

大気中におけるスギ花粉アレルゲン含有粒子の浮遊挙動と 環境影響化学物質の複合影響

プロジェクト代表者：王 青 躍（理工学研究科 環境科学・社会基盤部門・准教授）

1 研究の背景と目的

1964年、日本でスギ花粉症の症例が報告され、特に1980年代以降からスギ花粉症患者の増加が指摘されるようになった。現在では国民の15%以上が発症しており、国内で最も罹患人口の多い疾患のひとつといわれている。スギ花粉症発症の原因物質はスギ花粉アレルゲンであり、主要なものとしてCry j 1とCry j 2の2種類が知られている。これらは共に分子量約40,000の塩基性の糖タンパク質であり、Cry j 1は主にスギ花粉（約30 μm）表面に付着しているユービッシュ小体（約0.7 μm）およびスギ花粉最表層を構成する花粉外壁に局在している。Cry j 2は花粉内膜やアミロプラスト内のデンプン粒に局在している。

花粉症は花粉が目や鼻腔、口に侵入し、その花粉から溶出したアレルゲンが原因となって惹起される。従来、花粉は鼻腔や口よりも気道深部へは侵入しないと考えられてきたが、我々の調査において、スギ花粉表面からユービッシュ小体が剥離している様子が観察された。すなわち、剥離したユービッシュ小体のような下気道へ侵入可能な花粉アレルゲンCry j 1を含む粒子状物質（以下Cry j 1含有粒子）の存在が明らかになった。Cry j 1含有粒子はアレルゲンを含んでいるため、吸入することで花粉症が誘発され、さらに、下気道へ侵入することによってスギ花粉喘息が引き起こされる可能性も報告されている。したがって、実大気中でのCry j 1含有粒子の飛散挙動（粒径別Cry j 1濃度や放出原因）を把握することが必要である。それらの把握は医学や疫学的研究、従来の飛散花粉数のみによる花粉個数情報からアレルゲン含有粒子に着目した花粉アレルゲン情報の提供を議論する上で重要である。

また、平成19年度の東京都福祉保健局の調査結果によると、東京都（都内3区市）の有病率は約28%であった。都市部におけるスギ花粉症患者の増加の原因の1つとして大気汚染物質の影響が考えられているが、これに関する研究は動物試験が殆どである。例えば、ラット（スギ花粉アレルゲンCry j 1を水酸化アルミニウムゲルと共に腹腔内に免疫済み）へのNO₂単独曝露により、スギ花粉に対するIgE抗体産生能が増強されたという報告である。原因の1つとして、NO₂曝露によりCry j 1の透過性が高まったと考えられるが、これも推測の域を出ておらず、大気汚染物質と花粉症の因果関係は明確になっていない。

本研究では、大気中でのCry j 1含有粒子に着目し、その飛散挙動（粒径別Cry j 1濃度や放出原因など）を明らかにすることである。特に、免疫蛍光抗体顕微鏡法を開発し、それを用いて、スギ花粉やCry j 1含有粒子の形態観察によって、花粉アレルゲンCry j 1を含む粒子状物質と他の環境影響化学物質の存在形態から複合影響への可能性について検討した。

2 研究の進め方

2.1 スギ花粉およびCry j 1含有粒子の捕集

以下の期間において、石英繊維フィルターを設置したアンダーセンハイボリウムエアサンプラー（以下AHV）にて大気中の飛散花粉およびアレルゲン含有粒子を粒径別捕集した（> 7.0 μm、3.3~7.0 μm、< 1.1 μm）。吸引流量は566 L/minである。

(1) 2006年度サンプリング

地点：埼玉大秩父山寮（山間部）および県道57号（都市部道路端）

* 晴日のみ

期間：平日；3月24日および27日（2地点同時）

休日；3月21日および25日（山間部）、休日；3月25日および26日（道路端）

捕集時間：47時間（最初の24時間分は0時～翌日24時まで。残り23時間分は0時～翌日23時まで。）

(2) 2007年度サンプリング

地点：地域共同研究センター（都市部）および県道57号（都市部道路端）

期間：3月5日～4月2日

捕集時間：71時間（10時～3日後の9時まで）

2.2 飛散花粉数の計数

2.1の期間において飛散花粉数の計測のため、Durham型花粉捕集器を用いて大気中の飛散花粉を捕集した。捕集部に花粉染色液を滴下して静置させた（20分）後、光学顕微鏡にて染色された花粉を計数し、飛散花粉数（単位面積当たりの花粉数）を算出した。

2.3 Cry j 1含有粒子の粒径別濃度測定

AHVの石英繊維フィルターからCry j 1を抽出し、Cry j 1測定用サンプルとした。サンプル中のCry j 1濃度は抗Cry j 1モノクローナル抗体（clone 013）およびペルオキシダーゼ抗Cry j 1抗体（clone 053）を用いたELISA法にて測定し（発色基質： σ -フェニレンジアミン、測定吸収波長：492 nm）、最終的に大気中Cry j 1濃度（ ng/m^3 ）に換算した。

2.4 免疫蛍光抗体顕微鏡法によるCry j 1含有粒子の存在形態の観察

本研究室では、スギ粉アレルゲンとモノクローナル抗体との特異的な結合を利用し、アレルゲン含有粒子の存在形態を可視化（蛍光標識）させるため、免疫蛍光抗体顕微鏡法という観察手法を確立した。この方法を用いて、大気試料（ $< 1.1 \mu\text{m}$ ）中のCry j 1含有粒子の存在形態を確認した。

3 研究の成果

3.1. 2006年のCry j 1測定結果

2006年の調査は、山間部および都市部道路端の2地点で実施した。調査期間中の飛散花粉数と粒径別Cry j 1濃度をFig. 1に示す。

スギ花粉（約 $30 \mu\text{m}$ ）よりも微小な粒径にCry j 1が検出された。2地点の平日を比較すると飛散花粉数は同程度であるが、 $< 1.1 \mu\text{m}$ のCry j 1濃度は道路端の方が2.6倍高かった。24日の前日2日間にわたり降雨が観測されていることや、27日の前日に花粉飛散数が多かったことなどが $< 1.1 \mu\text{m}$ のCry j 1含有粒子生成に寄与している可能性が考えられる。その他に、Cry j 1含有粒子が生成するような気象因子は無かった。また、道路端の平日と休日を比較すると、平日の方が2.3倍高かった。

さらに、道路端では $3.3\sim 7.0 \mu\text{m}$ の粒径範囲において山間部よりも高濃度のCry j 1が検出された。これは気象因子の他に、都市部や都市部道路端に特有の現象、例えば自動車走行が影響している可能性が考えられる。交通量の調査では山間部平日：約200台、山間部休日：約300台に対し、道路端平日：約21,000台、道路端休日：約19,000台であり、圧倒的に都市部道路端の交通量が多いため、このような交通量の多い都市部ではユービッシュ小体の剥離などが起こり易いと推測できる。

また、通常、飛散花粉数が少なければ、大気中のCry j 1濃度も低いと推測できるが、飛散花粉数が相対的に少ない期間にも関わらず、飛散花粉数の時系列と大気中Cry j 1濃度の時系列にずれがあった。こ

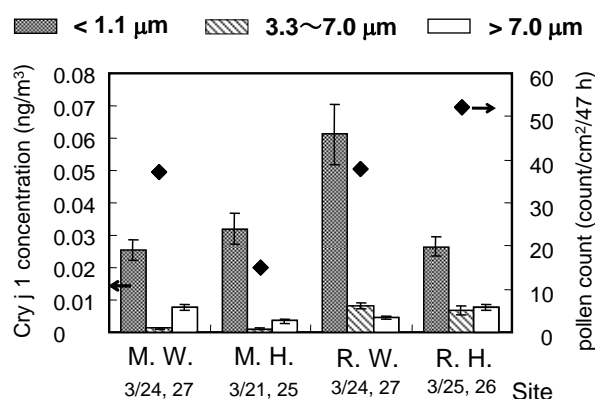


Fig. 1. Time series of Cry j 1 concentrations (FY 2006). M: Mountain site, R: Roadside site, W: Weekday, H: Holiday. The bars mean the standard deviation.

のため、降雨や交通量などのアレルゲン含有粒子の生成要因を調査することが重要であると考えられる。さらに、同じ調査地点である道路端において、ディーゼル車排気ガスなどに由来する元素状炭素 (EC)、有機炭素 (OC)、微量金属成分などが $< 1.1 \mu\text{m}$ の微小粒径範囲に高濃度観測されている。したがって、Cry j 1 含有粒子と共にこれらの大気汚染物質が人体へ侵入することにより、アジュバント効果などの複合的な健康影響なども懸念される。

3.2. 2007 年の Cry j 1 測定結果

2007 年の調査は、都市部および都市部道路端の 2 地点で実施した。調査期間中の飛散花粉数および粒径別 Cry j 1 濃度、降水量を Fig. 2 に、風向および風速を Fig. 3 に示す。

Fig. 2 より、 $< 1.1 \mu\text{m}$ に高濃度の Cry j 1 が検出された。これは 2006 年の Cry j 1 含有粒子の粒径分布の傾向と一致している。また、飛散花粉数の時系列と大気中 Cry j 1 濃度の時系列にずれがあった。3 月 23 日～26 日の期間において $< 1.1 \mu\text{m}$ に高濃度の Cry j 1 が検出されたが、25 日の 5 時～14 時に降水が 19 mm 観測されたので、これによる Cry j 1 含有粒子の生成の可能性が考えられる。

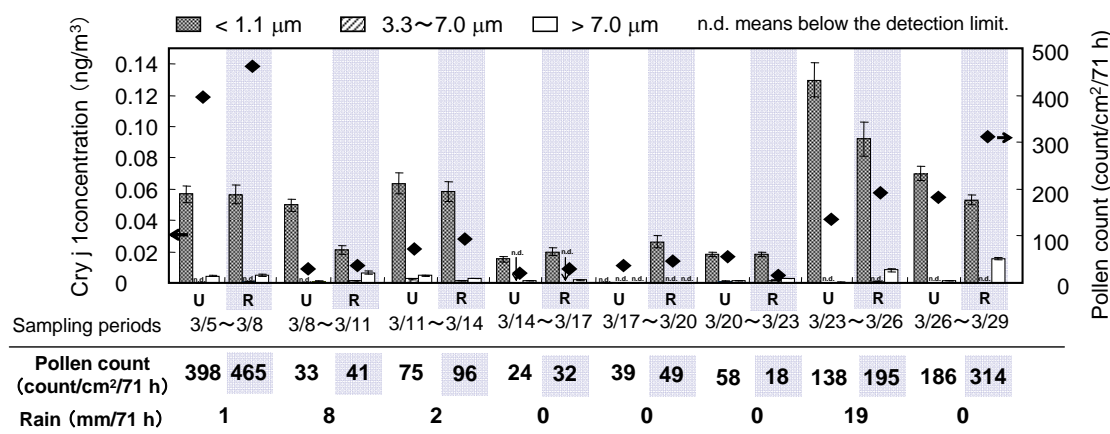


Fig. 2. Time series of Cry j 1 concentrations (FY 2007) . U: Urban site, R: Roadside site. The bar means the standard deviation.

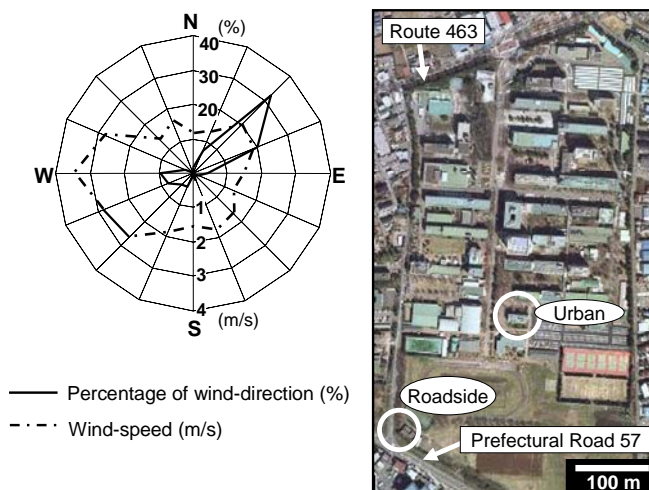


Fig. 3. Wind rose for the sampling periods at the urban area.

また、2006 年の調査において都市部道路端では $3.3\sim 7.0 \mu\text{m}$ の粒径範囲において、山間部よりも高濃度の Cry j 1 が検出された。この結果より、この原因に都市部や都市部道路端に特有の現象、例えば自動車走行が影響している可能性を考えた。しかし、Fig. 2 より都市部と都市部道路端との間において、各粒径の Cry j 1 濃度に差異は現れなかった。

Fig. 3 より、期間中の都市部道路端から都市部への平均風速 (南西) が 2.6 m/s のため、都市部への Cry

j 1 含有粒子の一部流入の可能性も考えられる。しかし、南西風の風向頻度が 4.6 % と低く、都市部から都市部道路端への風向頻度（北東）が 32 % と最大であったことを考慮すると、都市部道路端である埼玉県道 57 号以外からの Cry j 1 含有粒子の移流などが推測される。

また、走査型電子顕微鏡による剥離したユービッシュ小体の観察結果と併せて、2006 年および 2007 年の調査にて < 1.1 μm に Cry j 1 が検出されていることから、下気道に侵入可能な Cry j 1 含有粒子の存在が明らかになった。したがって、今後はその生成因子を中心とした Cry j 1 含有粒子の飛散挙動を調査、研究する必要があると考えられる。

3.3. 免疫蛍光抗体顕微鏡法による Cry j 1 含有粒子の存在形態の検証

緑色の蛍光発光を示す Cry j 1 含有粒子が観察できた。花粉本体の形態と明らかに異なり、花粉本体からのフラグメントに由来するものと考えられる 1.1 μm 以下の Cry j 1 含有粒子、または剥離したユービッシュ小体などの微小な Cry j 1 含有粒子の凝集体のような形態が観察された。

4 研究成果のまとめと今後の展開

本研究より、1.1 μm 以下の微小粒径範囲に高濃度の Cry j 1 が検出され、スギ花粉アレルゲン含有粒子の放出現象が明らかになった。さらに、スギ花粉から放出される Cry j 1 含有粒子のピークに時系列的な遅れが生じるため、少ない花粉飛散日においても、時系列的な遅れで放出されたアレルゲン含有粒子の異常的発生が生じる可能性が示唆された。スギ花粉が雄花から飛散し、都市部まで移流、浮遊して、人体の呼吸器官に到達するまでに、大気汚染物質がさらに沈着する可能性が考えられた。そのため、今後、もう一種のスギ花粉アレルゲン Cry j 2 含有粒子の挙動も把握する上で、大気汚染物質によりスギ花粉アレルゲンが変性（タンパク質のニトロ化や酸性化など）を調査し、並びにそのアレルギー症状の悪化への関連する因子を検討したい。これらの研究成果を上げていくことは、今後の花粉症対策、さらには大気汚染物質とアレルゲンとの反応によるアレルゲン変性などを評価する緊急性も明らかにされることであろう。

5 誌上発表及び学会発表リスト

- 1) Wang Q., K. Kurihara, H. Kiryu, K. Sakamoto, M. Miwa and I. Uchiyama, Measurement of airborne respirable particles containing Japanese cedar pollen allergen (Cry j 1) in different sites of Kanto Area, Japan, *Proceedings of the 11th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Vol.1* (2008) accepted.
- 2) 王青躍, 栗原幸大, 桐生浩希, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巖雄, スギ花粉飛散期における飛散花粉数およびアレルゲン含有微小粒子状物質の高濃度出現の時系列的挙動差異, *エアロゾル研究*, 23(2), 120-126 (2008).
- 3) 栗原幸大, 王青躍, 桐生浩希, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巖雄, 埼玉県都市部、道路端および山間部におけるスギ花粉アレルゲン含有粒子状物質の飛散挙動に関する研究, *大気環境学会誌*, Vol.42, No.6, pp.362-368 (2007).
- 4) 王青躍, 都市部飛散浮遊花粉への大気汚染化学物質の物理・化学的複合影響に関する研究（課題番号:17310031）平成17～19年度科学研究費補助金（基盤研究（B））研究成果報告書, pp. 1-250 (2008).
- 5) 王青躍, 栗原幸大, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巖雄, 日本エアロゾル学会, 国内学会, 口頭発表, 2007年8月, スギ花粉アレルゲンCry j 2含有粒子の粒径分布に関する研究, 第24回エアロゾル科学・技術研究討論会 pp.189-190.
- 6) 栗原幸大, 王青躍, 桐生浩希, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巖雄, 大気環境学会, 国内学会, 口頭発表, 2007年9月, スギ花粉アレルゲン（Cry j 1およびCry j 2）含有粒子の粒径分布, 第48回大気環境学会年会講演要旨集, p.391.
- 7) 桐生浩希, 王青躍, 栗原幸大, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巖雄, 日本花粉学会, 国内学会, 口頭発表, 2007年9月, スギ花粉由来のアレルゲンCry j 1と水溶性有機炭素の溶出挙動に関する研究, 第48回日本花粉学会年会, p.54.
- 8) 王青躍, 桐生浩希, 坂本和彦, 三輪誠, 内山巖雄, 日本花粉学会, 国内学会, 口頭発表, 2007年9月, 栗原幸大, 埼玉県におけるスギ花粉アレルゲン含有粒子の飛散挙動に関する調査, 第48回日本花粉学会年会, p.55.