

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 31 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590969

研究課題名（和文）妊娠中の大気汚染曝露による喘息発症要因の母子間伝達とその制御機構

研究課題名（英文）Mechanisms of the increased maternal transmission of neonatal asthma risks by exposure to air-pollution.

研究代表者

濱田 薫 (HAMADA KAORU)

奈良県立医科大学・医学部・教授

研究者番号 80228535

研究成果の概要（和文）：気管支喘息などアレルギー疾患は世界的に増加している。大気汚染はその重要な発症要因の一つである。妊娠中の大気汚染曝露が小児アレルギー疾患発症の抗原非特異的危険因子となるか否かについてマウスモデルで検討した。大気汚染として石油燃焼灰燼の影響はすでに報告したが、室内気汚染（ホルムアルデヒド、タバコ煙）についても、妊娠中の曝露で仔マウスは喘息病態を発症しやすくなることが示された。曝露により新生児期の免疫状態に Th2 優位な状態が遷延することが認められ、また、タバコ煙による喘息感受性亢進は、成熟後でも認められることがある。これらの解明のためアジュバントを用いない経気道感作モデルや、感作抗原用量を低減させたより洗練された研究モデルを開発した。喫煙曝露では直接曝露の影響を受ける気道や肺の上皮障害は DNA のメチル化を促進すると言われ、妊娠中の環境がエピジェネティクス変異の機構を介して次世代以降に影響する可能性もある。今後の課題である。

研究成果の概要（英文）：Increased incidence of asthma and other allergic diseases are the worldwide problem. Air-pollution is recognized as one of the important factor for pathogenesis of asthma. We have investigated whether exposure to air-pollution such as oil fly as, formaldehyde and tobacco smoking during pregnancy can contribute to development of asthma in the offspring. Data indicated neonatal mice from mothers exposed to pollutants before delivery could express asthma manifestation by the suboptimal sensitization. As the mechanism(s), these mice showed the persistent Th2-dominant immune profile after birth. Contribution of epigenetics to this maternal transmission or transplacental effect of asthma susceptibility should be clarified.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：気管支喘息 大気汚染 喫煙 Th2 サイトカイン エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

気管支喘息をはじめとするアレルギー疾患は世界的な増加傾向にあり、とりわけ小児アレルギーの増加は顕著である。アレルギー疾患の発症、進展には遺伝、環境因子が複雑に関与していると考えられるが、近年の急激な罹患率の上昇は、環境因子の関与を強く疑わせる。中でも、大気汚染は疫学的研究において気管支喘息の発症、増悪に関与する重要な環境因子の一つとされている。妊娠中の母親の喫煙が小児の喘息発症の危険因子の一つであるとされ、出生後のみではなく胎児期の環境の重要性が広く認識されている。しかし、妊娠中の大気汚染曝露が胎児に及ぼす影響についての報告は乏しく、小児のアレルギー疾患発症の危険因子となり得るか否かについて、その機序も含めた詳細は不明である。これまでに妊娠マウスに対する遊粒子状大気汚染の主因の一つである石油燃焼灰燼の曝露が、出生後の乳幼児の抗原感作、喘息発症に促進的な作用を示すことを証明し(Hamada K et al J Environ Health A 2007)、母親の要因以上に大気汚染粉塵が胎児に影響する可能性を示してきた。

2. 研究の目的

妊娠中の大気汚染曝露の次世代への影響について、より広く社会に対して発信するための基礎的事象の集積と、その予防あるいは治療的介入を目標とした応用について研究することを目的とする。対象として最も身近な室内気汚染物であるタバコ煙を中心に研究する。

3. 研究の方法

(1)大気汚染曝露モデル（腹腔内感作モデル）

正常妊娠 Balb/c マウスへの大気汚染物質曝露：妊娠後期の出生 1, 3, 5 日前に 0.2% ホルマリン液あるいはたばこ 2 本分の主流煙溶出液をエロソール曝露した。出生した仔マウスに対し 3 日齢で卵白アルブミン(OVA) 5 μ g +alum 1mg を腹腔内投与、2 および 5 週齢で 3 日間抗原溶液 1% OVA 溶液をエロソール曝露し、その後に喘息病態を評価した。

(2)喘息病態の評価

喘息病態の評価は①気道過敏性（非侵襲的

BUXCO プレチスモグラフィシステムを用いて、メサコリン濃度上昇に伴う気道抵抗を測定し気道過敏性の指標とした)、②アレルギー性気道炎症（気管支肺胞洗浄液(BALF)を施行し、好酸球数を測定。その後、肺組織を用いて気道や血管周囲の好酸球浸潤の程度および杯細胞の過形成等を評価)③血清中の抗原特異的 IgE 産生 (ELISA 法にて測定)

(3)大気汚染曝露モデル（経気道感作モデル）

出生した仔マウスの生後 4 日齢から 10 日間 1%卵白アルブミン(OVA)を 1 日 10 分間ずつエロソール曝露し抗原感作を行った。Adjuvant を用いない新生児期の経気道的反復曝露（経気道感作）が十分に成立せず、その後の抗原曝露によっても喘息病態を呈さないことはすでに報告している (Hamada K et al 1999 Am J Respir Crit Care Med)。これらの仔マウスに対し 5 週齢で 0.1%OVA 溶液を 3 日間(10 分間/日) エロソール曝露し、その後に喘息病態を評価した。

(4)機序へのアプローチ：

機序の解明のために生後 2 日齢の脾細胞から mRNA を抽出し PCR array 法によりサイトカインその他の発現の差異を検討した (Harvard 大学 Kobzik 教授に依頼)。また 2 日齢の仔マウスおよび母親の血清中のサイトカインを Multi-ELISA 法 (SA-Bioscience 社)にてスクリーニングし、一部のサイトカインは感作中 (7 日齢) および抗原チャレンジ後にも測定し経過を検討した

新生児マウスの脾細胞の RNA 解析および新生児の血清中の各サイトカインの変動を評価した。

また、妊娠中の曝露による影響が生後どれ位持続するかを調べる目的で感作を成熟後に行い変化を検討した。

4. 研究成果

1) 腹腔内感作モデル

妊娠中にタバコ主流煙溶出液に曝露された母親マウスの仔マウス (CSE 群) は、3 日齢での 1 回の感作によっても著しい喘息病態を呈した。

2) 経気道感作モデル

出生した仔マウスに 4 日齢から 13 日齢ま

で連続して1%抗原溶液のエロソール曝露を行うと（アジュバントを用いない局所感作＝経気道感作）、反応はやや弱いもののCSE群でのみ喘息病態を呈した。

3) サイトカイン産生能

これらの群では脾細胞のIL-4、CTLA4、TGF- β など発現が亢進しており、曝露が胎児・新生児期の免疫状態に関与することが示された。また、血清ではIL-4、IL-5、IL-12、IL-13、IL-17、IL-23、IFN- γ が対照に比して高値であり、特に母親の血清値に比してIL-17の増加が目立っており機序への関与が疑われた。

CSE群の喘息感受性は生後何週齢まで保たれるかを検討したところ、4週齢後から感作を開始した今回の結果では、CSE群では気道過敏性を認めたが、その他の指標は変動が大きく有意な差異を認めなかった。しかし、マウスモデルの感作抗原用量を減じる（x1/5-1/10）と生理学的評価ではCSE群は成熟後も感作されやすく気道過敏性を示しやすい可能性が示されたのみならず病理学的にも血清学的にも差異が示される結果となった。Preliminaryな結果であり経時的な変化を慎重に検討する必要がある。喫煙曝露において、直接曝露を受ける気道や肺の上皮障害はDNAのメチル化を促進すると言われている。特に遷延する気道過敏性亢進についてIL-4、IL-13領域のepigeneticな遺伝子変化について検討される必要がある。

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1件）

T Kawaguchi, M Sho, T Tojo, I Yamato, T Nomi, K Hotta, K Hamada, Y Suzaki, S Sugiura, K Kushibe, Y Nakajima, S Taniguchi Clinical Significance of Prostate Stem Cell Antigen Expression in Non-small Cell Lung Cancer. Japanese Journal of Clinical Oncology 40 (4) 319-326; 2010 (2010年4月 査読有り)

〔学会発表〕（計2件）

1) Hamada K, Suzaki Y, Kimura H Exposure of pregnant mice to cigarette smoke extract increases asthma susceptibility in offspring 日本呼吸器学会学術講演会 2010年4月25日（京都市）

2) 濱田 薫, 須崎康恵, 木村 弘 篠義人 胎児期の室内空気汚染曝露が喘息発症に及ぼす影響についての検討 第18回日本臨床環境医学会学術集会 2009年7月3-4日（岡山市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者：

濱田 薫 (HAMADA KAORU)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：80228535

(2) 研究分担者

木村 弘 (KIMURA HIROSHI)
奈良県立医科大学・医学部・教授
研究者番号 20195374

庄 雅之 (SHO MASAYUKI)
奈良県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号 50364063

須崎康恵 (SUZAKI YASUE)
奈良県立医科大学・医学部・助教
研究者番号 30382302

(3) 連携研究者

なし