

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20614

研究課題名（和文）サイクロン装置で採取した公共的屋内空間中PM2.5の生体影響と影響決定成分の同定

研究課題名（英文）Health effects of indoor PM2.5 collected by cyclone technique

研究代表者

高野 裕久（Takano, Hirohisa）

京都大学・地球環境学堂・研究員

研究者番号：60281698

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：地下鉄粒子は、屋外粒子と比較して、鉄や銅成分を豊富に含むことを示し、化学形態や組成も明らかにした。これらの成分は、呼吸器系、アレルギー・免疫系、循環器系に影響を及ぼしうることで、また、喘息病態や感染病態を悪化させる可能性が示唆され、そのメカニズムとして、気道上皮細胞、抗原提示細胞、血管内皮細胞に対する、催炎症、抗原提示能の増加、細胞死、DNA損傷等が関与している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日常生活において我々が屋外より多くの時間を過ごす屋内については、PM2.5の濃度、発生源、成分、その健康影響に関する知見は乏しかった。

本件研究成果により、屋内の粒子の成分特性、影響特性を明らかにした。呼吸器系、アレルギー・免疫系、循環器系への健康影響が無視できず、成分によっては、屋外より強い可能性もあることを指摘した点が、学術的にも社会的にも意義深い。

研究成果の概要（英文）：We showed that subway particles contain more iron and copper components than outdoor ambient particles, and we also clarified their chemical composition as well as the form of the metals. These components may affect the respiratory system, allergy/immune system, and circulatory system, and can also exacerbate asthma and infectious pathologies. As the underlying mechanisms, the components can contribute to the enhancement of inflammatory response, antigen presenting ability, cell death, and DNA damage in airway epithelial cells, antigen-presenting cells and vascular endothelial cells.

研究分野：環境医学

キーワード：サイクロン PM2.5 公共的屋内空間 生体影響 影響成分

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

微小粒子状物質(PM2.5)による大気汚染とその健康影響は、今なお世界中で危惧されている。我が国においては、大気中 PM2.5 の環境基準達成率は改善傾向にあり、高濃度イベントも減少し、量的問題は解決されつつある。しかし、PM2.5 の発生源や構成成分は多様であり、二次変化による修飾も加わるため、健康影響に関わる質的な問題の解決には至っていない。加えて、我々が日常生活でより多くの時間を過ごす屋内における PM2.5 の濃度や、発生源、構成成分、そして、その健康影響に関する知見は極めて乏しい。

屋内空間の中で、多くの人々が利用し、その場で呼吸をしている、公共的、閉鎖的空間の代表として地下鉄構内に注目し、PM2.5 の濃度測定や構成成分分析を実施した。その結果、驚くべきことに、地下鉄構内における PM2.5 は、屋外大気中の 2-5 倍という高濃度を示した (J Jpn Soc Atmos Environ, 2019)。このように、公共的な屋内空間において、大気中とは構成成分が異なる大量の PM2.5 が、多くの人々に曝露されているという実体が明らかになった。しかし、その結果として生ずる健康影響に関しては、全く検討が進んでいない。

### 2. 研究の目的

本研究では、サイクロン技術を適用した先進的装置を用い、公共的屋内空間で PM2.5 を採取する。成分分析を実施し、元素量のみならず、化学形態や組成を明らかにするとともに、地下鉄構内の粒子状物質成分が、粒子状物質に対して脆弱性を有する呼吸器系、アレルギー・免疫系、循環器系への影響を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 地下鉄粒子の捕集、成分分析

ある鉄道会社の Z 駅構内にて、フィルターおよびサイクロンを用いて地下鉄粒子を採取した。採取した粒子はエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置による元素分析に加え、シンクロトロン放射光を用いた X 線吸収端近傍構造解析による化学構造解析を行った。サイクロンの分級性能は、ポリスチレンラテックス粒子を発生させた上で、その粒径毎の捕集効率を微分型電気移動度測定装置および凝縮粒子カウンターを用いて測定した。

#### (2) 酸化鉄・酸化銅粒子が気道上皮細胞、抗原提示細胞、血管内皮細胞に及ぼす影響

ヒト気道上皮細胞 (A549、BEAS-2B)、抗原提示細胞 (ヒト単球細胞 (THP-1)、NC/Nga マウスから単離した骨髄由来抗原提示細胞)、ヒト正常血管内皮細胞 (HUVEC) に、酸化銅粒子、酸化鉄粒子、屋外の実環境中粒子である自動車排出粒子と都市大気粉塵を曝露し、活性酸素種 (ROS) 産生、DNA 損傷・応答タンパク質、培養上清中の炎症性サイトカイン、細胞障害性、線溶系調節因子および血管収縮に関わる分子を測定した。また、骨髄由来抗原提示細胞、正常血管内皮細胞においては、オボアルブミン (OVA) あるいは、リポポリサッカライド (LPS) 存在下での細胞応答も測定した。

#### (3) 酸化鉄粒子の単回経気道曝露が呼吸器系・免疫系に及ぼす影響

ICR マウスの気管内に酸化鉄粒子を 1 回投与し、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の好中球、リンパ球浸潤、炎症を評価し、組織学的検索により、DNA 損傷の局在を調べた。

#### (4) 酸化鉄粒子が気管支喘息モデルマウス、感染症モデルマウスに及ぼす影響

BALB/c マウスの気管内に酸化鉄粒子とオボアルブミン (OVA) を 4 回投与し、肺の炎症領域における好酸球数、気道粘液の産生、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の Th2 サイトカインや炎症性サイトカインの濃度、肺における CD86 の発現量、2 型自然リンパ球 (ILC2) 数を評価した。また、肺組織中 CD11c 陽性細胞を単離し、ラマン顕微鏡によって細胞内粒子の分布を観察した。ICR マウスの気管内に酸化鉄粒子とリポポリサッカライド (LPS) を 1 回投与し、BALF あるいは血漿中の好中球、リンパ球浸潤や細胞死、炎症を評価し、組織学的検索も行った。

## 4. 研究成果

### (1) 地下鉄粒子の成分分析

X線吸収微細構造解析(XAFS)を実施し、屋外大気粒子ではCu(II)の割合が多かった。また、地下鉄構内ではFe(II)とFe(III)の化学形態が異なる可能性を示した。ラマン顕微鏡による観察によって、地下鉄構内粒子は、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ および $\text{Fe}_3\text{O}_4$ が炭素と共に存在することが分かった。また、屋外大気粒子ではCu(II)の割合が多かったが、地下鉄構内ではCu(I)が存在する可能性が示された。Znに関しては、ほぼ全てがZn(II)であることは屋内外で共通したが、化学形態は異なる可能性が示された。一方、小型開閉型サイクロン装置における粒子の粒径毎の捕集効率も明らかにした。

### (2) 酸化鉄・酸化銅粒子が気道上皮細胞、抗原提示細胞、血管内皮細胞に及ぼす影響

地下鉄粒子の成分であるCuOと $\text{Cu}_2\text{O}$ 粒子を、ヒト肺基底上皮腺癌細胞A549、およびヒト単球系白血病細胞株THP-1から分化誘導したマクロファージ様細胞に曝露した。その結果、何れの場合でもCuOと比較して $\text{Cu}_2\text{O}$ の方が強い細胞障害性を示した。また、土壌粒子および一般環境大気粒子とその主要成分である硫酸アンモニウムを同条件でA549細胞に曝露した。その結果、曝露粒子の違いにより細胞生存率およびその細胞障害プロセスが異なることが確認された。

酸化鉄粒子( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )を気道上皮細胞、骨髄由来抗原提示細胞、血管内皮細胞に曝露した。気道上皮については、細胞活性が低下し、催炎症・酸化ストレスに関連する遺伝子や鉄イオンの細胞内取り込みに関連する遺伝子の発現が増加した。DNA損傷マーカーH2AXの発現を評価したところ、未曝露群と比較してH2AXの発現上昇が認められた。

抗原提示細胞については、アレルゲンである卵白アルブミン(OVA)存在下で、炎症性サイトカインの増加が確認された。血管内皮細胞については、細胞活性の低下、乳酸脱水素酵素の上昇、催炎症性サイトカインの上昇、線溶系調節因子および血管収縮に関わる分子の変動が認められた。

リポポリサッカライド(LPS)存在下において、血管内皮細胞に酸化鉄粒子を曝露したところ、酸化鉄粒子は、細胞障害性や炎症誘導を増強した。特に、抗原提示細胞や血管内皮細胞における炎症応答あるいは細胞死は、屋外大気粒子と比べて影響が強い傾向にあった。鉄化合物による相違も認められた。

### (3) 酸化鉄粒子の単回経気道曝露が呼吸器系・免疫系に及ぼす影響

マウスに酸化鉄粒子を気管内投与した結果、気管支肺胞洗浄液中総細胞数、マクロファージ数、好中球数およびサイトカイン産生量の増加が認められた。DNA損傷応答を観察したところ、気管支上皮細胞におけるH2AXの発現増加傾向が見られた。

### (4) 酸化鉄粒子が気管支喘息モデルマウス、感染症モデルマウスに及ぼす影響

OVAを用いた喘息モデルマウスやLPS感染症モデルマウスを用いて、酸化鉄粒子の経気道曝露が病態形成に及ぼす影響を検討した。喘息モデルでは、酸化鉄粒子によって、好酸球数、杯細胞の増殖、Th2サイトカインの上昇が認められた。特に、好酸球数やTh2サイトカイン濃度は、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ の方が $\text{Fe}_3\text{O}_4$ よりも高値を示した。肺におけるCD86陽性細胞数、2型自然リンパ球(ILC2)数は、OVA存在下で酸化鉄粒子により増加し、特に $\text{Fe}_3\text{O}_4$ により有意に増加した。共焦点ラマン顕微鏡を用いて、肺組織中のCD11c陽性細胞内の解析をしたところ、 $\text{Fe}_2\text{O}_3$ や $\text{Fe}_3\text{O}_4$ が検出された。LPS感染症モデルでは、酸化鉄単独曝露と比較して、細胞死、炎症、好中球、リンパ球浸潤が亢進し、血管周囲に炎症細胞および浮腫が確認された。

総じて、地下鉄粒子は、屋外粒子と比較して、鉄や銅成分を豊富に含むことを示し、化学形態や組成の異同についても明らかにした。これらの成分は、呼吸器系、アレルギー・免疫系、循環器系に影響を及ぼしうることで、また、喘息病態や感染病態を悪化させる可能性が示唆され、そのメカニズムとして、気道上皮細胞、抗原提示細胞、血管内皮細胞に対する、催炎症、抗原提示能の増加、細胞死、DNA損傷等が関与している可能性が考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Watanabe H, Honda A, Ichinose T, Ishikawa R, Miyasaka N, Nagao M, Wang Z, Owokoniran OH, Qiu B, Higaki Y, Liu W, Okuda T, Matsuda T, Takano H	4. 巻 -
2. 論文標題 Ferruginous components of particulate matters in subway environments, -Fe2O3 or Fe3O4, exacerbates allergies (in press)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nishita-Hara Chiharu, Nakano Kohei, Iwata Ayumi, bin Mohd Nor Muhammad Aiman, Mori Tatsuhiro, Youn Hyunwoo, Okuda Tomoaki	4. 巻 58
2. 論文標題 Development of an openable small cyclone for atmospheric particulate matter sampling for toxicological experiments	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Aerosol Science and Technology	6. 最初と最後の頁 681 ~ 693
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/02786826.2024.2322680	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 Okamoto Takuma, Iwata Ayumi, Yamanaka Hiroko, Ogane Kako, Mori Tatsuhiro, Honda Akiko, Takano Hirohisa, Okuda Tomoaki	4. 巻 24
2. 論文標題 Characteristic Fe and Cu Compounds in Particulate Matter from Subway Premises in Japan and their Potential Biological Effects	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Aerosol and Air Quality Research	6. 最初と最後の頁 230156 ~ 230156
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4209/aaqr.230156	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 Hagino Hiroyuki, Iwata Ayumi, Okuda Tomoaki	4. 巻 15
2. 論文標題 Iron Oxide and Hydroxide Speciation in Emissions of Brake Wear Particles from Different Friction Materials Using an X-ray Absorption Fine Structure	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Atmosphere	6. 最初と最後の頁 49 ~ 49
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/atmos15010049	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 Jing Weidong, Nakano Kohei, Shen Zhenxing, Okuda Tomoaki	4. 巻 31
2. 論文標題 Optimization of the QuEChERS extraction method to determine Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in powder aerosol particles collected by cyclone	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Environmental Technology & Innovation	6. 最初と最後の頁 103141 ~ 103141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.eti.2023.103141	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 Alimov Zikrilla Bobamuratovich, Youn Hyunwoo, Iwata Ayumi, Nakano Kohei, Okamoto Takuma, Sasaki Ayaha, Katori Takuya, Okuda Tomoaki	4. 巻 16
2. 論文標題 Comparison of the Chemical Characteristics and Toxicity of PM2.5 Collected Using Different Sizes of Cyclones	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Atmospheric Environment	6. 最初と最後の頁 103 ~ 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5572/ajae.2022.062	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 Youn Hyunwoo, Miki Kenji, Iwata Ayumi, Okuda Tomoaki	4. 巻 17
2. 論文標題 Estimation of particle size distributions in the atmosphere-analysis of Fe and Ca particles as the representative examples	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Asian Journal of Atmospheric Environment	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s44273-023-00002-z	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 Jing Weidong, Saito Katsutomo, Okamoto Takuma, Saito Hibiki, Sugimoto Kazuki, Nishita-Hara Chiharu, Hara Keiichiro, Hayashi Masahiko, Hasegawa Shuichi, Okuda Tomoaki	4. 巻 16
2. 論文標題 Characterization of Elemental Composition and Valence State of Cyclone-collected Aerosol Particles Using EDXRF and XAFS at Three Sites in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Atmospheric Environment	6. 最初と最後の頁 40 ~ 58
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5572/ajae.2021.137	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14件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Jing W, Nakano K, Shen Z, Okuda T
2. 発表標題 Optimized QuEChERS method for effective extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in powder aerosol particles collected by cyclone
3. 学会等名 13th Royal Society of Chemistry-Tokyo International Conference (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Okuda T
2. 発表標題 Recent Advances in Aerosol Particle Toxicity Evaluation using Cyclone Collection followed by Exposure Experiments For a Better Understanding of Air Pollution in East Asia (3rd)
3. 学会等名 66th Annual Meeting of KOSAE, BPEX, Busan, Republic of Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石川良賀、市瀬孝道、高野裕久
2. 発表標題 地下鉄空間における粒子状物質の主成分である酸化鉄の遺伝子毒性・アレルギー応答
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Owokoniran OH, Honda A, Ishikawa R, Nagao M, Miyasaka N, Wang Z, Takai S, Omori I, Zhang K, Watanabe H, Takano H
2. 発表標題 Exposure To Subway Particles' Components Induced Endothelial Dysfunction
3. 学会等名 Kyoto University International Symposium 2023 on Education and Research in Global Environmental Studies in Asia (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 檜垣有哉、石川良賀、本田晶子、市瀬孝道、松田知成、高野裕久
2. 発表標題 粒子状物質による呼吸器系におけるDNA損傷の評価
3. 学会等名 日本環境変異原ゲノム学会第52回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥田知明、藤谷雄二、久保優、牧輝弥、志波優、能田淳、黒田悦史、本田晶子、高野裕久、石原康宏
2. 発表標題 エアロゾル粒子のヘテロ性が及ぼす健康影響機序の体系的学理の構築
3. 学会等名 第40回エアロゾル科学・技術研究討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Owokoniran OH, Honda A, Ishikawa R, Nagao M, Miyasaka N, Wang Z, Takai S, Omori I, Zhang K, Watanabe H, Takano H
2. 発表標題 Effects of Subway Particulate Matter Component on Vascular Endothelial Cells
3. 学会等名 第50回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石川良賀、檜垣有哉、渡邊ヒカリ、本田晶子、市瀬孝道、高野裕久
2. 発表標題 地下鉄で発生する粒子状物質の主成分である酸化鉄微粒子の生体影響
3. 学会等名 第50回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ogane, K., Iwata, A., Okuda, T.
2. 発表標題 Measurement for investigating aerosol toxicity, using centrifugal classification of suspended particles for cell exposure and in vitro evaluation using THP-1 macrophages
3. 学会等名 American Association for Aerosol Research 40th Annual Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 檜垣有哉、石川良賀、本田晶子、長尾慧、市瀬孝道、高野裕久
2. 発表標題 酸化鉄粒子が呼吸器細胞に与える影響
3. 学会等名 第29回日本免疫毒性学会学術年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊ヒカリ、王造時、Owokoniran Oluwatoyin Hannag、本田晶子、石川良賀、大森一生、松本紘武、張珂瑞、檜垣有哉、森本千尋、玉台亮太、奥川友裕、宮坂奈津子、長尾慧、高野裕久
2. 発表標題 地下鉄構内における粒子状物質成分が抗原提示細胞に及ぼす影響
3. 学会等名 第93回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本拓真、岩田歩、奥田知明
2. 発表標題 金属標準粒子を用いたヒト肺胞基底上皮腺癌細胞 (A549) の応答性評価
3. 学会等名 第62回大気環境学会年会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 齋藤克知、奥田知明、長谷川就一、西田千春、原圭一郎、林政彦
2. 発表標題 サイクロン法で採取された粒子中遷移金属のXAFSによる化学状態解析
3. 学会等名 第37回エアロゾル科学・技術討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉本和貴、奥田知明、長谷川就一、西田千春、原圭一郎、林政彦
2. 発表標題 AA (ascorbic acid) assay を用いた酸化能測定におけるアスコルビン酸の酸化メカニズムの解明
3. 学会等名 第37回エアロゾル科学・技術討論会
4. 発表年 2020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	奥田 知明  (Okuda Tomoaki)  (30348809)	慶應義塾大学・理工学部(矢上)・教授    (32612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------