

プロジェクト A08-77

## 新学術領域計画研究立案のための飛散スギ花粉と大気汚染物質との相互作用に関する基盤的研究

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

本プロジェクト研究は、我が国において既に深刻化している、また海外においても人体健康に懸念されつつある大陸飛来の黄砂現象、スギ花粉症の原因物質であるアレルゲンに着目し、これまでの基礎研究から得られたスギ花粉アレルゲン含有粒子の放出に伴う微小化と表面変化の知見に加え、花粉アレルゲン含有粒子への黄砂や大気汚染化学種沈着影響評価、物理的・化学的修飾に関する基礎研究を行ってきた。

特に、さいたま市の都市部において、スギ花粉症の有病率が高いという疫学調査結果が得られている。この原因として大気汚染物質による複合影響説が有力視されている。しかし、スギ花粉と大気汚染物質との調査は動物試験によるアジュバント効果などの検証実験であり、環境中の汚染物質と花粉症発症の原因物質であるスギ花粉アレルゲンとの反応および変性を調査した報告は無いのが現状である。

一方、近年、大陸由来の黄砂粒子の飛来が早まり、スギ花粉飛散ピークと重なって度々観測されている。しかし、黄砂などの越境大気汚染による健康影響に関しては、あまり研究例がない。本来、スギ花粉は人間の鼻腔や口までは侵入するものの、下気道への吸入は無いと考えられてきたが、これまでの研究で、スギ花粉のアレルゲン含有微小粒子が  $1.1 \mu\text{m}$  以下に存在して大気中に長時間浮遊していることを明らかにした<sup>1)</sup>。花粉飛散ピークやアレルゲン含有粒子の高濃度出現と同時期に黄砂の飛来が観測されているため、都市部において、越境大気汚染で修飾された黄砂が、スギ花粉と接触することで、スギ花粉も修飾され、アレルギーを増悪させる可能性も考えられる。花粉飛散から人体の呼吸器官への吸収までの間の花粉自体の微小化影響、微小アレルゲン含有粒子の高感度計測、黄砂粒子と汚染化学種の沈着や物理的・化学的修飾・毒性増強、花粉症罹患への黄砂と汚染化学種の複合影響を評価する必要がある。

本研究では、都市部で排出される汚染化学種によるスギ花粉や黄砂の修飾に関する影響評価を行い、その動態解析手法を開発し、花粉と黄砂・汚染化学種の影響評価を踏まえ、2008年度に採択された文科省新学術領域計画研究の基盤研究として推進してきた。

### 2 実験方法

**2.1 黄砂飛来時における飛散花粉数測定** 単位面積当たりの飛散花粉数を Durham 型花粉捕集器によって計測と形態観察を行い、飛散花粉数(個/cm<sup>2</sup>/23 h)を算出した。また、2009年において、花粉自動モニターによる花粉数連続計測を行った。

**2.2 花粉とアレルゲン含有粒子存在形態の解析** 走査型電子顕微鏡を用いた花粉形態を観察し、また免疫蛍光抗体法によるアレルゲン粒子の可視化、並びに微小粒径への移行確認を行った。

**2.3 アレルゲンの高速計測法の開発** 2008年黄砂飛来時の大気サンプルから Cry j 1 を溶媒抽出し、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 マウスモノクローナル抗体と酵素標識抗 Cry j 1 マウスモノクローナル抗体を用いた ELISA 法にて測定し、最終的に大気中 Cry j 1 濃度 (ng/m<sup>3</sup>) に換算した。また、TOC 計による花粉アレルゲンと花粉由来 WSOC の寄与評価を行い、同時に、模擬降雨中のカチオン (K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) を変化させ、Cry j 1 および Cry j 2 の溶出量変化を調査した。また Biacore J システムを導入し、表面プラズモン共鳴法 (SPR 法) による高速なアレルゲン測定法を開発し、スギ花粉・黄砂飛来時の大気サンプル中の Cry j 1 含有粒子を粒径別に評価し、挙動を解析した。

### 3 研究の成果

2008年3月3日、4日、日本列島の広範囲の地上で黄砂が早期に観測された。特に、2008年3月3日には、国内の観測地点76地点中48地点で黄砂の飛来が観測されていた<sup>2)</sup>。また、2009年3月1日から3月25日におけるKH-3000-01にて測定した花粉数について黄砂飛来情報に合せてFig. 1に示している。黄砂が広範囲で観測された3月11日～12日と3月16日～20日には飛散花粉数がピークになっており、黄砂飛来ピークと花粉飛散ピークとの重なりが再び観測された。

さらに、黄砂飛来時における飛散花粉数とCry j 1の粒径別濃度をFig. 2にまとめた。1.1 μm以下の微小粒径範囲において、他の粒径範囲より高濃度のCry j 1濃度が測定された。1.1 μm以下の微小粒子は肺胞まで到達することができるため、下気道へ侵入可能なCry j 1含有微小粒子の存在が示唆された。3月4日～5日の国道463の花粉数は3月6日～7日より少なかったにもかかわらず、Cry j 1含有微小粒子の濃度はほぼ同程度であった。すなわち、高濃度のCry j 1含有微小粒子が、黄砂や汚染化学種と共に下気道へ侵入し、何らかの相乗効果を及ぼし、人体への悪影響を増幅させる可能性が考えられた。

SEMを用いた降雨による破裂現象とアレルゲン表面分布がFig. 3に示すように観察された。異なるカチオン(K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>)の模擬降雨の溶出実験では、Cry j 1溶出濃度はCa(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>の時に最も高かった。同じ塩成分同士では、塩濃度80~150 mNの間のCry j 1溶出濃度に大きな変化はなかった。しかし、塩濃度150~1500 mNにおいて塩濃度に比例して、Cry j 1溶出濃度は減少した。一方、150 mN~500 mNのCa(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>の模擬降雨中でCry j 2溶出濃度は高くなり、500 mNの時にはKNO<sub>3</sub>、NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>の模擬降雨中の溶出濃度も高くなった。Cry j 1とCry j 2の溶出挙動を比べると、全体的にCry j 1の方が溶出濃度が高かった。塩濃度が低い時にCry j 1溶出濃度は高く、塩濃度が高い時にCry j 2溶出濃度は高くなった。Fig.1とFig.2に示したように、2008年の花粉飛散期はアジア大陸からの黄砂の飛来期と重なる時期もあるため、黄砂が飛来した際の降雨にはCa<sup>2+</sup>イオンが溶出し、より多くのアレルゲンが微小粒径へ移行し、花粉症由来の喘息を引き起こす可能性も考えられた。本プロジェクト研究成果は、2008年度に採択された新学術領域計画研究の獲得に大きく貢献し、今後も着実な継続研究を進めていきたい。

#### 参考文献

- 1) 王青躍ら(2008)、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.
- 2) Japan Meteorological Agency: [http://www.data.kishou.go.jp/obs-env/kosahp/kosa\\_shindan.html](http://www.data.kishou.go.jp/obs-env/kosahp/kosa_shindan.html)

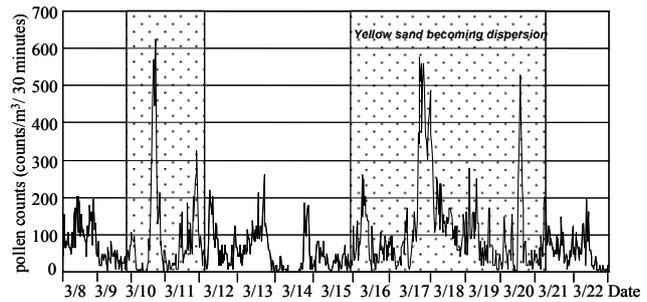


Fig. 1. Yellow sand and pollen counts from 3/8 to 3/22 in 2009 by an automatic pollen monitor.

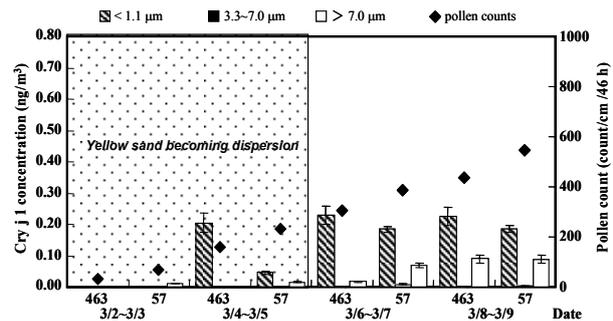


Fig. 2. Cry j 1 concentrations, yellow sand and pollen counts (2008).

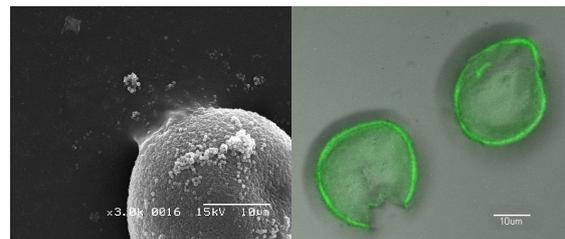


Fig. 3. Scanning electron micrographs of airborne pollen. (a) Exfoliation of Ubisch body (b) Pollen rupture and 3D image of *Cryptomeria japonica* pollen grains with an immunofluorescence antibody method.