

Title	UPPRESSIVE EFFECTS OF DIESEL EXHAUST PARTICLES ON CYTOKINE RELEASE FROM HUMAN AND MURINE ALVEOLAR MACROPHAGES.
Sub Title	ディーゼル排気微粒子はヒトとマウスの肺胞マクロファージのサイトカイン産生を抑制する
Author	天川, 和久
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.9-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0009

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

SUPPRESSIVE EFFECTS OF DIESEL EXHAUST PARTICLES ON CYTOKINE RELEASE FROM HUMAN AND MURINE ALVEOLAR MACROPHAGES.

(ディーゼル排気微粒子はヒトとマウスの肺胞マクロファージのサイトカイン産生を抑制する)

天 川 和 久

内容の要旨

【背景】大気汚染物質のうち粒径が $10\mu\text{m}$ 以下のものは浮遊微粒子 (suspended particulate matterあるいは PM_{10}) と呼ばれ、その大気中濃度の上昇と呼吸器疾患の関連があることが疫学的に報告された。我が国における PM_{10} の発生源はディーゼル自動車からの排気ガスに含まれるディーゼル排気微粒子 (diesel exhaust particles ; DEP) で、肺胞マクロファージ (AM) を介する免疫反応に影響を与えることが示されているが、その機序は十分に明らかになっていない。そこで本研究はDEPへの曝露がAM機能、特にサイトカイン産生に及ぼす影響についてヒトおよびマウスのAMを用いて検討することを目的とした。

【材料および方法】ディーゼルエンジンよりDEPを集め、 50mM リン酸緩衝液中に浮遊させ超音波破砕機で攪拌しDEP浮遊液 ($0\sim 10\mu\text{g}/\text{mL}$) を作成した。気管支肺胞洗浄 (BAL) で採取し培養液に混和したマウスAMをDEPに24時間曝露、上清のTNF- α 、IL-6をELISAで測定した。マウスAMをエンドトキシンおよびIFN- γ で刺激後同様にDEPに曝露、上清のTNF- α 、IL-6を測定した。BALで採取した健常ヒトAMをエンドトキシンで刺激後DEPに曝露、上清のTNF- α 、IL-6、IL-8を測定した。Superoxide dismutase (SOD) で前処置したマウスAMをDEPに曝露、上清の活性酸素濃度を化学発光法で測定し、IL-6を測定した。マウスAMをカーボン粒子 ($0\sim 100\mu\text{g}/\text{mL}$) およびDEPのメタノール抽出成分 ($0\sim 10\mu\text{g}/\text{mL}$) にそれぞれ曝露、TNF- α 、IL-6を測定した。マウス・ヒトAM曝露時のDEPの細胞障害性について上清のLDH濃度、トリパンブルー色素排除法、WST-8法で検討した。

【結果】DEP曝露によりマウスAMのTNF- α 、IL-6産生は抑制された。エンドトキシン、IFN- γ で刺激したマウスAMのTNF- α 、IL-6産生はDEP曝露により濃度依存性に抑制された。エンドトキシン刺激後のヒトAMのTNF- α 、IL-6、IL-8産生はDEP曝露 ($10\mu\text{g}/\text{mL}$) により抑制された。SODの前処置によりDEPによる活性酸素の産生は低下し、同時にIL-6の産生減少作用も部分的に抑制された。カーボン粒子曝露ではマウスAMからのTNF- α およびIL-6産生は抑制されなかった。メタノール抽出成分 ($10\mu\text{g}/\text{mL}$) 曝露で、マウスAMのTNF- α 、IL-6産生は抑制された。細胞障害性については本研究で用いた濃度 ($0\sim 10\mu\text{g}/\text{mL}$) のDEPでは示さなかった。

【結果】DEP曝露が肺の炎症に対し抑制的に作用する可能性と、その抑制効果がDEPの核となる炭素粒子ではなく、メタノール抽出成分に起因し活性酸素が関与している可能性が示唆された。

論文審査の要旨

ディーゼル自動車の排気ガスに含まれるディーゼル排気微粒子 (diesel exhaust particles ; DEP) は重要な大気汚染物質で、肺胞マクロファージ (AM) の免疫反応を低下させるがその機序は明らかではない。本研究ではDEPへの曝露がAMのサイトカイン産生に及ぼす影響について、ヒトおよびマウスのAMを用いて検討した。マウスAMにそのまま、あるいはエンドトキシンないしIFN- γ で刺激後、DEPを曝露、上清のTNF- α ・IL-6をELISAで測定した。ヒトAMではエンドトキシン刺激後DEPを曝露、TNF- α ・IL-6・IL-8を測定した。結果、DEP曝露によりマウス・ヒト共にサイトカイン産生は抑制された。またSuperoxide dismutase (SOD) で前処置後のマウスAMにDEPを曝露、上清の活性酸素濃度とIL-6を測定したところ、SODでDEPによる活性酸素濃度は低下、IL-6の産生減少作用は抑制された。またマウスAMにカーボン粒子およびDEPのメタノール抽出成分を曝露した結果、カーボン粒子でサイトカイン産生は抑制されず、メタノール抽出成分では抑制された。上清のLDH濃度、トリパンブルー色素排除法、WST-8法による検討では、本研究で用いたDEP濃度 ($0\sim 10\mu\text{g}/\text{mL}$) では細胞傷害性は示さなかった。以上から、DEPは細胞傷害性を示さず肺の炎症に抑制的に作用すること、その作用がメタノール抽出成分に起因し活性酸素が関与していることが示唆された。

審査では、より高濃度のDEPでの反応について質問があり、細胞傷害性が認められたと回答されたが、細胞傷害性を示す濃度も併せて記載されるべきだとの助言がなされた。また本実験はin vitroでの検討だったが、in vivoでのDEPの作用について質問があり、動物のDEP吸入実験においても、サイトカインのmRNA発現が抑制される報告や易感染性が誘発される報告があると回答された。またAM間の相互作用が実験に影響を与える可能性についても検討される必要があるとの指摘もされた。メタノール抽出成分作成時に生じた沈殿物に生体へ作用する物質が含まれていないかとの質問には、メタノール抽出成分分離後の炭素粒子は活性酸素を産生しないとの報告があり生体へ作用する物質が含まれる可能性は低いのではないかと回答された。メタノール抽出成分のどの成分がサイトカイン抑制作用を有するのか、成分分析を含め検討されるべきであるとの助言もされた。また一部に統計処理での不備があることと、DEPとそのメタノール抽出成分の提供元についての記載が不十分であるとの指摘もあった。

以上、本研究ではなお検討すべき課題を残しているものの、重要な大気汚染物質であるDEPが肺に与える影響について、AMのサイトカイン産生という点から明らかにした意義のある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 小川 聡
外科学 小林 絃一 衛生学公衆衛生学 大前 和幸
微生物学・免疫学 小安 重夫
学力確認担当者：北島 政樹、小林 絃一
審査委員長：小林 絃一

試問日：平成17年 7月29日