

# ディーゼル排気微粒子は遺伝子の発現に影響を及ぼすか？

PM2.5・DEP研究プロジェクト 毒性・影響評価研究チーム

大気汚染物質には、呼吸器疾患やアレルギー疾患を悪化させるものがあることが知られています。その中で近年、ディーゼル自動車の排気ガスに含まれる微小粒子(Diesel Exhaust Particles: DEP)の健康影響が注目されています。ある種の大気汚染物質は肺に侵入すると、肺胞腔に存在する異物の処理に重要な働きをしている肺胞マクロファージや肺の表面を覆っている肺胞上皮細胞に作用し、様々な影響を及ぼします。これらのことから、DEPの毒性を評価するために、肺の細胞に対する影響を詳細に検討しました。ここでは、DNAマイクロアレイを用いたDEPの毒性影響の包括的な解析について紹介します。

## 実験の方法

ラットの肺胞マクロファージまたは肺胞上皮細胞を以下の培地中で培養し、遺伝子の発現レベルの変化をDNAマイクロアレイにより解析しました。

1. 培地のみ(対照群)
2. DEPの抽出成分を培地に加えたもの(DEP曝露群)

## DNAマイクロアレイとは？

多数の遺伝子の発現を一度に比較することが可能な手法です。それぞれの遺伝子の挙動を効率的かつ定量的に計測できることから、影響を包括的に評価することができます。肺胞上皮細胞の解析に使用したDNAマイクロアレイ(図1)は、対照群、曝露群の各サンプルを別の蛍光色素でラベルし、この1ペアのラベル化サンプルに対し、1つのアレイを使用して競合ハイブリダイゼーションを行います。その蛍光シグナルをスキャナーで測定し、各シグナルを数値化してデータ解析を行うというものです。

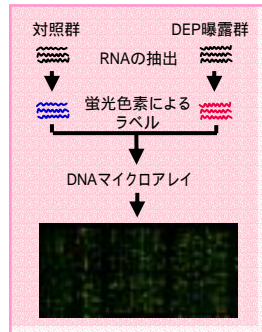


図1

## DEPに対する肺の初期反応は防御系因子の誘導である

DEP曝露により発現の変化がみられた肺胞マクロファージの遺伝子のスポットを図2-1に示しました。増加したのは、抗酸化系酵素のHO-1、GST-P、TDPX-2、NAD(P)H dehydrogenaseの遺伝子とDNAの修復と複製に関わるPCNA遺伝子でした。中でも抗酸化系酵素のHO-1遺伝子の増加が極めて高い結果でした(図2-2)。

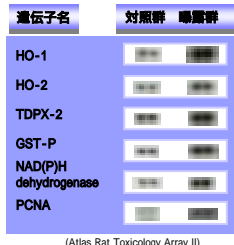


図2-1

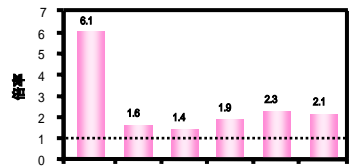


図2-2

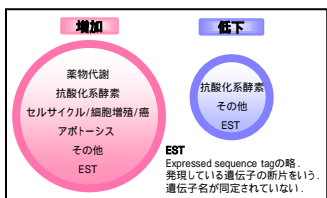


図3

肺胞上皮細胞においてはDEP抽出物の曝露により、多くの遺伝子の発現レベルが変化しました。それぞれの機能を調べた結果、薬物代謝系酵素や抗酸化系酵素、セルサイクル/細胞増殖/癌に関わる因子などの増加が観察されました(図3)。特に顕著な増加が認められたのは、抗酸化系酵素のHO-1、HSP70、GST、そして細胞外マトリックスの調節因子であるTIMP-3とPAI2Aなどでした(図4)。逆に発現レベルが低下したのはほとんどがESTでしたが、抗酸化系酵素、その他に分類される因子も含まれていました。

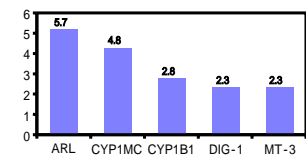


図4-1

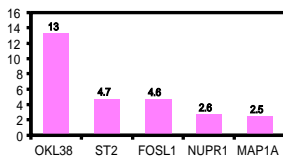


図4-3

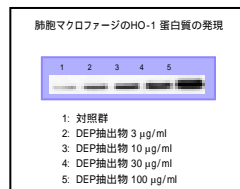


図5-1

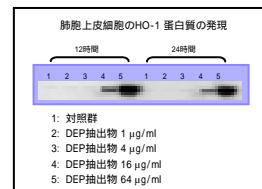


図5-2

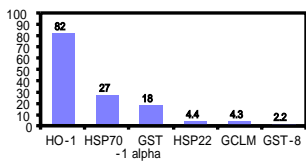


図4-2

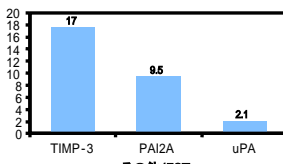


図4-4

遺伝子レベルで非常に顕著な増加がみられたHO-1について、Western blotにより蛋白質の発現を検討しました。その結果、DEP抽出物の濃度依存的に、肺胞マクロファージおよび肺胞上皮細胞のHO-1蛋白質の発現が増加することが明らかとなりました(図5)。

## まとめ

肺胞マクロファージと肺胞上皮細胞のいずれにおいても、最も鋭敏であった変化はHO-1遺伝子の発現の増加でした。更に、DEP抽出物の濃度依存的にHO-1蛋白質の発現も増加することが明らかとなりました。図6に示したように、DEPなどの毒性物質の強い影響要因としては、酸化的ストレスが挙げられ、その影響に対して抗酸化系酵素等の防御系の因子が鋭敏な指標となることが示唆されました。

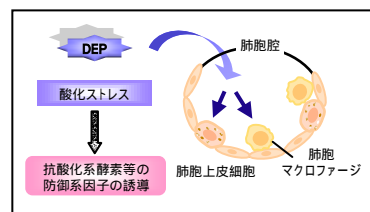


図6