

in Japan: Findings from population-based surveys in Fujieda City in 1985, 1999, and 2006. *Allergol Int* 2011; 60(4): 443-448.

- 6) 大田 健. 難治性喘息の分指標的治療への期待をみる. p.30-34. ー抗体治療時代のー気管支喘息治療の新たなストラテジー. 監修 大田健. 先端医学社 2011.
- 7) 大田 健. IgE 抗体陽性難治性喘息に対する治療戦略を探る. p.136-140. ー抗体治療時代のー気管支喘息治療の新たなストラテジー. 監修 大田 健. 先端医学社 2011.
- 8) 大田 健. アレルギー性鼻炎が喘息に及ぼす影響. *ALLAZIN*. 2011.
- 9) 大田 健. 読む総合病院・なんでも相談室. *きょうの健康*. 2011; 276: 126.
- 10) 大田 健. 気管支喘息. *ドクターサロン*. 2011; 55(3): 161-165.
- 11) 大田 健. わが国におけるアレルギー疾患. *診断と治療*. 2011; 99(2): 20-26.
- 12) 大田 健. ガイドラインに沿った成人喘息の治療-JGL2009 の改訂ポイント. *アレルギー*. 2011; 60(2): 178-183.
- 13) 大田 健. 成人喘息の治療ガイドライン. *日本医師会雑誌*. 2011;140(3):521-524.
- 14) 大田 健. 喘息を合併した COPD の治療法. *日本胸部臨床*. 2011;70(増刊):128-133.
- 15) 大田 健. 難治性喘息-その診断と最新の治療。 *東京都医師会雑誌*。 2011;64(6):21-25.

2. 学会発表

- 1) 大田 健、美野口健治、水野仁美. 成人喘息 プライマリケア医における喘息コントロールの現状. 第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2011:幕張.
- 2) 山口正雄、鈴木真穂、中瀬裕子、杉本直也、戸田貴子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、瀬瀬力也、川上綾子、小宮明子、飯倉元保、長瀬洋之、鈴木直仁、山本一彦、大田 健. 薬物によるアナフィラキシー症例に対す

る、omalizumab を用いた IgE 関与証明の試み. 第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2011:幕張.

- 3) 山口正雄、長瀬洋之、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、一ノ瀬正和、足立 満、相澤久道、棟方 充、永田 眞、大田 健. 気管支喘息患者に対する効果的指導に影響する因子の解析およびコントロール評価法の検討. 第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 2011:幕張.
- 4) 長瀬洋之、杉本直也、中瀬裕子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、鈴木直仁、山口正雄、大田 健. 気道可逆性試験陰性症例における Imlulse Oscillometry (IOS)所見. 第 21 回国際喘息学会日本・北アジア部会. 2011: 岐阜.
- 5) 大田 健: 国際喘息ガイドライン(GINA 2009). *日本呼吸器学会総会*. 2011: 東京.
- 6) 大田 健: 喘息死ゼロに向けた新たなアプローチ. *日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011: 東京.
- 7) 大田 健: 重症喘息に対する抗 IgE 抗体治療 抗ヒト IgE 抗体療法の臨床的貢献 全例調査の中間報告を含めて. *日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011: 東京.
- 8) 大田 健: 喘息治療におけるネブライザー療法の果たす役割 より良い喘息治療を目指して 成人喘息治療におけるネブライザー治療の位置づけ. *日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011: 東京.
- 9) 大田 健: 気管支喘息の最新の動向を探る 分子標的治療 我が国における喘息治療の将来展望. *日本アレルギー学会秋季学術大会*. 2011: 東京.
- 10) 中瀬裕子、岡田典久、青柳 仁、木村 聡、田中祐輔、杉本直也、戸田貴子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、鈴木直仁、山口正雄、大田 健. パクリタキセルを用いた化学療法中に皮疹が出現し DLST 陽性を

認められた肺癌の1例。第198回日本呼吸器
学会関東地方会。2012：東京。

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許登録 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

厚生労働科学研究補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
分担研究報告書

マウス喘息モデルを用いた難治化・重症化因子の探索
—ダニ抗原誘発マウス喘息様病態形成における DNA 夾雑物の意義—

分担研究者 田中 宏幸（岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室 准教授）

研究要旨 分担研究者らは、近年、ダニ抗原をマウス気管内に反復投与することにより、いわゆるアジュバントを用いることなく、喘息様病態モデルを確立した。本モデルはTh2サイトカイン遺伝子欠損(KO)マウスを用いた検討から、その病態形成に IL-13 が特に重要であることを明らかにした。一方、気道過敏性ならびに気道リモデリングなどの重症化病態形成が、どのようにダニ抗原によって誘導されるかについては不明な点が多い。分担研究者らが実験に使用しているダニ抗原は市販の *Dermatophagoides farinae* 粗抽出物 (crude extract of Der f: ceDer f) であるが、粗抽出物中には DNA、LPS など種々の夾雑物が含まれており、それらが喘息様病態形成に影響を及ぼしている可能性も考えられる。そこで本年度は、ダニ抗原中に含まれている非メチル化 DNA の喘息様病態形成における意義を、TLR9 KO マウスならびにエンドソームの酸性化・成熟を阻害する chloroquine を用いて検討した。

実験は当教室のダニ抗原誘発マウス喘息モデルのプロトコールに準じて行った。すなわち、野生型マウスおよび TLR9 KO マウスの気管内に *Dermatophagoides farinae* (Der f) の粗抽出物を複数回投与して反応を惹起した。

市販品のダニ抗原抽出物中には DNA が含有されており、ダニ抗原の遺伝子情報からプライマーを作成し PCR にて確認したところ、ceDer f 中にはダニ由来の DNA が存在することを明らかにした。次いで、ダニ抗原を TLR9KO マウスに反復気管内投与することにより、その影響を検討した。その結果、野生型および TLR9 KO マウス共に気道過敏性、BAL 液中好酸球増多、気道上皮杯細胞の過増生・肥厚、基底膜下における線維化形成が観察されたが、野生型マウスに比し TLR9 KO マウスでは、いずれの喘息様病態形成の減弱が認められ、この減弱は野生型マウスに chloroquine を腹腔内投与した際にも観察された。ダニ抗原あるいは卵白アルブミンとアラムを混合し、マウスを能動的に感作し、その後、抗原を気管内投与し、それぞれの実験系において TLR9 の意義を検討した。その結果、先の気管内投与モデルとは異なり、いずれのパラメーターについても、野生型マウスと TLR9 KO マウスとの間に差は認められなかった。

以上の成績より、ダニ抗原中に含まれる DNA は、むしろ喘息様病態形成に対し促進的に働くこと、また、この機構は気道粘膜における抗原提示の際に関与している可能性が推察された。

研究協力者
稲垣直樹（岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室・教授）

A. 研究目的

近年、アレルギー疾患患者数は漸増し、また、その病態も難治化・慢性化している。その背景に

は、室外および室内環境因子の影響が無視できないが、詳細については不明な点が多い。そこで、平成 18 年度研究では環境因子による喘息発症率の漸増ならびに難治化原因を探求するモデル確立を企図し、ダニ抗原をマウス気管内に反復投与することにより、いわゆるアジュバントを用いることなく、気道リモデリングを含む喘息様病態モ

デルを作成することに成功した。また、ダニ抗原誘発喘息モデルにおける慢性化・難治化に関与する機能分子の探索を企図し、Th2 サイトカインである IL-4、IL-5 ならびに IL-13 の遺伝子欠損マウスを用いて、それらの意義を検討したところ、ダニ抗原刺激による気道内好酸球増多はもとより、気道過敏性や気道リモデリング形成において IL-13 が最も重要なサイトカインであることを明らかにした。しかしながら、どのような機序によってダニ抗原自身が Th2 免疫応答から喘息様病態を誘導するのかについては不明である。

分担研究者らが実験に使用しているダニ抗原は市販の *Dermatophagoides farinae* 粗抽出物 (crude extract of Der f: ceDer f) であるが、粗抽出物中には DNA、LPS など種々の夾雑物が含まれており、それらが喘息様病態形成に影響を及ぼしている可能性も考えられる。

そこで本年度は、ダニ抗原中に含まれている非メチル化 DNA の喘息様病態形成における意義を、TLR9 KO マウスならびにエンドソームの酸性化・成熟を阻害する chloroquine を用いて検討した。

B. 研究方法

①卵白アルブミン誘発喘息モデル

実験は、当教室の卵白アルブミン誘発喘息モデルのプロトコールに準じた。すなわち、卵白アルブミン(OA)およびアジュバントとして水酸化アルミニウムゲルを用いてマウスを感作し、その後、OA 溶液を計 3 回吸入曝露した。最終抗原吸入 24 時間後にアセチルコリンによる気道収縮反応を測定し、その直後に右肺は気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、左肺は組織学的検討を行った。

②ダニ抗原誘発マウス喘息モデル 1

実験は当教室のダニ抗原誘発マウス喘息モデルのプロトコールに準じて行った。すなわち、吸入麻酔下にてマウスの気管内に *Dermatophagoides farinae* (Der f) の粗抽出物を複数回投与して反応を惹起した。最終抗原吸入 48 時間後にアセチルコリンによる気道収縮反応を測定し、その直後に右肺は気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、左肺は組織学的検討を行った。

③ダニ抗原誘発マウス喘息モデル 2

実験は、当教室の卵白アルブミン誘発喘息モデルのプロトコールに準じた。すなわち、Der f およびアジュバントとして水酸化アルミニウムゲ

ルを用いてマウスを感作し、その後、Der f 溶液を計 3 回気管内投与した。最終抗原吸入 24 時間後にアセチルコリンによる気道収縮反応を測定し、その直後に右肺は気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、左肺は組織学的検討を行った。

③TLR9 の意義と chloroquine の影響

実験は当教室のダニ抗原誘発マウス喘息モデルのプロトコールに準じて行った。すなわち、吸入麻酔下にて野生型マウスおよび TLR9 KO マウスの気管内に *Dermatophagoides farinae* (Der f) の粗抽出物を複数回投与して反応を惹起した。また、chloroquine はダニ抗原投与前日、当日および翌日に野生型マウスあるいは TLR9 KO マウスに腹腔内投与した。いずれの実験においても、最終抗原投与 48 時間後にアセチルコリンによる気道収縮反応を測定し、その直後に右肺は気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、左肺は組織学的検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究における実験動物の取り扱いならびに実験方法に関しては、本学動物実験委員会の承認を受け、その規約を遵守した。

C. 研究結果

①Der f 中の DNA 含量および Der f 由来 DNA の確認

市販品の Der f 抽出物中には DNA が含有されており、ダニ抗原の遺伝子情報からプライマーを作成し PCR にて確認したところ、Der f 中にはダニ由来の DNA が存在することを明らかにした。

②ダニ抗原誘発マウス喘息モデル

次いで、ダニ抗原を反復気管内投与することにより、その影響を検討した。その結果、野生型および TLR9 KO マウスにアセチルコリンに対する気道過敏性、BAL 液中好酸球を主体とした炎症性細胞数の増加、気道上皮における杯細胞の過増生・肥厚、基底膜下における線維化形成が観察されたが、野生型マウスに比し TLR9 KO マウスでは、予想に反し、いずれの喘息様病態形成の減弱が認められ、この減弱は野生型マウスに chloroquine を腹腔内投与した際にも観察された。

③アジュバントによる免疫モデルを用いた解析

本反応の普遍性を確認する目的で、ダニ抗原あるいは卵白アルブミンとアラムを混合し、マウスを能動的に感作し、その後、抗原を気管内投与し、

それぞれの実験系において TLR9 の意義を検討した。その結果、先の気管内投与モデルとは異なり、いずれのパラメーターについても、野生型マウスと TLR9 KO マウスとの間に差は認められなかった。

D. 考察

本研究では、ダニ抗原粗抽出物中に含まれる夾雑物の一つとしてダニ抗原由来の DNA に着目して検討を行った。はじめに市販品のダニ抗原中の DNA 含量を測定したところ、確かに DNA が含まれていることを確認した。次いで、この DNA がダニ抗原のものか否かを RT-PCR にて確認したところ、ダニ抗原由来 DNA 微生物であることが明らかとなった。ダニ抗原由来 DNA は非メチル化 DNA を配列中に含み、これを病原微生物関連分子パターン認識に重要な TLR9 が受容することが知られている。一般に、非メチル化 DNA が TLR9 を刺激すると、主として IL-12 などの Th1 誘導性のサイトカイン産生が顕著であることから、TLR9 の遺伝子欠損により本ダニモデルの喘息病態は悪化すると予想していた。しかし、予想に反し、野生型マウスに比し、むしろ TLR9 KO マウスでは反応の減弱が観察された。そこで、本反応の普遍性を確認する目的でエンドソームの酸性化・成熟を阻害する chloroquine を用いて検討した。その結果、野生型マウスに chloroquine を投与すると、反応の減弱が観察されること、この減弱は TLR9 KO マウスとほぼ同程度の反応であること、TLR9 KO マウスに chloroquine を投与した場合、野生型マウスに chloroquine を投与した際の抑制以下まで影響は認められないことから、ダニ抗原による喘息様病態形成には TLR9 の関与が示唆された。さらに、本反応の特異性を検証する目的でダニ抗原あるいは卵白アルブミンとアラムを混合し、マウスを能動的に感作し、その後、抗原を気管内投与し、それぞれ TLR9 の意義を検討した。その結果、両モデルともに野生型マウスと TLR9 KO マウスの間に差は認められなかった。このことは、ダニ抗原による気道感作において TLR9 が認識受容体として機能している可能性を示唆しており、非常に興味深い。今後、他の TLRs の意義やプロテアーゼの意義などを検討することにより、ダニ抗原による喘息発症機序の解明、ダニ抗原による喘息病態の難治化機序の解明に繋がると思われる。

E. 結論

ダニ抗原誘発喘息様病態形成において TLR9 が重要であることを明らかにした。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文

1) Saito A, Tanaka H*, Usuda H, Shibata T, Higashi S, Yamashita H, Inagaki N, Nagai H: Characterization of skin inflammation induced by repeated exposure of toluene, xylene, and formaldehyde in mice. *Environ. Toxicol.* 26; 224-232: 2011.

2) Satou N, Ishihara K, Hiratsuka M, Tanaka H, Endo Y, Saito S, Iwakura Y, Leonard WJ, Hirasawa N.: Induction of thymic stromal lymphopoietin production by xylene and exacerbation of picryl chloride-induced allergic inflammation in mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 157;194-201: 2011.

3) Yamashita H, Takahashi K, Tanaka H, Nagai H, Inagaki N.: Overcoming food allergy through acquired tolerance conferred by transfer of Tregs in a murine model. *Allergy* 67; 201-209: 2012.

4) Takahashi G, Tanaka H, Higuchi N, Ikeda M, Inagaki N, Shichijo M: The potential role of PGD2 in nasal congestion observed in a guinea pig model of allergic rhinitis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (in press)

2. 学会発表

1) 田中宏幸：シンポジウム ダニ抗原誘発による喘息様病態の解析から見えてきた創薬ターゲット 生体機能と創薬シンポジウム 2011 (2011年9月、東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

気管支喘息症の重症度に関連する酸化ストレス応答遺伝子と環境
との相互作用機能

分担研究者 烏帽子田 彰 広島大学大学院医歯薬総合研究科公衆衛生学教授

研究協力者 中村 裕之 金沢大学大学院医学系研究科環境生態医学・公衆衛生学教授

研究要旨 様々な酸化ストレス応答遺伝子多型と気管支喘息症との間あるいは気管支喘息症との重症度との間の関連を調べることによって、重症喘息症の診断法を確立し、予防法および治療法の開発、特に Tailer-made医療の実現の礎を築くことを目的とした。患者対照研究（相関解析）によって環境中化学物質の代謝と密接な関係がある Nuclear erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2) のプロモーター領域における Tag 遺伝子の多型 rs6726395(G/A) と rs6721961(G/T)、Microsomal epoxide hydrolase (mEH) の遺伝子多型の Tyr113His と His139Arg の遺伝子多型を、喫煙者と非喫煙者について重症（重症持続型として JGL2006 で規定された Step 4 の 18 人）、軽症（軽症間欠型、軽症持続型の 30 人）、および健常人（対照として 50 人）間で比較し、重症化における Nrf2 と mEH の役割について検討した。対象はすべて男性で、喫煙、非喫煙の割合は各群で差はなかった。相関解析によって喫煙者あるいは過去の喫煙者においてのみ、Nrf2 のプロモーター領域における Tag 遺伝子の多型 rs6726395(G/A) が喘息症の重症化との関係が認められた。mEH の遺伝子多型と喘息の間には有意な相関は認められなかった。以上の結果から、喘息症の重症化は、喫煙と Nrf2 の遺伝子多型との相互作用によって引きこされることが示唆された。その詳細な病態の解明が今後の課題である。

A. 研究目的

気管支喘息症の発症および重症化に関わる遺伝子を同定することで、重症喘息症の診断法を確立し、予防法および治療法の開発、特に Tailer-made 医療の実現の礎を築くことを目的とするために、抗酸化作用あるいは環境中の化学物質代謝と密接な関連がある蛋白の遺伝子多型と気管支喘息との間あるいは気管支喘息との重症度との関係を明らかにした。

B. 研究方法

東京都品川区五反田地区、京都市、山梨県牧丘町地区、金沢地区、富山地区において行われたアレルギー検診および病院研究によって、以下の対象者をリクルートし、患者対照研究（相関解析）を実施した。

対象は、すべて男性で重症群として JGL98 で規

定された Step 4 の 15 例 (53.1±4.22 歳、平均値±標準誤差)、軽症群として Step 1-2 の 30 例 (48.3±2.94 歳)、これらの対照として、喘息、花粉症やアトピー性皮膚炎などのアレルギー歴を有さない健常群 50 例 (49.5±2.36 歳) である。これらの 3 群の間に年齢差はなく、また喫煙者の比もなかった。また重症群と軽症群は、いずれも健常群と比較して総 IgE 値 (RIST) は有意に高かったが、重症群と軽症群間には有意な差は認められなかった(表 1)。

調べた遺伝子は、環境中化学物質の代謝と密接な関係がある Nuclear erythroid 2 p45-related factor 2 (Nrf2) のプロモーター領域における Tag 遺伝子の多型 rs6726395(G/A) と rs6721961(G/T)、Microsomal epoxide hydrolase (mEH) の遺伝子多型の Tyr113His と His139Arg であった。その多型の割合を喫煙者と非喫煙者について気管支喘息軽症、重症および健常

人で比較し、重症化にその遺伝子の多型の役割について検討した。

C. 研究結果

相関解析によって、喫煙者あるいは過去の喫煙者においてのみ、Nrf2のプロモーター領域におけるTag遺伝子の多型rs6726395(G/A)が喘息症の重症化との関係が認められた(表2)。mEHの遺伝子多型と喘息の間には有意な相関は認められなかった(表3)。

D. 考察

大気汚染は気管支喘息などのアレルギー性疾患の昨今の増加の重要な環境因子である。宿主側の重要な因子として酸化ストレス応答遺伝子の多型が、大気汚染物質に対する炎症反応の感受性を決定することが指摘されている。一方、Nrf2遺伝子欠失マウス(Nrf2 KO)はタバコ誘発性の肺気腫、高酸素またはカラゲニンによる急性肺障害などの様々な肺疾患に高感受性であることが報告されており、Nrf2が急性炎症の生体側防御因子として重要な働きをすることが知られている。Nrf2 KOの炎症に対する感受性増大の原因としては、Nrf2 KOでは酸化ストレスが増大していること、あるいはNrf2がなんらかの分子機構

で炎症反応を直接制御していることが考えられる。またNrf2 KOは喘息などのアレルギー疾患に対しても高感受性である。樹状細胞に対する酸化ストレスはT細胞分化に際してTh2優位の細胞分化を促進してアレルギー反応を悪化させることも報告されている。Nrf2 KOの樹状細胞では、活性酸素が細胞内に蓄積した結果、Th2優位のT細胞分化を促進しアレルギー反応を増大している。本相関解析によって、喘息の重症化は喫煙とNrf2の遺伝子との相互作用によって引きこされると示唆された。ニコチンなどの代謝における酸化ストレス応答活性の低下が喘息の重症化に寄与していると推測された。mEHの遺伝子多型と喘息の間には有意な相関は認められなかった。この相関の欠如は、酸化ストレスとして作用するBenzo[a]pyreneの中間代謝産物の生成に、代謝におけるより上流の代謝酵素であるCYP1A1などの寄与の方が大きいことに起因すると推測された。

E. 結論

喘息症の重症化は喫煙とnrf2の遺伝子多型との相互作用によって引きこされることが示唆された。その詳細な病態の解明が今後の課題である。

表1 対象の特性(すべて男性)

群	人数	(平均値±標準誤差)			
		年齢(歳)	RIST(U/ml)	喫煙#1:非喫煙(比)	合併症#2
対照	50人	49.5±2.36	76.0±12.5	27:23	(-)
軽症間欠型、軽症持続型 (Step 1-2)	30人	48.3±2.94	456±141**	16:14	(-)
重症持続型(Step 4)	15人	53.1±4.22	503±112**	8:7	(-)

#1喫煙者には過去の喫煙者も含む。#2花粉症、アトピー性皮膚炎,**p<0.01(対照群と比較したとき)

表2 軽症間欠型・軽症持続型、重症持続型、対照群におけるNrf2遺伝子多型についての相関解析

Locus	Genotype Subgroup	Control (N=50)		Intermittent, mild persistent asthma (N=30)		Severe persistent asthma (N=15)	
		No	Frequency(%)	No	Frequency(%)	No	Frequency(%)
		rs6726395	G/G	23(19)	46.0(63.3)	12(10)	40.0(52.6)
G/A	27(11)		54.0(36.7)	18(9)	60.0(47.4)	8(9)	53.3(81.8*)
A/A							
rs6721961	G/G	30(16)	60.0(53.3)	14(9)	46.7(47.4)	7(4)	46.7(36.4)
	G/T	20(14)	40.0(46.7)	16(10)	53.3(52.6)	8(7)	53.3(63.6)
	T/T						

Figures in parentheses represent the number of the smoker males. Statistically significant difference as compared to the value of control: *p<0.05

表3 軽症間欠型・軽症持続型、重症持続型、対照群におけるmEH遺伝子多型についての相関解析

Locus	Genotype Subgroup	Control (N=50)		Intermittent, mild persistent asthma (N=30)		Severe persistent asthma (N=15)	
		No	Frequency(%)	No	Frequency(%)	No	Frequency(%)
		Tyr113His	Tyr/Tyr	27(16)	54.0(53.3)	14(11)	46.7(57.9)
Tyr/His	23(14)		46.0(46.7)	16(8)	53.3(42.1)	8(5)	53.3(45.5)
His/His							
His139Arg	His/His	28(17)	56.0(56.7)	13(9)	43.3(47.4)	6(5)	40.0(45.5)
	His/Arg	22(13)	44.0(43.3)	17(10)	56.7(52.6)	9(6)	60.0(54.5)
	Arg/Arg						

Figures in parentheses represent the number of the smoker males.

F. 研究発表

1.論文発表

- 1) Fukutomi Y, Nakamura H, Kobayashi F, Taniguchi M, Konno S, Nishimura M, Kawagishi Y, Watanabe J, Komase Y, Akamatsu Y, Okada C, Tanimoto Y, Takahashi K, Kimura T, Eboshida A, Hirota R, Ikei

- J, Odajima H, Nakagawa T, Akasawa A, Akiyama K: Nationwide Cross-Sectional Population-Based Study on the Prevalences of Asthma and Asthma Symptoms among Japanese Adults. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010,153(3):280-287.
- 2) Tanaka T, Hitomi Y, Kambayashi Y, Hibino Y, Fukutomi Y, Shibata S, Sugimoto S, Hatta K,

Eboshida A, Konoshita T, Nakamura H: The differences in the involvements of loci of promoter region and Ile50Val in interleukin-4 receptor α chain gene between atopic dermatitis and Japanese cedar pollinosis. *Allergol Int.*(in press)

- 3) Tomoaki KIMURA, Kiyoshi YAMAOKA, Shigetoshi IWAHASHI, Seiya UCHIDA, Yasutami TSUDA, Akira EBOSHIDA: Perceived Stress, Stressors, and Coping with the Stress among Participants in Health Promotion Events JPSS Vol.10 (in print)

2.学会発表

- 1) 村上玄樹、鹿嶋小緒里、烏帽子田彰
院内がん登録データによる治療の地域分析の検討
16-20 / Oct. / 2011
第70回日本公衆衛生学会総会 秋田市
- 2) 村上玄樹、鹿嶋小緒里、烏帽子田彰、林田賢史
院内がん登録データを用いた診療圏分析
21-23 / Nov. / 2011
第31回 医療情報連合大会 鹿児島市
- 3) 曾根智史 烏帽子田彰
公衆衛生の人材育成システムづくりを考える
セッション 公衆衛生行政フォーラム1
16-20 / Oct. / 2011
第70回日本公衆衛生学会総会 秋田市
- 4) 烏帽子田彰 (講演)
環境と健康を考える in 高知
(NPO 法人ちさんネット
高知大学 国際・地域連携センター主催)
高知市 RKC ホール 23 / Oct. / 2011

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

環境中化学物質の気管支喘息の重症化への影響と抗アレルギーフィルターの開発

分担研究者 中村 裕之（金沢大学医薬保健研究域医学系環境生態医学・公衆衛生学教授）

研究協力者 人見 嘉哲（金沢大学医学系准教授）、櫻井 克年（高知大学副学長）、
康 峪梅（高知大学農学部教授）、弘田 量二（高知大学医学部助教）、菅沼 成文（高知大学医学部教授）、田中 宏幸（岐阜薬科大学准教授）、烏帽子田 彰（広島大学医歯薬総合研究科教授）

研究要旨 近年の文明国におけるアレルギー性疾患の増加の背景には、大気汚染をはじめとする環境中の化学物質に対する暴露機会の増加が指摘されている。本研究では、大気汚染物質である浮遊粒子状物質大気汚染物質であるディーゼル排気粒子（Diesel exhaust particulate, DEP）の成分である芳香族炭化水素（Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs）のアレルギーへの影響を系統的に評価し、さらにその影響を予防するためのフィルターを開発し、その予防効果を検証した。自動車排出物質（Diesel exhaust particulate, DEP）抽出物あるいはその成分である芳香族炭化水素（Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs）であるナフタレン、フルオレン、フェナントレン、フルオランテン、ベンゾ(a)アントラセン、ベンゾ(a)ピレン、p-ニトロフェノールについて、開発した化学物質の除去を目的とした非晶質鉄および活性炭を含むフィルターの除去能を評価するため、DEP あるいはその成分を含む水を、それぞれ非晶質鉄あるいは活性炭のフィルターを用いてろ過し、フィルター処理後のサンプルの PAHs を GC/MS にて測定した。また DEP 試験機（自社製）でディーゼル発電機より発生した DEP 中の重金属、PAHs のフィルター性能の評価を行った。また吸着メカニズムの解明のために PAHs の非晶質鉄の吸着性能などを検討した。その結果、aFe の PAHs に対する吸着率の解明に特に AGC との吸着特性の有意差が認められたベンゾ a ピレンへの吸着性のメカニズムをフロンティア理論にもとづいて検証した結果、分子量の大きい特にベンゾ a ピレン、ベンゾ a アントラセンによるアレルギー促進作用を抑制できることがわかった。我々の開発したフィルターは DEP、特に PAHs によるアレルギー促進作用を抑制できることがわかった。

A. 研究目的

近年の文明国におけるアレルギー性疾患の増加の背景には、大気汚染をはじめとする環境中の化学物質に対する暴露機会の増加が指摘されている。さらには、気管支喘息症の増悪因子としても化学物質が関与することが考えられることから、化学物質における免疫毒性やアレルギー発症への影響を調べることは急務である。本研究では環境中の化学物質のアレルギーへの影響を *in vitro* および *in vivo* において系統的に評価し、さらにその影響を予防するためのフィルターを開発し、その予防効果を検証した。

B. 研究方法

1. フィルターの除去能の評価

自動車排出物質（Diesel exhaust particulate, DEP）抽出物あるいはその成分である芳香族炭化水素（Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs）であるナフタレン、フルオレン、フェナントレン、フルオランテン、ベンゾ(a)アントラセン、ベンゾ(a)ピレン、p-ニトロフェノールの除去率について、我々の開発した非晶鉄および活性炭を含むフィルター（aFe）と既存のフィルターを比較するため、DEP あるいはその成分を含む水を、それぞれ aFe と既存のフィルターを用いてろ過し、フィルター処理後

のサンプルの PAHs を GC/MS にて測定した (評価 1)。

2. 吸着メカニズムの解明

PAHs の非晶質鉄の吸着性能のメカニズムを検討した (評価 2)

C. 研究結果

DEP の PHAs 成分のうち、aFe はベンゾ a ピレン、ベンゾ a アントラセンは、既存のフィルターに比べて効率よく吸着することが認められた。一方、ナフタレン、フルオレンは aFe、AGC は既存フィルターに比べて差が認められなかった (評価 1)。

aFe の PAHs に対する吸着率の解明に特に AGC との吸着特性の有意差が認められたベンゾ a ピレンへの吸着性のメカニズムをフロンティア理論にもとづいて検証した。その結果、ベンゾ a ピレン赤の電子雲の最高占有軌道(HOMO)の三角形の一辺の長さ約 5 Å と aFe の結晶間隔の水素原子 (白) 間の距離が約 5.9 Å との間で π 結合による核型吸着反応が起きるため、ベンゾ a ピレン、ベンゾ a アントラセンという約 5 Å 程度の分子量の多い有機物の吸着に効果があることがわかった (図 1、図 2、

評価 2)。

D. 考察

分子量の少ないナフタレン、フルオレン、フェラントレン、P-ニトロフェノールなどは、三角形の一辺の長さが 4 Å と短いため、吸着性は弱いという吸着メカニズムが解明された。この理論は PAHs 溶液の除去率結果とも一致し、活性炭の低分子の有機ガスを吸着するファンデアワールスとは異なる挙動であるといえた

E. 結論

aFe の PAHs に対する吸着率の解明に特に AGC との吸着特性の有意差が認められたベンゾ a ピレンへの吸着性のメカニズムをフロンティア理論にもとづいて検証した結果、分子量の大きい特にベンゾ a ピレン、ベンゾ a アントラセンによるアレルギー促進作用を抑制できることがわかった。我々の開発したフィルターは DEP、特に PAHs によるアレルギー促進作用を抑制できることがわかった。

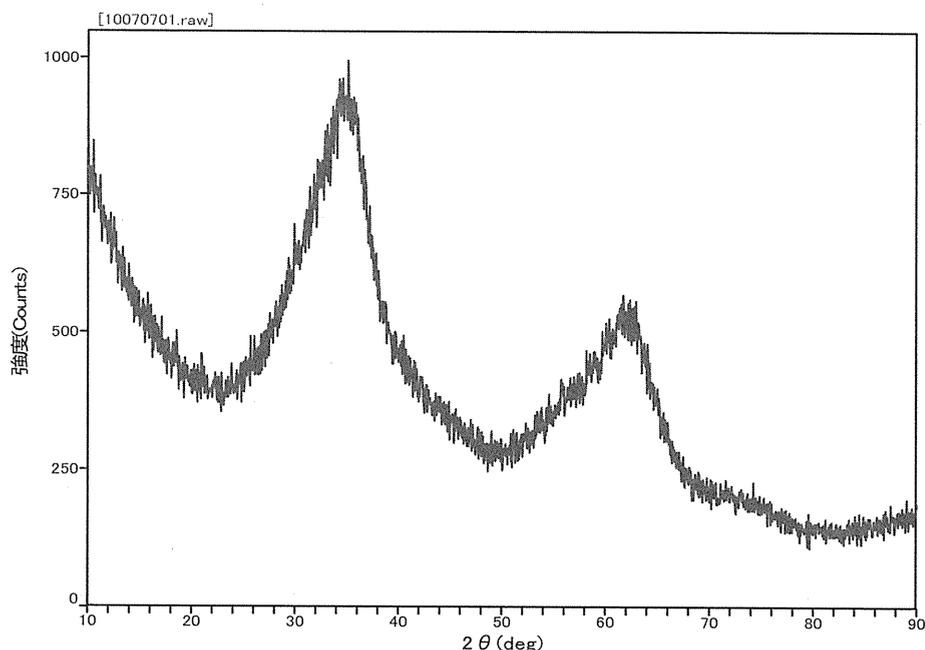


図 1 非晶質鉄水酸化物 aFe の吸着メカニズム

aFe は回折角を 2 つ有する典型的なフェリハイドライト構造で重金属を吸着する

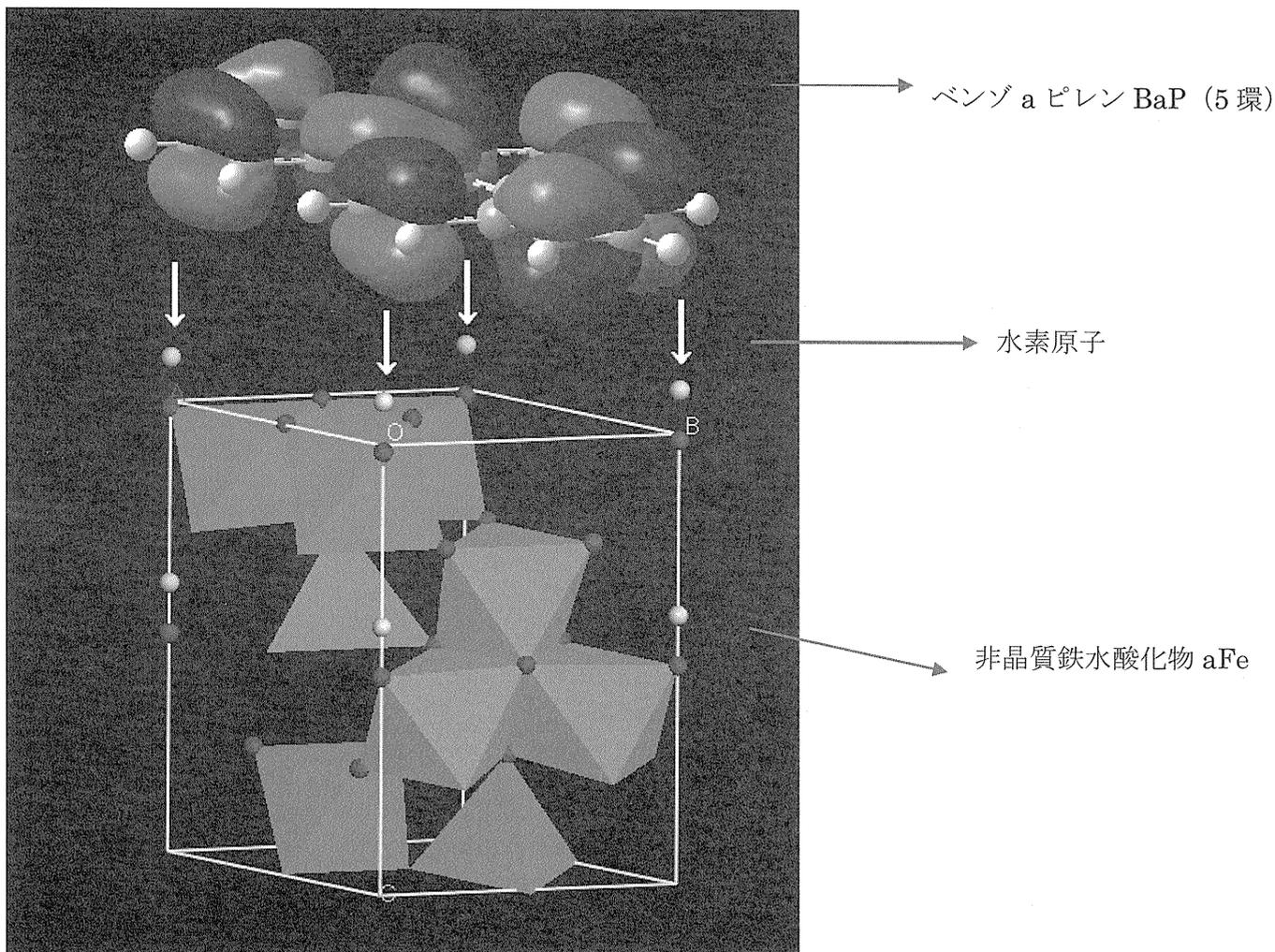


図2 非晶質鉄水酸化物 aFe の吸着メカニズムの解析—フロンティア理論による PAHs 吸着 aFe の LUMO と BaP の水素原子の HOMO とが吸着される

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugimoto N, Miwa S, Ohno-Shosaku T, Tsuchiya H, Hitomi Y, Nakamura H, Tomita K, Yachie A, Koizumi S: Activation of tumor suppressor protein PTEN and induction of apoptosis are involved in cAMP-mediated inhibition of cell number in B92 glial cells. *Neurosci Lett*. 2011,497(1):55-59.
- 2) Hirota R, Ngatu NR, Miyamura M, Nakamura H, Suganuma N.: Goishi tea consumption inhibits airway hyperresponsiveness in BALB/c mice. *BMC Immunol*. 2011,12:45.
- 3) Usui C, Hatta K, Doi N, Kubo S, Kamigaichi R, Nakanishi A, Nakamura H, Hattori N, Arai H: Improvements in both psychosis and motor signs in Parkinson's disease, and changes in regional cerebral blood flow after electroconvulsive therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011,35(7):1704-1708.
- 4) Fukutomi Y, Taniguchi M, Watanabe J, Nakamura H, Komase Y, Ohta K, Akasawa A, Nakagawa T, Miyamoto T, Akiyama K.: Time trend in the prevalence of adult asthma in Japan: Findings from population-based surveys in Fujieda City in 1985, 1999, and 2006. *Allergol Int*. 2011,60(4):443-8.

- 5) Hibino Y, Takaki J, Ogino K, Kambayashi Y, Hitomi Y, Shibata A, Nakamura H.: The relationship between social capital and self-rated health in a Japanese population: a multilevel analysis. *Environ Health Prev Med*. 2012,17(1):44-52.
- 6) Fukutomi Y, Kawakami Y, Taniguchi M, Saito A, Fukuda A, Yasueda H, Nakazawa T, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K.: Allergenicity and Cross-Reactivity of Booklice (*Liposcelis bostrichophila*): A Common Household Insect Pest in Japan. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012,157(4):339-348.
- 7) Fukutomi Y, Kawakami Y, Taniguchi M, Saito A, Fukuda A, Yasueda H, Nakazawa T, Hasegawa M, Nakamura H, Akiyama K.: Allergenicity and Cross-Reactivity of Booklice (*Liposcelis bostrichophila*): A Common Household Insect Pest in Japan. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012,157(4):339-348.
- 8) Konoshita T, Makino, Kimura T, Fujii M, Morikawa N, Wakahara S, Arakawa K, Inoki I, Nakamura H, Miyamori I, The Genomic Disease Outcome Consortium (G-DOC) Study Investigators: A crossover comparison of urinary albumin excretion as a new surrogate marker for cardiovascular disease among 4 types of calcium channel blockers. *Int J Cardiol*.(in press)
- 9) Tanaka T, Hitomi Y, Kambayashi Y, Hibino Y, Fukutomi Y, Shibata S, Sugimoto S, Hatta K, Eboshida A, Konoshita T, Nakamura H: The differences in the involvements of loci of promoter region and Ile50Val in interleukin-4 receptor α chain gene between atopic dermatitis and Japanese cedar pollinosis. *Allergol Int*.(in press)
- 10) Usui C, Hatta K, Aratani S, Yagishita N, Nishioka K, Kanazawa T, Ito K, Yamano Y, Nakamura H, Nakajima T, Nishioka K.: The Japanese version of the 2010 American College of Rheumatology Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia

and the Fibromyalgia Symptom Scale: reliability and validity. *Mod Rheumatol*. (in press)

2.学会発表

- 1) 福富友馬、谷口正実、今野哲、西村正治、大矢幸弘、吉田幸一、岡田千春、高橋清、中村裕之、秋山一男、赤澤晃: インターネット調査による本邦の喘息のecological study 有病率の地域差とその規定因子. 第51回日本呼吸器学会学術講演会、2011年4月、東京
- 2) 福富友馬、中村裕之、谷口正実、千貫祐子、森田栄伸、岸川禮子、西間三馨、秋山一男: 加水分解小麦を含有する石鹸・シャンプーその他の化粧品の使用と成人小麦アレルギーとの疫学的な関係 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会、2011年11月、東京

H.知的所有権の出願・取得状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

