0.155	0.140	0.214	0.148	0.149

Coef: regression coefficient, SE: standard error of the regression

Statistically significant: $p < 0.05$

(3) まとめ

本研究により大気中のエンドトキシンと喘息発作の間に関連性があることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Mohammad Shahriar Khan, Souleymane Coulibaly, Maho Abe, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Yusuke Nakaoji, Kawase Yumi, Takahiro Matsumoto, Tomohiro Hasei, Yuya Deguchi, Hiroaki Nagaoka, Nobuyuki Yamagishi, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe	4. 巻 41
2. 論文標題 Seasonal Fluctuation of Endotoxin and Protein Concentrations in Outdoor Air in Sasebo, Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 115-122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b17-00745	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mohammad Shahriar Khan, Souleymane Coulibaly, Takahiro Matsumoto, Yoshitaka Yano, Makoto Miura, Yukio Nagasaka, Masayuki Shima, Nobuyuki Yamagishi, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe	4. 巻 23
2. 論文標題 Association of airborne particles, protein, and endotoxin with emergency department visits for asthma in Kyoto, Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Environmental Health and Preventive Medicine	6. 最初と最後の頁 41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12199-018-0731-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mohammad Shahriar Khan, Yuya Deguchi, Takahiro Matsumoto, Hiroaki Nagaoka, Nobuyuki Yamagishi, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe	4. 巻 42
2. 論文標題 Relationship of Asian dust events with atmospheric endotoxin and protein levels in Sasebo and Kyoto, Japan, in spring	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1713-1719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b19-00383	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tomoko Ishida, Mohammad Shahriar Khan, Honami Kodama, Yukiko Uejima, Yumi Kawase, Takahiro Matsumoto, Yuki Yamamura, Nobuyuki Sera, Takao Gotou, Masaaki Hirakawa, Yoshitaka Yano, Masayuki Shima, Nobuyuki Yamagishi, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe	4. 巻 43
2. 論文標題 Association of protein and endotoxin in outdoor air with emergency department visits for children and adults with asthma in Fukuoka, Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Mohammad Shahriar Khan, Takahiro Matsumoto, Tetsushi Watanabe et al.
2. 発表標題 Association between atmospheric air pollutants and emergency department child patients visits for asthma in Sasebo, Japan
3. 学会等名 フォーラム2019 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mohammad Shahriar Khan, Takahiro Matsumoto, Tetsushi Watanabe et al.
2. 発表標題 Relationship of atmospheric protein, endotoxin, and meteorological factors with emergency department visits for asthma in Kyoto, Japan
3. 学会等名 第31回微生物シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mohammad Shahriar Khan, Souleymane Coulibaly, Takahiro Matsumoto, Yoshitaka Yano, Makoto Miura, Yukio Nagasaka, Masayuki Shima, Nobuyuki Yamagishi, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe:
2. 発表標題 Relationship between Atmospheric Environmental Factors and Emergency Department Visits for Asthma in Kyoto, Japan.
3. 学会等名 フォーラム2018衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 出口のぞみ、河瀬裕美、永縄壮一郎、北川貴大、Mohammad Shahriar Khan、三浦 誠、長坂行雄、松本崇宏、渡辺徹志
2. 発表標題 京都市における大気粉塵中のエンドトキシン等の濃度と喘息患者数の関連性
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永縄壮一郎、北川貴大、出口のぞみ、岡橋和佳奈、Mohammad Shahriar Khan、山村由貴、世良暢之、後藤貴央、平川雅章、松本崇宏、渡辺徹志
2. 発表標題 春季及び秋季の九州北部における大気粉塵中のエンドトキシン、タンパク質、イオンの定量分析
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北川貴大、出口のぞみ、永縄壮一郎、Mohammad Shahriar Khan、高橋亮平、松岡洋平、島 正之、松本崇宏、渡辺徹志
2. 発表標題 姫路市における大気粉塵中のエンドトキシン、タンパク質等と喘息発作との関連性
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺徹志
2. 発表標題 大気粉塵の化学・生物学的成分による汚染とその生体影響
3. 学会等名 第44回日本毒性学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mohammad Shahriar Khan, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Yusuke Nakaoji, Yumi Kawase, Tomohiro Hasei, Takahiro Matsumoto, Yoshitaka Yano, Yuya Deguchi, Hiroaki Nagaoka, Makoto Miura, Yukio Nagasaka, Nobuyuki Yamagishi, Tetsushi Watanabe
2. 発表標題 Seasonal Fluctuation of the Concentrations of Endotoxin, Protein and Ionic Substances in Outdoor Air and their Effect on Asthmatic Patients.
3. 学会等名 フォーラム2017衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡辺徹志、Khan Mohammad Shahriar、古川奈美、久保裕希、中大路友亮、河瀬裕美、長谷井友尋、松本 崇宏、出口 雄也、長岡 寛明、山岸 伸行
2. 発表標題 西日本における大気中のタンパク質、エンドトキシン、イオン類の濃度の季節的変動と長距離輸送の影響.
3. 学会等名 第58回大気環境学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	長谷井 友尋 (Hasei Tmohiro) (10388027)	大阪薬科大学・薬学部・准教授(移行) (34413)	
研究分担者	松本 崇宏 (Matsumoto Takahiro) (30780431)	京都薬科大学・薬学部・助教 (34306)	
連携研究者	矢野 義孝 (Yano Yoshitaka) (60437241)	京都薬科大学・薬学部・教授 (34306)	