

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：32660

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560034

研究課題名(和文)イオン放出型の空気清浄機による生体影響のメカニズム解明と安全な使用のための研究

研究課題名(英文)Research on the mechanism of health impacts of ion-releasing air purifiers for their safer use

研究代表者

武田 健 (TAKEDA, KEN)

東京理科大学・研究推進機構 総合研究院・教授

研究者番号：80054013

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：イオン(複数種イオン及び分子から成るナノサイズの超微小粒子)放出メカニズムの異なる放出型空気清浄機による生体影響を検証した。マウスへの吸入曝露試験の結果、一機種では28日間曝露により肝臓に軽度の炎症応答を認めたが、これは複数機種に共通する所見ではなかった。超微小粒子の低用量経気道曝露は、顕著な気道傷害なしに肝臓に急性期応答を誘導し、その影響評価指標として肝Saa3 mRNA量が有効である可能性が示された。さらに、低用量要因の影響メカニズムとして細気管支上皮セラミド発現、赤外分光法で捉えられるタンパク質高次構造変化を検証したほか、トキシコロジーデータからリスクガバナンスに向けた提言をまとめた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to investigate the mechanism of health impacts of ion-releasing air purifiers with different operation mechanisms. Ion included nanoparticle composed of multiple ions and molecules. One of the purifier induced hepatic mild inflammatory response with an increase in plasma AST level and no pulmonary inflammation in mice by 28-day whole body inhalation; however this observation was not common to other models of purifiers. Pulmonary exposure to some of the nanoparticles induced acute response in the liver with no airway injury. Hepatic Saa3 mRNA expression increase may be a good marker of hepatic response to the pulmonary exposure to particle/ion exposure. These data are collected under the conditions without an increase in ozone so indicated specific responses to the ions and/or nanoparticles, of which the hazard level was not so low but the risk may not be low due to an increase in exposure level by long-term use in closed spaces.

研究分野：生活科学 / 住生活学 / 公衆衛生学

キーワード：住居環境 空気清浄機 肺 肝臓 メタボローム

1. 研究開始当初の背景

家庭や職場、病院等で汎用される空気清浄機には、室内空気中に多量のイオン(数千~数万個/cm³)を放出させ、浮遊する病原体等を分解・除去すると謳われているものがある。空気清浄機を製造・販売する企業は、その性能評価と同時に第三者機関等での安全性試験を行っている。しかし、その健康影響に関する試験項目は、吸入による肺組織への影響評価等に限定されている。本機の健康影響に関する安全性検証の学術的報告は皆無であった。その状況の中で、我々は当該イオンの吸入曝露を受けた動物(マウス)の肝臓組織に、軽度の炎症所見が生じる等の健康影響の可能性を捉えていた。本研究は、この前実験データを足掛かりに、当該イオン(もしくは他の活性種)の生体影響メカニズムに迫り、安全な使用法を提示しようとする目的で行った。これは世界に先んじた、住生活に関わる製品の安全性に関する研究課題であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、空気清浄機から放出されるイオン及び活性種の生体影響メカニズムを明らかにし、安全な使用方法を見出すことであった。空気清浄機には、イオンのような活性種を放出して清浄効果を発揮するものがある。それらは家庭やオフィスで連続運転されることから、放出される活性種には長時間曝される可能性があり、活性種の曝露により生じ得るリスクを十分に評価する必要がある。当研究グループでは、一機種から放出されるイオンの有害性について動物(マウス)での研究データを持っていたが、影響発現メカニズムはまったく不明であった。本研究では、このイオン・活性種を吸入したマウスの呼吸器および血液を詳細に解析し、そのメカニズムを明らかにすることで、当該機種及び類似製品の安全な使用法を提案することを目指した。

3. 研究の方法

イオン放出型空気清浄機を稼働させた部屋(試験チャンバー)内でマウスを飼育し、吸入した物質と直接接触する気道・肺、血液、肝臓を対象に、短期及び長期間曝露した際の生体影響を評価した。大気環境中物質の吸入曝露による肺外組織を含めた影響解析手法の開発とあわせ、研究対象機種の違いによる生体影響の程度を比較した。

3-1. 被験機の準備

イオンや活性種の発生(放電)方式の異なる複数の空気清浄機を入手し、試験用チャンバー(0.765 m³、換気率 11.5 m³/hr)内で運転

させた。対照機には、各被験機から放電電極を抜いて送風機能のみにしたものを用いた。チャンバーは、東京理科大学 研究推進機構 総合研究院 戦略的環境次世代健康科学研究 基盤センターに設置したものを用いた。

3-2. 活性種の定性・定量分析

被験機及び対照機の運転により発生するイオン・活性種の化学組成や物性を解析した。イオン濃度を Ion Tester KST-900(神戸電波社製)等により測定した他、製品の安全基準が存在するオゾン濃度を測定した。

3-3. 実験用動物への曝露

被験機を運転させたチャンバー内で実験用動物(ICR系マウス)を飼育し、被験機から出るイオンや活性種を含んだ空気を吸入させた。吸入期間は1~30日間の範囲で、経時的な影響解析を行った。

3-4. 生体影響(健康影響)評価

3-4-1. 肺及び肝臓の病理学的解析

曝露後のマウスから各生体組織を採取し、ホルマリン固定により保存し、病理学的解析に供した。とくに、空気を吸う場である肺と、我々のプレ実験により影響が検出された肝臓について、光学顕微鏡ならびに透過型電子顕微鏡を用いた微細な形態的变化を明らかにした。

3-4-2. 血中のタンパク質、脂質及び代謝物の解析

曝露後のマウスから採取した血液と肝臓組織試料について、タンパク質・脂質複合体の性質及び構造の変化を、等電点二次元電気泳動法や質量分析法、フーリエ変換型赤外分光法により解析した。タンパク質や脂質以外に、低分子物質を含む代謝物を、各種分離分析 質量分析法(LC-MS 及び CE-MS)により解析した。

3-5. イオン・ナノ物質放出型の空気清浄機の安全な使用に向けた提言

トキシコロジー研究データをリスクガバナンスに活かすための提言を、予防的アプローチの観点からリスク研究者との分野横断的な議論により取りまとめた。

4. 研究成果

4-1. イオン等活性種放出型の空気清浄機の生体影響の概要

マウスへの吸入曝露試験の結果、一機種では28日間曝露により肝臓に軽度の炎症応答(血清中AST上昇を伴う)を認めしたが、これは複数のイオン放出型空気清浄機に共通する所見ではなかった。超微小粒子の低用量経気道は、顕著な気道傷害なしに肝臓に急性期応答を誘導し、その影響評価指標として肝

Saa3 mRNA 量が有効である可能性が示された。

4-2. 大気環境要因の低用量吸入曝露に鋭敏に応答する細気管支上皮脂質としてのセラミドの同定

空気清浄機から放出されるイオン等活性種の生体影響は、酸化ストレス誘導、炎症応答、組織傷害を示唆する所見は認められない低～中程度の現象であると考えられる。その影響を理解するメカニズムの解明を進めた。

具体的には、大気環境要因の吸入曝露によって起こる、既存の主要な肺障害マーカー（炎症、組織障害）では捉えられないレベルの呼吸器の応答を、細気管支上皮のセラミド発現の亢進により捉えられることを明らかにした。大気中に分散する環境汚染物質のモデルとしてナノ粒子を高率に含むディーゼル肺ガス（100 $\mu\text{g particle/m}^3$ 、1日あたり8時間）を雄性ICRマウスに対し曝露チャンバーを用いた全身吸入により曝露した。1日間のディーゼル肺ガス曝露によりグルタチオン還元酵素活性が有意に低下した。免疫組織化学の結果から、ディーゼル肺ガス曝露による気管支上皮細胞中の顕著なセラミド蓄積が認められた。このセラミド亢進は、セラミド合成酵素フモニシン B1 の前投与により部分的に抑制された。肺における SP-A ならびに SP-D mRNA 発現は、1日間のディーゼル肺ガス曝露で亢進したが7日間曝露では変動しなかった。また、SP-A ならびに SP-D mRNA 発現は、単回フモニシン投与により一過性に亢進したが3回投与による効果は認められなかった。

以上の結果は、7日間曝露後に酸化ストレス誘導、炎症応答、組織傷害を示唆する所見は認められない低～中程度の大気環境要因の吸入により起こる現象を捉えたものであり、空気清浄機から放出されるイオン等活性種の生体影響メカニズムを理解する上で重要である。すなわち、野生型マウスに酸化ストレスや炎症、組織傷害を引き起こさない程度の低用量要因の吸入曝露が、気管支上皮細胞中のセラミド蓄積を亢進させることが明らかになった（梅澤ら、第56回大気環境学会年会2015；小野田ら、日本薬学会第136年会2016）。

4-3. 血中のタンパク質、脂質及び代謝物の解析

血清中ナノコロイドの物性や組成は体内環境を反映していると考えられ、その分析手法は化学物質の毒性の理解にも新たな知見をもたらすことが期待される。環境要因により、非会合体を除いたタンパク質・血清脂質の会合体から成るコロイドの径（これが、タンパク質・脂質の体内動態を物理化学的にも変化させると考えられる）を変化させ、タンパク質組成を変化させることが明らかになった（須山ら、第41回日本毒性学会学術年

会2014）。

ナノ物質表面（湾曲界面）におけるタンパク質高次構造の変化の *in vitro* スクリーニング法開発のため、表面修飾が異なるシリカナノ粒子（plain, NH_2 , COOH ）を用いて、シリカナノ粒子表面との相互作用により生じるタンパク質の高次構造変化を赤外吸収スペクトル分析（FT-IR）で分析した。シリカナノ粒子（plain または COOH 修飾）との混合により大きな赤外吸収ピークの出現があり、BSA に含まれるヒスチジン残基周辺の構造が変化した可能性が考えられた。この変化は BSA とナノ粒子（ NH_2 修飾）との混合では認められず、ナノ物質の表面性状により BSA の構造変化の違いが捉えられた（松澤ら、第38回日本分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会2015）。これは異なるイオン・ナノ物質放出型空気清浄機が血中タンパク質に及ぼす影響の違いを生じさせるメカニズムの一端を捉える研究成果であった。

4-4. イオン・ナノ物質放出型の空気清浄機の安全な使用に向けた提言

イオンやイオンを含むナノ物質などの放出系の製品は、その運転が活性種の放出を伴うためにその曝露量を増加させ、それによる負のリスク増大の可能性を孕む。すなわち、住その他の環境における曝露量の予測とあわせてリスク推定が必要になる。現在国際的に議論されているナノ物質の規制の状況も鑑み、効果的なリスクガバナンスのためには、

規制対象を定量的に計測できる形で定義すること、高濃度に当該物質が局在する地点に優先順位を付けることが必須であろうという結論を得た（梅澤・武田、日本リスク研究学会年次大会講演論文集2014）。それを踏まえた上で、リスクガバナンスのメカニズム、例えば基準値や許容曝露量の根拠を包括的に取りまとめ、理解することで、トキシコロジー研究データに基づいた効果的なリスクガバナンスを実現できると考えられる。

なお、環境中に放出される物質のリスクは、ハザード及び曝露の程度により規定される。すなわち、ハザードレベルは小さくとも室内環境で長時間、気密性の高い空間で使用する際の曝露量に注意を払う必要がある。ただし、少なくとも一部の被験機は電極の簡易清掃なしには、比較的短時間でイオン放出量が顕著に減少することが明らかになった。この知見は、清浄機製品に謳われている効果ならびに曝露（リスク）の両面を考える上で重要であると考えられる。当該イオンを含むナノ物質のリスクについては、特に米国 Nova Science Publishers 社から発刊された書籍 "PM2.5 -Role of Oxidative Stress in Health Effects and Prevention Strategy-" の Chapter 17、Fine and ultrafine particle risk management: Problems to be solved (Umezawa and Namba 2015) にまとめた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

1. Mitsunaga S, Umezawa M, Takeda K, Nakamura S (2016): Maternal administration of nanomaterials elicits hemoglobin upregulation in the neonatal brain of non-human primates. *J Toxicol Sci* 41(2): 265-271. <http://doi.org/10.2131/jts.41.265>. 査読有
 2. El-Sayed YS, Shimizu R, Onoda A, Takeda K, Umezawa M (2015): Carbon black nanoparticle exposure during middle and late fetal development induces immune activation in male offspring mice. *Toxicology* 327:53-61. doi:10.1016/j.tox.2014.11.005. 査読有
 3. Tachibana K, Takayanagi K, Akimoto A, Ueda K, Shinkai Y, Umezawa M, Takeda K (2015): Prenatal diesel exhaust exposure disrupts the DNA methylation profile in the brain of mouse offspring. *J Toxicol Sci* 40(1):1-11. <http://doi.org/10.2131/jts.40.1>. 査読有
 4. 梅澤雅和, 武田健 (2014): 「トキシコロジーからナノ規制ガバナンスへの提言 予防原則の最適化」 *日本リスク研究学会年次大会講演論文集*, 27: A-2-5. 査読有
- [学会発表](計18件)
1. 立花研, 黒岩法子, 小島稔郁, 湯浅珠恵, 新海雄介, 梅澤雅和, 武田健 (2016年3月27~29日): 二酸化チタンナノ粒子 妊娠期曝露により胎仔に生じるマイクロRNA 発現変動の解析」 *日本薬学会第136年会* (パシフィコ横浜, 横浜)
 2. 小野田淳人, SHAHEEN Hazem ME, 中村仁幸, 新海雄介, EL-GHONEIMY Ashraf A, 武田健, 梅澤雅和 (2016年3月27~29日): 低用量のディーゼル排ガス曝露が呼吸器系のセラミド代謝に及ぼす影響」 *日本薬学会第136年会* (パシフィコ横浜, 横浜)
 3. Umezawa M, Onoda A, Takeda K (Mar 16, 2016): Gene expression change in the frontal cortex with perivascular damage induced by prenatal exposure to carbon black nanoparticle in mice. *53rd Annual Meeting of the Society of Toxicology* (Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, LA, USA)
 4. Onoda A, Takeda K, Umezawa M (Mar 16, 2016): Effect of ascorbic acid pretreatment on brain perivascular injury induced by prenatal exposure to carbon black nanoparticle in mice. *53rd Annual Meeting of the Society of Toxicology* (Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, LA, USA)
 5. Nakamura M, El-Ghoneimy AA, Onoda A, Shinkai Y, Shaheen HM, Takeda K, Umezawa M (Mar 14, 2016): Effect of diesel exhaust exposure on the liver in mouse fed with n-3 polyunsaturated fatty acid-deficient diet. *53rd Annual Meeting of the Society of Toxicology* (Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, LA, USA)
 6. Onoda A, Takeda K, Umezawa M (Feb 28, 2016): Diffuse perivascular abnormalities and GFAP and aquaporin-4 dysregulation in the brain induced by maternal exposure to carbon black nanoparticle. *4th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPoPS) 2016* (Tokyo University of Science, Noda, Chiba, Japan)
 7. 松澤智美, 小野田淳人, 川崎平康, 武田健, 梅澤雅和 (2015年12月1~4日): 「シリカナノ粒子によるアルブミン分子構造変化の赤外分光スペクトル解析」 *第38回日本分子生物学会年会・第88回生化学会大会合同大会* (神戸ポートアイランド, 神戸)
 8. 梅澤雅和, 武田健 (招待講演, 2014年11月29日): 「トキシコロジーからナノ規制ガバナンスへの提言 予防原則の最適化」 *第27回日本リスク研究学会年次大会*, 企画セッション A-2 「規制ガバナンスの核心—根拠に基づく意思決定プロセスの事例と潮流」 (京都大学吉田キャンパス, 京都)
 9. Umezawa M, Yokota S, Takeda K (Oct 2015): Gene expression changes in the olfactory bulb induced by diesel exhaust inhalation and its interaction with rearing environment. *FENS Featured Regional Meeting 2015* ("Ioannis Vellidis" Congress Center, Thessaloniki, Greece)
 10. Onoda A, Takeda K, Umezawa M (Oct 2015): Dysregulation of GFAP and aquaporin-4 proteins of astrocytes in the frontal cortex by prenatal exposure to carbonblack nanoparticle. *7th International Symposium on Nanotechnology, Occupational and Environmental Health (NanOEH)* (Legend Safari Lodge, Waterberg Region, Limpopo Province, South Africa)

11. 梅澤雅和、立花研、岡本沙紀、武田健(2014年10月15~18日): 「幼児期マウスの脾臓 mRNA ならびに miRNA 発現プロファイルに認められる性差の機能的特徴」、第87回日本生化学会大会(国立京都国際会館、京都)
12. 小野田淳人、川崎平康、築山光一、武田健、梅澤雅和(2015年9月26~28日): 「超微小粒子の胎児期曝露に伴う脳血管周辺異常の赤外顕微法による可視化」、第24回日本バイオイメージング学会学術集会(東京理科大学葛飾キャンパス、東京)
13. 小野田淳人、武田健、梅澤雅和(2015年9月17~18日): 「ナノ粒子の胎仔期曝露が脳血管周囲細胞に及ぼす影響とアスコルビン酸の前投与による効果の検証」、フォーラム2015 衛生薬学・環境トキシコロジー(神戸学院大学ポートアイランドキャンパス B 号館、神戸)
14. 立花研、小番美鈴、川副翔太郎、上田剛司、新海雄介、梅澤雅和、武田健(2015年9月17~18日): 「二酸化チタンナノ粒子の胎仔期曝露により神経幹細胞に生じる遺伝子発現変動」フォーラム2015 衛生薬学・環境トキシコロジー(神戸学院大学ポートアイランドキャンパス B 号館、神戸)
15. 梅澤雅和、小野田淳人、Shaheen Hazem ME、新海雄介、武田健(2015年9月15~17日): 「ディーゼル排ガス曝露が呼吸器のセラミド代謝と遺伝子発現に及ぼす影響」、第56回大気環境学会年会(早稲田大学西早稲田キャンパス、東京)
16. 須山史也、谷口烈、吉川洋一郎、立花研、武田健、梅澤雅和(2014年7月2日~4日): 「高脂肪食を摂取したマウスの血清中ナノコロイドの解析」、第41回日本毒性学会学術年会(神戸コンベンションセンター、神戸)
17. 小野田淳人、菅又昌雄、井原智美、武田健、梅澤雅和(2015年6月29日~7月1日): 「ナノ粒子の胎児期曝露は若齢マウスの脳に老齢個体と類似の慢性所見を誘導する」、第42回日本毒性学会学術年会(石川県立音楽堂、金沢)
18. 梅澤雅和、小野田淳人、川副翔太郎、立花研、武田健(2015年6月30日): 「ナノ粒子曝露が脳の発達に及ぼす影響—鋭敏なマーカーと毒性学的意義」第42回日本毒性学会学術年会、シンポジウム12「環境化学物質が発達と成熟に及ぼす影響(ホテル日航金沢、金沢)

〔図書〕(計4件)

1. Umezawa M, Onoda A, Takeda K (Jul 2015). Findings regarding the hazard assessment of nanoparticles and their effects on the next generation. "PM2.5 -Role of Oxidative Stress in Health Effects and Prevention Strategy-", Chapter 13, pp.159-175; In: Li YJ et al., editors; Published by Nova Science Publishers, Inc. (NY, USA)
2. Onoda A, Umezawa M, Takeda K (Jul 2015): The potential protective effect of antioxidants on nanoparticle toxicity. "PM2.5 -Role of Oxidative Stress in Health Effects and Prevention Strategy-", Chapter 15, pp.197-210; In: Li YJ et al., editors; Published by Nova Science Publishers, Inc. (NY, USA)
3. Umezawa M, Namba M (Jul 2015): Fine and ultrafine particle risk management: Problems to be solved. "PM2.5 -Role of Oxidative Stress in Health Effects and Prevention Strategy-", Chapter 17, pp.227-239; In: Li YJ et al., editors; Published by Nova Science Publishers, Inc. (NY, USA)
4. Li YJ, Umezawa M, Takizawa H, Takeda K, Kawada T (Jul 2015): PM2.5 -Role of Oxidative Stress in Health Effects and Prevention Strategy-; Collaborative editing (Total 257 pages); Published by Nova Science Publishers, Inc. (NY, USA)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

6. 研究組織

- (1)研究代表者
武田 健 (TAKEDA KEN)
東京理科大学・研究推進機構総合研究院・教授
研究者番号: 80054013
- (2)研究分担者
梅澤 雅和 (UMEZAWA MASAKAZU)
東京理科大学・研究推進機構総合研究院・講師
研究者番号: 60615277
- (3)連携研究者
菅又 昌雄 (SUGAMATA MASAO)
栃木臨床病理研究所・所長
研究者番号: 50049863