

## ディーゼル車排出ガスと花粉症 胎仔期・哺乳期低濃度曝露の影響

渡辺 伸枝\*, 大澤 誠喜\*, 湯澤 勝廣\*\*, 矢野 範男\*\*, 長澤 明道\*\*,  
久保 喜一\*\*, 高橋 博\*\*, 安藤 弘\*\*, 小縣 昭夫\*\*, 上原 真一\*

### Immune response to *Cryptomeria japonica* pollen in rats exposed to low dose diesel exhaust during fetal and suckling periods

Nobue WATANABE\*, Masanobu OHSAWA\*, Katsuhiko YUZAWA\*\*, Norio YANO\*, Akimichi NAGASAWA\*\*,  
Yoshikazu KUBO\*\*, Hiroshi TAKAHASHI\*\*, Hiroshi ANDO\*\*, Akio OGATA\*\* and Shin-ichi UEHARA\*

**Background** Previous studies demonstrated that the inhalation of diesel exhaust during the fetal and suckling periods accelerated the elevation of IgE against pollen. This study was conducted to determine the non-effect dose of diesel exhaust exposure on immune responses against pollen.

**Methods** Pregnant rats were divided into nine groups: Group 1, exposed to clean air (Control), Groups 2, 3, 4 and 5, exposed to total or filtered diesel exhaust during the fetal period (HT-C-C, LT-C-C, HF-C-C, LF-C-C), and Groups 6, 7, 8 and 9, exposed to total or filtered diesel exhaust during the suckling period (C-HT-C, C-LH-C, C-HF-C, C-LF-C). Total diesel exhaust contained 1.71 mg/m<sup>3</sup> particulate matter and 0.80 ppm nitrogen dioxide (high dose) or 0.17 mg/m<sup>3</sup> particulate matter and 0.10 ppm nitrogen dioxide (low dose). Filtered exhaust without particles contained 0.80 (high dose) or 0.10 (low dose) ppm nitrogen dioxide. Intraperitoneal injection of 5mg crude cedar pollen was performed 3 or 4 times at 2-week intervals from the 49th day after birth.

**Results and discussion** The IgE titers measured by P-K reaction of the LT-C-C and LF-C-C groups elevated to the same levels of those of the HT-C-C and HF-C-C groups and were significantly higher than those of the Control group after the 3rd immunization. The IgE titers in the C-LH-C and C-LF-C groups elevated to the same levels of those of the C-HT-C and C-HF-C groups and were significantly higher than those of the Control group after the 4th immunization. The threshold dose of diesel exhaust exposure that elevates IgE against pollen could be lower than the dose used in this study.

**Keywords** : ディーゼル車排出ガス diesel exhaust, ラット rat, スギ花粉 *Cryptomeria japonica* pollen, 免疫グロブリン E IgE, 胎仔期 fetal-period, 哺乳期 suckling period, インターロイキン interleukin, 肥満細胞 mast cell

#### 緒 言

ディーゼル車からの排出ガスが、スギ花粉症の発症に関与していることが注目されている。石山らは、日光地方における疫学調査において、花粉症発症率は花粉飛散数が同様な地区においても自動車交通量の多少により異なること<sup>1)</sup>、小泉は、いはら坂の自動車交通量と日光地方の花粉症頻度とがあいまって増加していることから花粉症の発症に自動車からの排出ガスが関与していることを示唆した<sup>2)</sup>。一方、実験的には、スギ花粉抗原を投与時にディーゼル排出粒子を混合すると特異的IgE抗体の産生が増強されたことから、ディーゼル車排出粒子はアレルギー反応を増強するアジュバント作用を持つことが報告されている<sup>3-7)</sup>。

一方、排出ガスを妊娠ラットに曝露すると胎仔胸腺のリンパ球の増殖抑制がみられ、この原因として母体の血中テストステロンの高濃度蓄積が示唆されている<sup>8)</sup>。また、免疫機能の中枢的器官である胸腺はステロイドホルモンに対する感受性が高く、ステロイド剤の投与は免疫機能の低下を起こすが、特に妊娠動物にステロイド剤を投与した場合、その影響は母体ばかりでなく胎仔にも及び、胸腺上皮細胞の機能を抑制し胸腺リンパ球の分化を阻害することが報告されている<sup>9-11)</sup>。これらのことから、排出ガスの妊娠動物への曝露、すなわち胎仔期における曝露は、胎仔の免疫担当臓器の発達を抑制することによって、アレルギーを起こしやすい体質にする可能性が考えられる。すでに著者は、

\* 東京都健康安全研究センター環境保健部環境衛生研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

\* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

\*\* 東京都健康安全研究センター環境保健部病理研究科

胎仔期，哺乳期あるいは離乳後に排出ガスに曝露されたラットについてスギ花粉抗原に対する反応を比較し，胎仔期曝露は花粉に特異的なIgE抗体の上昇を起しやすきことを報告した<sup>12,13)</sup>．すなわち，排出ガスの花粉症への関わりについて，これまで報告されているアジュバンド作用とは異なる側面からの影響のあることを明らかにした．

本研究では，排出ガスの曝露濃度を前回の十分の一に下げた低濃度曝露の条件を新たに設定し，排出ガス曝露の免疫機能に及ぼす影響の閾値について検討した．これまでの研究では，排出ガスに離乳後に曝露されたラットでは花粉に対するIgE抗体価が対照群と同様であったこと<sup>12)</sup>，また雌雄の仔ラットのスギ花粉に対する反応に大きな違いはなかったことから<sup>12,13)</sup>，今回は胎仔期並びに哺乳期に曝露された雄仔ラットを用いた．排出ガスの曝露は，排出ガス中の粒子状成分・ガス状成分各々の寄与率をみるため，排出ガスを曝露する全排出ガス曝露と，粒子状成分を除去しガス状成分に曝露する除塵排出ガス曝露で行った．また，胎仔期曝露群については，花粉に特異的なIgEの上昇を起す免疫反応について検討するため血中IL-2,4,10の測定と，T細胞依存性に増加する粘膜内肥満細胞<sup>14)</sup>を肺組織を用いて検出した．

#### 実験方法

曝露方法： 曝露実験に用いる排出ガスの発生源として，排気量309ccの小型のディーゼルエンジン（ヤンマーディーゼルエンジンNFAD-50-EX），燃料には軽油（JIS2号相当，日本石油）を用い，回転数2,600rpmで運転した．その排出ガスを清浄空気で希釈し，曝露チャンバー内に導入した．チャンバーの容量は1.6m<sup>3</sup>，換気回数は15回/時，換気容量は405/minであった．全排出ガス曝露チャンバーには希釈したディーゼル排出ガスを導入した．除塵排出ガス曝露チャンバーには，希釈排出ガスをヘパフィルター（ATM 3QA,日本無機）に通し，0.05μm以上の粒子状成分を除去して導入した．対照群には室内空気を活性炭層（SX, HC-6・ツルミコール）とヘパフィルターを通した清浄空気を導入した．

Table1. Concentraion of PM and NO<sub>2</sub> in the inhalation chambers.

	PM particulate matters (mg/m <sup>3</sup> )	NO <sub>2</sub> nitrogen dioxide (ppm)
Control	<0.01	0.02
High dose total exhaust	1.71	0.79
Low dose total exhaust	0.17	0.10
High dose filtered exhaust	<0.01	0.80
Low dose filtered exhaust	<0.01	0.10

曝露条件： 各チャンバー内の環境濃度は，粉塵濃度計（線式質量濃度計BAM-102型、SHIBATA）と，窒素酸化物測定器（9841型Monitor Lobs Co.）で常時モニターした．全排出ガス曝露群，除塵曝露群並びに対照群のチャンバー内の曝露時間内平均粉塵濃度と二酸化窒素濃度をTable1に示した．アンダーセン型ロープレッシャー・インパクター（LP型，東京ダイレック）を用いて計測した低濃度全排出ガス曝露チャンバー内の浮遊粉塵の粒径は90%以上が0.5μm以下であった．

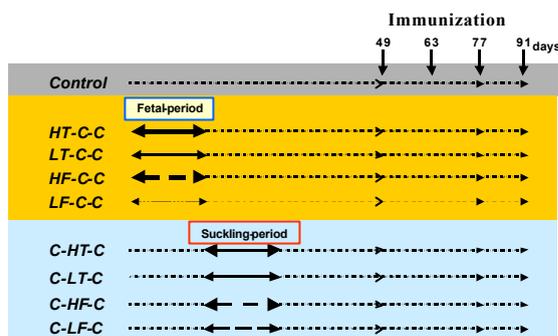


Fig.1. Experimental Protocol. Control, exposed to clean air during all of the experimental period; HT-C-C & LT-C-C, exposed to total diesel exhaust from the 7th day of gestation (day of impregnation = day 0) until birth, then exposed to clean air until days 49, 82 and 96 after birth; HF-C-C & LF-C-C, exposed to filtered exhaust from the 7th day of gestation until birth, then exposed to clean air until days 49, 82 and 96 after birth; C-HT-C & C-LH-C, exposed to diesel exhaust from the 2nd day after birth through the 17th day after birth. The group was exposed to clean air during the other periods of the experiment; C-HF-C & C-LF-C, exposed to filtered exhaust from the 2nd day after birth through the 17th day after birth. The group was exposed to clean air during the other periods of the experiment.

動物の曝露と免疫のスケジュール： Fig.1に動物の曝露と免疫のスケジュールを示した．72匹の妊娠ラット（F344/DuCrj）を日本チャールスリバーから購入し，実験はこれらの妊娠ラット由来の仔ラットを用いて行った．実験群は，胎仔期高濃度全排出ガス曝露群（HT-C-C），胎仔期低濃度全排出ガス曝露群（LT-C-C），胎仔期高濃度除塵排出ガス曝露群（HF-C-C），胎仔期低濃度除塵排出ガス曝露群（LF-C-C），哺乳期高濃度全排出ガス曝露群（C-HT-C），哺乳期低濃度全排出ガス曝露群（C-LT-C），哺乳期高濃度除塵排出ガス曝露群（C-HF-C），哺乳期低濃度除塵排出ガス曝露群（C-LF-C）並びに対照群（Control）の9群である．各群の呼称と処置の一覧をFig.1に示した．なお，群の呼称は，胎仔期における曝露状況（胎生7日目から出生まで）哺乳期における曝露状況（生後2日目から17日目まで）その後の曝露状況の順に記載しており，HT（High dose Total exhaust）は高濃度全排出ガス曝露，LT（Low dose Total

exhaust)は低濃度全排出ガス曝露, HF (High dose Filtered exhaust)は高濃度除塵排出ガス曝露, LF (Low dose Filtered exhaust)は低濃度除塵排出ガス曝露, C (Clean air)は清浄空気の略称である。曝露時間は午前10時から午後4時まで1日6時間, 週5日間行い, 曝露日数は12日間であった。

各群のラットは, 温度  $24 \pm 2$ , 湿度  $55 \pm 5\%$ に維持されたチャンバー内で飼育した。飼料はラット用標準飼料を与えた (MF, オリエンタル酵母)。仔ラットは生後23日目の離乳時まで親ラットと共に飼育し, その後, 同群の仔ラットを雌雄に分け, 無作為に1ケージ当たり6-8匹収容して飼育した。

生後49日目から2週間ごとに, スギ花粉を抗原として腹腔内投与した。感作実験前と, 3回及び4回感作の5日後にエーテル麻酔下にて全採血した。花粉は一回につき粗抗原量として5mgを水酸化アルミゲル4mg (Pierce, USA)とともに  $\text{NaHCO}_3$  (0.125M, 0.3mL)に加えて投与した。実験に使用した花粉粗抗原は, タンパク100 $\mu\text{g}$ につきスギ花粉の主要抗原である Cry j 1, Cry j 2を各々26.7 $\mu\text{g}$ , 2.7 $\mu\text{g}$ 含有していた。

P-K反応によるスギ花粉に特異なIgEの測定: 即時型皮膚反応の一つである Prausnitz-Kustner (P-K)反応は抗原に特異的なIgE抗体の量と高い相関があることが知られている<sup>15)</sup>。スギ花粉抗原に特異なIgE抗体価をP-K反応によって測定した。3回あるいは4回花粉感作したラットから採取した血清を2倍段階希釈し, それぞれ0.1mLづつ, 日本チャールスリバーから購入した9週齢の雄ラット (F344/DuCrj)の背部皮内に接種した。48時間後にスギ花粉精製抗原である0.5 $\mu\text{g}$ のCry j 1と0.25 $\mu\text{g}$ のCry j 2 (林原生物化学研究所)の混合液0.02mLを血清を接種した部位に皮内注射するとともに, 0.5%のエバンスブルー液を1mL静注し, 30分後に出現する青いスポットを皮膚の裏面から計測した。スポットの直径5mm以上のものを陽性とした。

インターロイキンの測定: 胎仔期曝露群の4回感作後の血清中インターロイキン-4(IL-4), インターロイキン-2(IL-2), インターロイキン-10(IL-10)をELISA法で測定した (BioSource International, Inc., USA)。

組織学的検査 10%中性緩衝ホルマリン液を気管支から注入し肺を固定した。常法に従ってパラフィン包埋後, 4 $\mu\text{m}$ に薄切した。ヘマトキシリン・エオジン染色並びにアルシアン・ブルー (pH2.5)染色を施し, 肺組織の形態学的検査を行うとともに, 気管支周囲の結合組織並びに粘膜上皮の肥満細胞を検出した。

### 実験結果

体重・臓器重量 Table2に花粉投与前の生後49日目, 花粉投与の後である生後82, 96日目における各群の仔ラットの体重, 脾臓重量並びに胸腺重量を示した。生後82日目のHF-C-C群の胸腺重量は同時期の対照群に比べ有意に低かった。また, 生後96日目のHF-C-C群の胸腺重量は同時期のLF-C-C群に比べ有意に低かった。排出ガス曝露群と除塵排出ガス群の間にはいずれの時期においても差がみられなかった。一方, 体重並びに脾臓重量はいずれの時期においても各群間に差はみられなかった。

P-K反応によるスギ花粉に特異なIgE抗体価 Fig.2にスギ花粉で3回あるいは4回感作した後のP-K反応で測定したIgE抗体価の幾何学的平均値を対数目盛で示した。花粉感作3回後では, 胎仔期に曝露されたHT-C-C, LT-C-C, HF-C-C, LF-C-C群のIgE抗体価は対照群に比べ有意に高かった (各々  $P < 0.01$ , Table3)。曝露濃度による違いあるいは曝露物質による違いはみられなかった。哺乳期に低濃度の排出ガス曝露されたC-LT-C群とC-LF-C群のIgE抗体価は対照群に比べ有意に低かった (各々  $P < 0.05$ , Table3)。また, C-LT-C群のIgE抗体価はC-HT-C群に比べ, C-LF-C群のIgE抗体価はC-HF-C群に比べ有意に低かった (各々  $P < 0.05$ , table3)。

Table2. Average body, spleen and thymus weight of male rats from each group on days 49, 82 and 96.

	non-immunized rats on day 49			82-day-old rats immunized three times			96-day-old rats immunized four times					
	No. of rats	body weight (g)	spleen (mg)	thymus (mg)	No. of rats	body weight (g)	spleen (mg)	thymus (mg)	No. of rats	body weight (g)	spleen (mg)	thymus (mg)
Control	11	126.0 $\pm$ 12.0	429.7 $\pm$ 45.5	299.6 $\pm$ 6.4	10	233.8 $\pm$ 10.3	527.6 $\pm$ 24.0	212.1 $\pm$ 16.9	12	253.7 $\pm$ 18.5	574.4 $\pm$ 47.3	193.5 $\pm$ 8.6
HF-C-C	9	131.5 $\pm$ 10.0	439.3 $\pm$ 35.1	297.0 $\pm$ 21.0	9	244.3 $\pm$ 14.1	534.6 $\pm$ 47.4	207.6 $\pm$ 24.7	14	263.0 $\pm$ 12.3	596.1 $\pm$ 36.3	198.7 $\pm$ 17.6
LF-C-C	10	133.8 $\pm$ 13.1	439.4 $\pm$ 42.2	294.7 $\pm$ 30.5	10	238.3 $\pm$ 19.1	528.4 $\pm$ 31.2	212.2 $\pm$ 22.8	10	252.5 $\pm$ 18.3	578.0 $\pm$ 52.2	205.4 $\pm$ 29
HF-C-C	9	129.1 $\pm$ 7.4	444.4 $\pm$ 53.1	294.0 $\pm$ 25.5	9	231.4 $\pm$ 23.3	513.0 $\pm$ 46.1	196.1 $\pm$ 22.5 *	11	251.6 $\pm$ 18.9	575.9 $\pm$ 45.7	183.2 $\pm$ 18.1 #
LF-C-C	7	130.4 $\pm$ 16.3	426.5 $\pm$ 65.5	293.0 $\pm$ 31.1	8	231.1 $\pm$ 16.9	528.5 $\pm$ 33.6	212.4 $\pm$ 19.6	7	260.3 $\pm$ 11.7	589.0 $\pm$ 17.6	200.5 $\pm$ 10.7
C-HT-C	8	128.8 $\pm$ 13.6	430.0 $\pm$ 29.0	285.3 $\pm$ 22.1	8	237.5 $\pm$ 24.0	531.5 $\pm$ 52.0	200.8 $\pm$ 14.6	9	249.7 $\pm$ 19.6	574.0 $\pm$ 47.3	201.0 $\pm$ 18.6
C-LF-C	8	130.3 $\pm$ 5.1	450.3 $\pm$ 24.8	283.1 $\pm$ 28.0	10	235.0 $\pm$ 16.0	542.9 $\pm$ 24.2	209.6 $\pm$ 13.4	10	260.6 $\pm$ 15.7	589.8 $\pm$ 35.4	203.1 $\pm$ 26.3
C-HF-C	8	131.8 $\pm$ 9.7	443.2 $\pm$ 42.7	279.0 $\pm$ 32.0	8	239.4 $\pm$ 16.9	534.6 $\pm$ 42.1	205.4 $\pm$ 25.3	8	268.1 $\pm$ 19.8	611.5 $\pm$ 46.1	195.4 $\pm$ 22.6
C-LF-C	9	124.2 $\pm$ 7.7	411.4 $\pm$ 27.0	289.7 $\pm$ 17.7	10	235.5 $\pm$ 19.9	538.9 $\pm$ 34.6	214.9 $\pm$ 13.6	10	254.0 $\pm$ 14.5	585.5 $\pm$ 50.1	201.5 $\pm$ 18.9

Values are expressed as mean  $\pm$  SD.

\* Different from Control,  $p < 0.05$

# Different from low dose condition,  $p < 0.05$

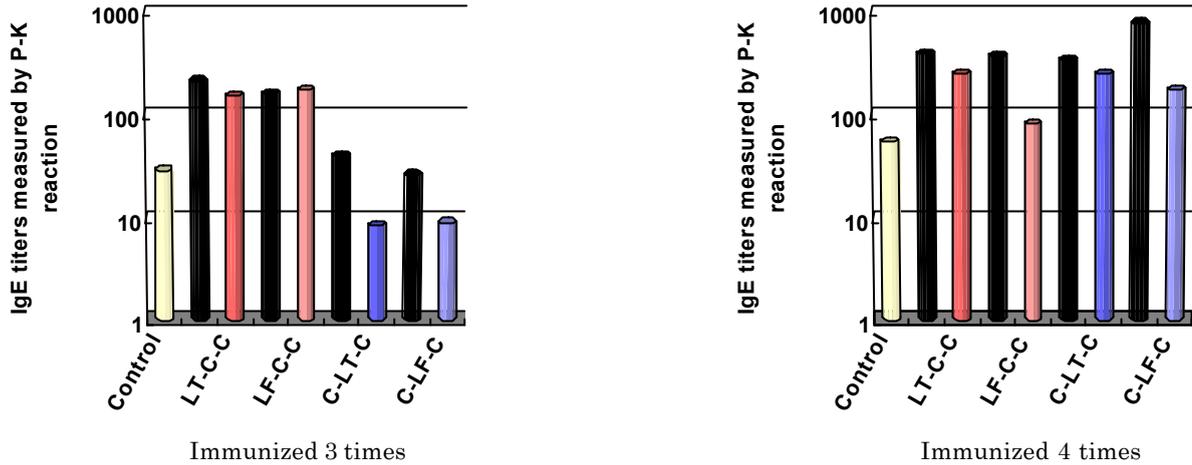


Fig.2. Anti-Japanese Cedar Pollen IgE titers measured by P-K reaction.

Table3. IgE titers measured by PK reaction against pollen in rats immunized three or four times.

	Immunized three times			Immunized four times		
	(n)	log <sub>2</sub> P-K IgE titers		(n)	log <sub>2</sub> P-K IgE titers	
Control	9	4.9 ± 1.3		12	5.8 ± 2.4	
HT-C-C	10	7.8 ± 1.4	**	14	8.6 ± 1.4	**
LT-C-C	9	7.3 ± 1.8	**	10	8.0 ± 1.5	**
HF-C-C	10	7.4 ± 1.9	**	11	8.6 ± 1.4	** , ##
LF-C-C	8	7.5 ± 1.7	**	7	6.4 ± 1.0	*
C-HT-C	8	5.4 ± 3.3	#	9	8.4 ± 2.2	**
C-LT-C	8	5.1 ± 1.3	*	10	8.0 ± 2.4	*
C-HF-C	7	4.8 ± 1.8	#	8	9.6 ± 0.7	** , ##
C-LF-C	9	3.2 ± 1.8	*	10	7.5 ± 0.9	*

Values are expressed as mean ± S.E.

\* Different from Control, p<0.05; \*\* different from Control, p<0.01

# Different from low dose condition, p<0.05; ## different from low dose condition, p<0.01

4回感作後のIgE抗体価は、胎仔期に曝露されたHT-C-C, LT-C-C, HF-C-C群と哺乳期に曝露されたC-HT-C, C-LT-C, C-HF-C, C-LF-C群では対照群に比べ有意に高かった。また、曝露濃度による違いは除塵排出ガスに曝露された群にみられ、胎仔期曝露のHF-C-C群とLF-C-C群、哺乳期曝露のC-HF-C群とC-LF-C群の間に有意差がみられた(各々P<0.01, Table3)。全排出ガス曝露の場合にはIgE抗体価に曝露濃度による差は見られなかった。

インターロイキン(IL)の測定結果 Fig.3に4回感作後の血清中IL-4, IL-2, IL-10の値を示した。IL-4は、胎仔期に高濃度全排出ガス(HT-C-C)及び高濃度除塵排出ガス(HF-C-C)に曝露された群で対照群より高かった(各々P<0.01)。また、HT-C-C群はLT-C-C群に比べ、HF-C-C群はLF-C-C群に比べ有意に高かった(各々P<0.01)。IL-2は、HT-C-C群, LT-C-C群, HF-C-C群で対照群に比べて有意に低かった(各々P<0.01, p<0.05, p<0.01)。また、HT-C-C群のIL-2は、LT-C-C群に比べて有意に低かった(p<0.05)。IL-10は、胎仔期に曝露された全群で対照群に比べて有意

に低かった(各々P<0.01)。

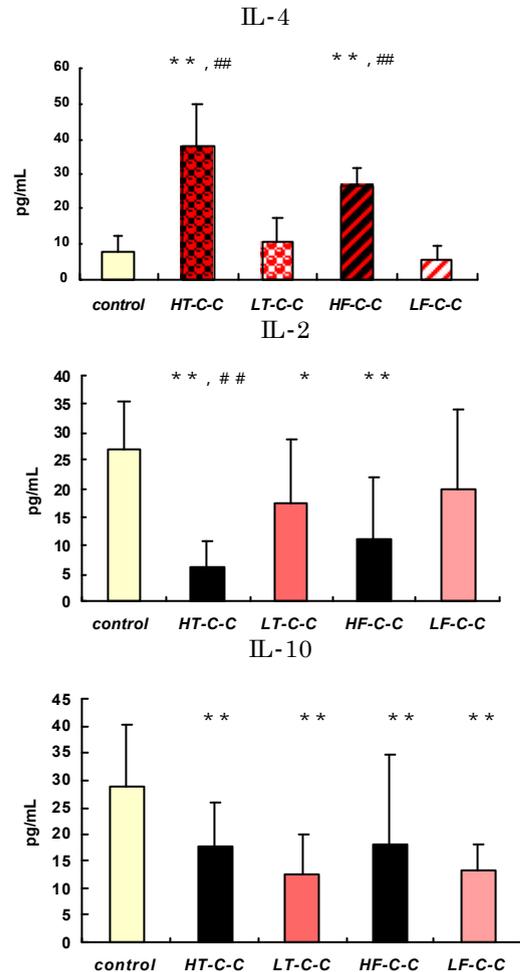


Fig.3. Serum interleukin-4,2,10 in each group after the 4th immunization.

\*Different from control, p<0.05

\*\*Different from control, p<0.01

#Different from low dose condition, p<0.05

##Different from low dose condition, p<0.01

肺の組織所見 対照群 (Photo 1) と胎仔期高濃度全排出ガス曝露群 (Photo 2) の肺の顕微鏡写真を示した。HT-C-C

群では気管支粘膜上皮にアルシアン・ブルーで青色に染色された肥満細胞が多数みられた。粘膜上皮の肥満細胞は、写真2に示した部位よりさらに細い細気管支上皮にみられる場合もあった (photo 3)。粘膜上皮に多数の肥満細胞がみられた肺では、気管支周囲の結合組織と肺胞領域に著しい好酸球の侵潤を伴っていた (photo 4)。粘膜上皮の肥満細胞は HF-C-C 群でも HT-C-C 群と同様に認められた。

#### 考 察

本研究では、ディーゼル排出ガスの曝露条件を生活環境に近い低濃度に設定し、排出ガスの胎仔期あるいは哺乳期曝露のスギ花粉に対する免疫反応に及ぼす影響の閾値について検討した。スギ花粉に特異的な IgE 抗体価は胎仔期あるいは哺乳期における低濃度曝露の場合も対照群に比べ有意に高かった。IgE 抗体上昇に係わる排出ガス曝露濃度の閾値は本研究で用いた条件よりさらに低いと考えられた。

スギ花粉に対する特異的 IgE 抗体価の上昇は、胎仔期全排出ガス曝露では、高濃度・低濃度いずれの曝露でも起こ

ることが明らかになった。また、除塵排出ガス曝露群についても同様の結果が得られたことから、排出ガス中のガス状成分、あるいは、フィルターによる除塵の後も残存している 0.05 $\mu\text{m}$  以下の超微粒子が関与していることが考えられた。胎仔期曝露では、胎仔は母親ラットから経胎盤性あるいは経母乳性に排出ガスの影響を受けている。出産直後に曝露群 (全排出ガス群・除塵排出ガス群) と対照群の親と仔を取り替え、スギ花粉に対する IgE 抗体を測定する予備実験を行った結果、仔への影響は母乳からではなく胎内で起こることが示唆されている<sup>16)</sup>。戸塚らは、排出ガス曝露された母ラットの血液、肺、肝、母乳中並びに胎仔組織中の多環芳香族炭化水素を測定した結果、全排出ガス・除塵排出ガス曝露群の母ラットの血液中と胎仔の多環芳香族炭化水素が対照群より高い傾向にあることを報告している<sup>17)</sup>。これらの実験結果は、胎仔の時期に排出ガスの影響を受けることを示唆している。排出ガス由来の多環芳香族炭化水素などの有害物質が免疫機能の発達過程に影響を及ぼすのかに関しては今後の課題である。

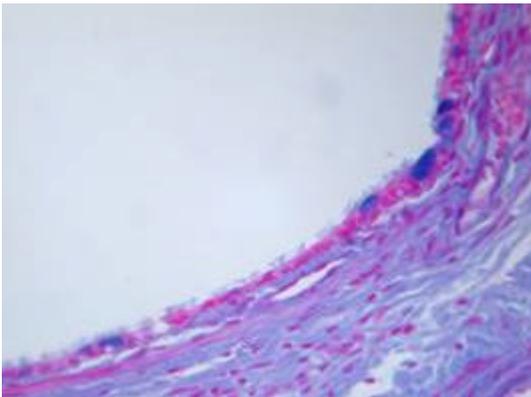


Photo 1. Lung from the rat immunized with pollen 4times. Mast cells stained with Alcian blue are detected in the bronchial epithelium.

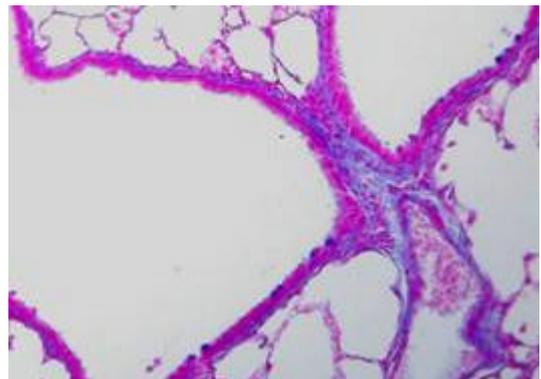


Photo 3. Lung from the rat exposed to diesel exhaust during fetal period and immunized with pollen 4times. Mast cells are also detected in the bronchiolar epithelium.

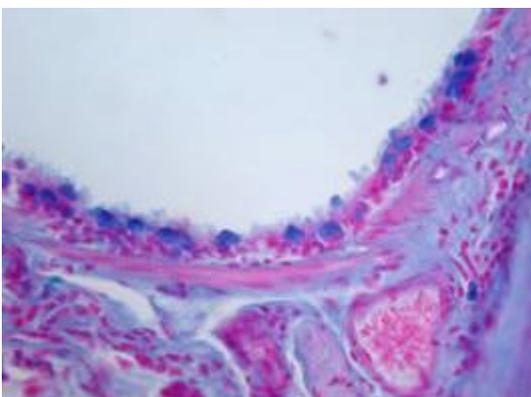


Photo 2. Lung from the rat exposed to diesel exhaust during fetal period and immunized with pollen 4times. A large number of mast cells stained with Alcian blue are detected in the bronchial epithelium.

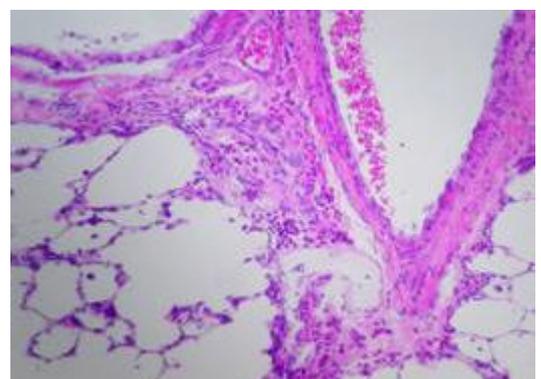


Photo 4. Lung from the rat exposed to diesel exhaust during fetal period and immunized with pollen 4times. Eosinophils are detected in the connective tissue around bronchia and alveolar wall.

本研究では、さらに、排出ガスの胎仔期曝露が IgE 抗体の上昇を起こす機序についてインターロイキンを測定することで検討した。IL-4 は、高濃度全排出ガス、高濃度除塵排出ガスに曝露された群で対照群より高かった。一方、IL-2 についてみると、高濃度・低濃度全排出ガス、高濃度除塵排出ガスに曝露された群で対照群より有意に低かった。すなわち、ヘルパー T 細胞のうち Th2 細胞が産生し B 細胞を刺激して IgE 抗体産生を促進する IL4 が対照群より高かったこと、ヘルパー T 細胞のうち Th1 から分泌され IgG 合成に促進的に関与する IL2 は低かったことから、花粉の進入によって Th2 が Th1 に比べて優位になったため IgE 抗体の上昇を起こしたことが考えられた。

IL-4 は高濃度曝露では低濃度曝露の場合に比べ有意に高く、IL-2 は高濃度曝露では低濃度曝露の場合に比べて有意に低かった。LF-C-C 群の三回感作後の IgE 抗体価は HF-C-C 群と同様に高かったが、四回感作後では HF-C-C 群より有意に低かった。これらのことから、IgE 抗体価の上昇と抗体価の持続に T 細胞から分泌されるインターロイキンが関与していることが考えられた。

IL-10 は胎仔期曝露群の全群で対照群に比べて有意に低かった。IL-10 は胸腺リンパ球のうち CD8 陽性のリンパ球から分泌され免疫応答を抑えることが知られている<sup>18,21)</sup>。また、排出ガスの胎仔期曝露は形成過程にある胸腺の T リンパ球の増殖を抑制した<sup>9)</sup>。これらのことから排出ガスの胸腺形成期における曝露は、胸腺リンパ球の成熟過程に影響を与え、抗体の産生に関わるヘルパー T 細胞(CD4)と抑制するリンパ球(CD8)の比率を変え、IgE 抗体が上昇しやすい素因となる可能性が考えられた。

胎仔期高濃度全排出ガス並びに除塵排出ガス曝露群では気管支粘膜上皮に肥満細胞が多数みられた。粘膜表面にある肥満細胞にアレルゲンが接触すると、肥満細胞からヒスタミン等の化学伝達物質が放出され、その結果アレルゲンに対する粘膜の透過性が上昇し、さらに粘膜下に存在する肥満細胞を刺激して化学伝達物質の遊離を促し臨床症状は増幅していくことが知られている。胎仔期曝露は、花粉に特異な IgE 抗体の上昇ばかりでなく、粘膜上皮の肥満細胞を増加させ、花粉症の発症を助長することが示唆された。

哺乳期に低濃度排出ガスに曝露された C-LT-C、C-LF-C 群の三回感作後の IgE 抗体価は対照群に比べて有意に低かった。また、各々の高濃度群に比べても有意に低かった。離乳後高濃度曝露群の三回感作の場合にも IgE 抗体価が対照群に比べて低い傾向がみられ、この時の IL-10 は有意に高かった<sup>22)</sup>。曝露の影響が強くない場合は IgE 抗体の上昇を抑制する機構が働いていることが考えられた。

四回感作の後では低濃度曝露群でも IgE 抗体が対照群に比べ有意に高くなった。生後 30 日頃までは免疫機能の形成過程にあることから<sup>23,24)</sup>、哺乳期における低濃度曝露でも感作回数が増すと IgE 抗体の上昇が起こり易いことが考えられた。

本研究で用いた曝露濃度は、大気浮遊粉塵中の 35-40%

がディーゼル由来とされていることから、高濃度条件の場合は通常的生活環境の約 100 倍程度、低濃度条件の場合は約 10 倍程度と考えられる。IL-2, 4 並びに気管支粘膜上皮の肥満細胞には曝露濃度による違いがみられたが、IgE 抗体価は低濃度曝露の場合も上昇しており、今後さらに曝露濃度を低くした閾値を求める実験が必要である。

## 文 献

- 1) 石山康子, 池森亨介, 小泉一弘, 他: アレルギー, **35**, 892, 1986.
- 2) 村中正治, 小泉一弘, 石田房子, 他: 日本医事新報, **3180**, 26-32, 1985.
- 3) Muranaka M., Suzuki S., Koizumi K., et al.: *J. Allergy Clin. Immunol.*, **77**, 616-623, 1986.
- 4) Takafuji S., Suzuki S., Koizumi K., et al.: *Allergy Clin. Immunol.*, **79**, 639-645, 1987.
- 5) Steerenberg P.A., Dormans J.A.M.A., van Doorn C.C.M., et al.: *Inhalation Toxicology*, **11**, 1109-1122, 1999.
- 6) Steinsvik, T.E., Ormstad, H., PI Gaarder, P.I., et al.: *Toxicology*, **128**, 219-230, 1998.
- 7) Diaz-Sanchez, D., Garcia, M.P., Wang, M., et al.: *J. Allergy Clin. Immunol.* **104**, 1183-1188, 1999.
- 8) Watanabe, N. and Kurita, M.: *Environ. Health Perspect.*, **109**, 111-119, 2001.
- 9) Kumar, N., Shan, L.X., Hardy, M.P., Bardin, C.W., et al.: *Endocrinology*, **136**, 4887-4893, 1995.
- 10) Lepsavic, G. and Micic, M.: *Thymus*, **20**, 77-88, 1992.
- 11) Olsen, N.J., Olson, G., Viselli, S., et al.: *Endocrinology*, **142**, 1278-1283, 2001.
- 12) Watanabe N. and Osawa M.: *BMC Pregnancy and Childbirth*, **2**: 2-7, 2002.
- 13) 渡辺伸枝, 大澤誠喜, 池野谷美奈, 他: 東京衛研年報, **53**, 261-264, 2002.
- 14) Durham, S.R.: *Clin. Exp. Allergy, suppl.*, **2**, 11-16, 1998.
- 15) Ishizaka, K. and Ishizaka, T.: *J. Allergy*, **42**, 330-363, 1968.
- 16) 東京都健康局 (2003) 大気汚染保健対策に係る基礎的実験的研究報告書
- 17) Tozuka Y, Watanabe N, Ohsawa M, Toriba A, Kizu R, Hayakawa K: **Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in rat mother's tissues and the fetuses exposed to diesel exhaust.** Proceedings of the 9th Annual Meeting Japan Society of Endocrine Disrupter Research: (Hiroshima, Japan), 2002.
- 18) Holmes, B.J., MacAry, P.A., A Noble, A. and Kemeny, D.M.: *Eur. J. Immunol.*, **27**, 2657-2665, 1997.
- 19) Kemeny, D.M. and Diaz-Sanchez, D.: *Int. Arch.*

- Allergy Appl. Immunol.*, **94**, 99-101, 1999 .
- 20) Kemeny, D.M., Noble, A., Holmes, B.J., *et al.*: *Allergy*, **50** (Suppl **25**): 9-14, 1995 .
- 21) Kemeny, D.M.: *Curr. Opin. Immunol.*, **10**, 628-633, 1998 .
- 22) 東京都 (2003) ディーゼル車排出ガスと花粉症の関連に関する調査委員会報告書 別冊 花粉症発症メカニズム調査
- 23) Dietert, R.R., Eitzel, R.A., Chen, D., *et al.*: *Environ. Health Perspect.*, **108** (suppl **3**), 483-509, 2000 .
- 24) Holladay, S.D. and Smialowicz, R.J.: *Environ. Health Perspect.*, **108** (suppl **3**): 463-473, 2000 .