



# 環境儀

NO. 27 JANUARY 2008

国立環境研究所の研究情報誌

## アレルギー性疾患への 環境化学物質の影響

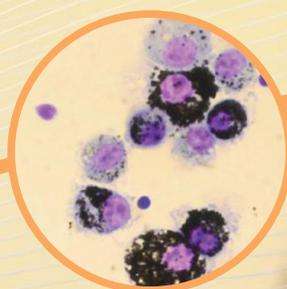


独立行政法人

国立環境研究所

<http://www.nies.go.jp/>

健康への影響が指摘されている環境中の化学物質。  
その実態を動物個体レベルで明らかにしつつ、  
細胞レベルでの毒性メカニズムの解明に取り組んでいます。



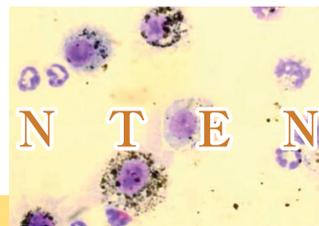


近年、アトピー性皮膚炎やアレルギー性喘息、さらには花粉症やアレルギー性鼻炎、食物アレルギーなど、アレルギー性疾患が小児を中心に急増しています。人間が作り出した化学物質がその原因であったり、症状を悪化させる要因の1つではないかと危惧されています。

アレルギー性疾患に対し適切かつ迅速な対策を打てるようにするためには、疾患が増加した要因の究明が必要です。そのため国立環境研究所では、「アレルギー反応を指標とした化学物質のリスク評価と毒性メカニズムの解明に関する研究—化学物質のヒトへの新たなリスクの提言と激増するアトピー性疾患の抑圧に向けて—」という特別研究を実施しています。まだ全体像の解明にまでは至っていませんが、これまでの研究の結果、低濃度の曝露でもアレルギー症状を悪化させる化学物質が存在することなどが判明しています。アレルギー性疾患増加の要因を解明するべく、現在も研究を継続し、より詳細な分析を重ねています。

本号では、本研究の背景からこれまでの成果を広く紹介いたします。

## C O N T E N T S



### アレルギー性疾患への 環境化学物質の影響

- Interview  
研究者に聞く!! .....P4~9
- Summary  
「アレルギー反応を指標とした化学物質のリスク評価と毒性メカニズムの解明に関する研究」から .....P10~11
- 研究をめぐって  
環境化学物質のアレルギー増悪影響に関する研究動向 .....P12~13
- アレルギー反応を指標とした化学物質のリスク評価のあゆみ  
.....P14



●本研究に関する成果は、国立環境研究所のHPでご覧になれます。  
<http://www.nies.go.jp/kanko/tokubetu/sr63/sr63.pdf>

●表紙写真：私たち身の回りにある、アレルギー性疾患の発症、あるいは増悪に関与すると考えられているもの。左下のダニは家庭内に多く存在する種類で、本研究のダニアレルゲンとしても使用(写真提供：名古屋市衛生研究所)。左はディーゼル排気微粒子(DEP)の本体とDEP抽出物。容器に入っているのがDEP抽出物で、本研究では有機溶媒を使って抽出した。

# Interview 研究者に聞く!!

小児をはじめとして、アレルギー性疾患を発症する人たちが増加しています。その原因の1つに、化学物質など生活環境に放出されることで生体に悪影響を与える物質(環境汚染物質)の曝露が考えられています。一方で、化学物質のアトピー・アレルギーへの影響に関する研究は、充分には行われていません。今回は、主として動物実験によって、環境汚染物質がアレルギー性疾患に与える影響とそのメカニズムの解明に関する研究に取り組んでいる井上さん、柳澤さん、小池さんに、研究の成果や今後の進め方などについてお聞きしました。



左：小池英子/環境健康研究領域 生体影響評価研究室主任研究員  
中央：井上健一郎/環境健康研究領域 生体影響評価研究室長  
右：柳澤利枝/環境健康研究領域 生体影響評価研究室研究員

## アレルギー性疾患の症状を悪化させる 環境化学物質の存在

### 1：先進国で急増するアレルギー性疾患

**Q**：まず最初に、研究者になったいきさつを教えてください。

**井上**：大学院生時代、炎症や免疫にかかわる研究がしたかったのですが、研究テーマがそれとは少しずれていました。それに、研究に使える時間が少なく、なかなか没頭できませんでした。

そんなとき、当時の研究所で研究室長をされていた高野裕久先生(現、環境健康研究領域長)からお誘いがあり、(大学院の)途中から国立環境研究所の共同研究員として活動することにしました。その後、正式に研究所の研究員となり、現在に至っています。

**柳澤**：大学4年生のとき微生物学を専攻しており、微生物による環境中の汚染物質の分解・除去、またその代謝経路の解明について研究していました。この研究の過程で、環境中の汚染物質が実際に健康にどういった影響を与えるのか、ということに関心を持ち、修士課程のときに動物を用いた影響評価ができる所を探そうと思いました。そこで、大学でこうした研究をしているところを訪ねたところ、当時からディーゼル排気微粒子(Diesel Exhaust Particles：DEP)の健康影響について研究をしていたこの研究所を紹介されたのです。これが縁となり、2000年から改めて研究に携わらせて頂くことになりました。

**小池**：私は自分自身がアレルギー体質のところがあ

### 身近になった化学物質の曝露

アレルギー性疾患が急増している背景の1つとして、私たちを取り巻く環境が急速かつ大きく変化し、化学物質をはじめとする環境汚染物質に触れる機会が増えたことがあげられます。種々の環境因子別に見た化学物質に関する近年の変化点を、以下にまとめます。

#### ①居住環境の変化

木材などの建材の防腐や防虫を目的に種々の化学物質が使用されるようになったほか、化学物質を含んだ壁紙や塗料、接着剤、パーティクルボードなどが住宅に多く使われるようになりました。

#### ②食環境の変化

人体に深刻な影響を与える化学物質の使用は減少したものの、食の多様化が進んだことでさまざまな化学物質を含

んだ食品を摂取する機会が増えました。さらに、使い捨て食器や容器では、よくプラスチックが使用されますが、その中には材質を柔らかくする可塑剤としていくつかの化学物質が使用されています。

#### ③衛生環境の変化

いわゆる抗菌グッズが増加したことが象徴するように、抗生物質や抗菌性化学物質などが普及するようになりました。

#### ④大気・水・土壌環境の変化

この場合の変化は大気や水質、土壌が汚染されることを意味します。

とくに世界中の都市部の主たる大気汚染物質であるDEPは、一般的に元素状炭素を核として持ち、その周辺や内部には炭素数が14から35の炭化水素とその誘導体、キノン、多環芳香族炭化水素、飽和脂肪酸、芳香族酸、など多くの物質が存在しています。多様性に富んだ化学物質の集合体がDEPなのです。



り、子供の頃から漠然と、なぜそういうことが起きるのだろう？と疑問に思っていました。それがきっかけで、近年のアレルギー疾患の増加と環境因子の関係について関心を持つようになりました。そこで、大学の卒業研究のとき、この研究所を紹介され、大学院の博士課程まで、オゾンや二酸化窒素といったガス状の大気汚染物質が呼吸器・免疫系に及ぼす影響についての研究をしました。そして学位取得後も研究員として、環境汚染物質のアレルギー増悪メカニズムの解明に向け研究に取り組んでいます。

**Q**：アレルギーに着目した化学物質のリスク評価に取り組んだ経緯を教えてください。

**井上**：この10数年、日本ではアレルギー性疾患を発症する人が急増しています。その背景として、環境の変化が考えられたからです。

**Q**：なぜ、そう断言できるのでしょうか。

**井上**：疾患が急増した背景としてはヒトの遺伝子の変異という内的なものと、環境の変化という外的なもの2つが考えられますが、内的なヒトの遺伝子に

ついては10数年という短期間ではそれほど変異しないからです(図1)。

**Q**：化学物質のリスク評価に関する研究の現状を教えてください。

**井上**：近年、野生動物での生殖腺異常などの増加を受け、性ホルモン濃度(活性)を中心とした検査を実施した結果、ホルモンのような活性を持つ物質の存在がクローズアップされるようになり、環境中の化学物質による内分泌・生殖器系への影響が報告されるようになりました。また「シックハウス症候群」「シックススクール症候群」といった疾患の増加への関与も示唆されているほか、アトピー体質の人はシックハウス症候群にかかりやすい、シックハウス症候群の患者さんは高い確率でアレルギー性疾患を合併することも知られるようになりました。化学物質は内分泌・生殖器系、免疫・アレルギー系を含んだ高次の生体制御機能に影響を与える可能性があるわけです。

にもかかわらず、環境化学物質がアレルギー性疾患に与える影響に関する研究は、国内外を問わず充分には行われていませんでした。こうした現状から、化学物質がアレルギー性疾患に与える影響の研究に取り組むことになりました。

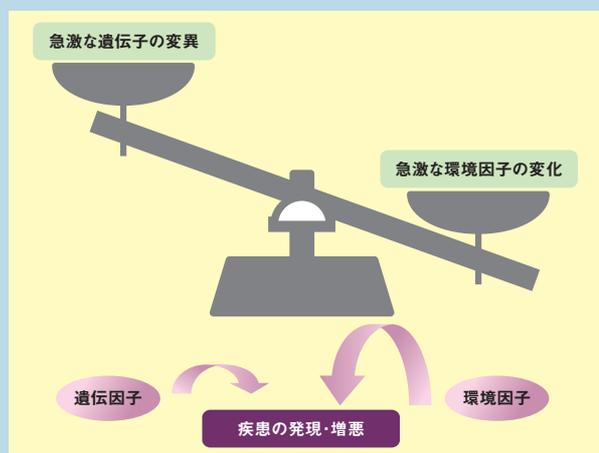
**Q**：アレルギー性疾患が急増しているのは日本だけの現象なのでしょうか。

**井上**：いいえ。日本以外の国でも、とくに先進諸国では増加が認められています。

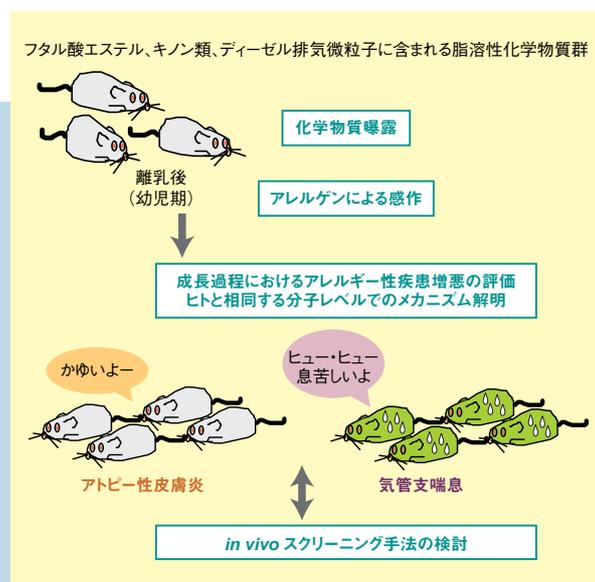
**Q**：ところで、この研究ではどのような化学物質を評価されたのでしょうか。

**井上**：まず、大気汚染物質の1つであるDEP、プラスチックを柔らかくする可塑剤として使われるフタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)に着目しました。

DEPは炭素粒子と数百~数千種類にわたる化学物



■ 図1 アレルギー性疾患急増の背景



■ 図2 研究全体のスキーム(枠組み)

# Interview 研究者に聞く!!

質、金属化合物の混合物で、さまざまなアレルギー性疾患の症状を悪化させるものとして世界的に知られています。しかし、その中のどの成分がこれらの症状を悪化させるのかまでは、まだわかっていませんでした。

そこで、研究をスタートするに当たって、どういった成分がアレルギーを悪化させる原因となっているのかを順を追って調べることにしました。その結果、DEPの表面に付着している脂溶性化学物質成分が怪しいことがわかりました。その中のフェナントラキノン (PQ) やナフトキノン (NQ) といったキノン系化学物質は、細胞レベルでの毒性は確認されていますが、動物個体に対する影響の知見がありません。そのため、研究では混合物としてのDEPのほか、DEPから抽出したPQ、NQを含んだ化学物質も評価対象としました。

**柳澤：** DEHPについては、マウスなどのげっ歯類を用いた実験から、生体内のホルモン物質と同じような作用を示す環境ホルモンの1つである可能性が報告されています。一方、環境ホルモンは、免疫機能に対しても影響を及ぼす可能性が指摘されていますが、そのメカニズムなど、具体的なところはまだわかっていません。そのため、最初は環境ホルモン物質の評価に着手することになり、まずはDEHPを選択した次第です。

**Q：** 今回の研究における皆さんの役割分担を教えてください。

**井上：** 主に私がアレルギー性喘息、柳澤さんがアトピー性皮膚炎での化学物質の影響評価を担当しています。そして小池さんには2007年4月から、動物実験の結果を裏づけるための細胞レベルでのメカニズムの解明を担当していただいています。



サイトカインの濃度を読み取るプレートリーダー。円内はサイト

## 2：低濃度の曝露でも症状は悪化

**Q：** 研究は主に、どのようにして進めていくのでしょうか。

**井上：** まず動物疾患モデルをつくり、評価したい化学物質を一定期間投与した後、その化学物質によってどの程度疾患が悪化したのかを評価します。また、化学物質の影響を早く、簡単、適正に評価（スクリーニング）するために、*in vivo*（生体内）試験の新たな手法の開発も、研究と並行して行いました（図2）。

**Q：** 「動物疾患モデルをつくり」とおっしゃいましたが、これはどういう意味なのでしょうか。

**井上：** 人間の疾患に類似する症状を示す実験動物を作製するということです。アレルギー性喘息に関するものであればアレルギー性喘息モデル、アトピー性皮膚炎に関するものであればアトピー性皮膚炎モデルをつくります。

モデルに使う動物は、疾患によって異なります。たとえば花粉症であればモルモット、アレルギー性喘息やアトピー性皮膚炎であればマウスを主に使います。私たちの研究では、アレルギー性喘息とアトピー性皮

アレルギー性喘息		アトピー性皮膚炎	
実験開始	アレルギーと評価物質 (DEP、元素炭素粒子、脂溶性化学物質、PQ、NQ) を気道に投与	実験開始	DEHPを腹腔内に投与
1週間後	アレルギーを気道に投与	4日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
2週間後	アレルギーと評価物質を気道に投与	6日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
3週間後	アレルギーを気道に投与	7日後	DEHPを腹腔内に投与
4週間後	アレルギーと評価物質を気道に投与	8日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
5週間後	アレルギーを気道に投与	11日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
6週間後	アレルギーと評価物質を気道に投与	13日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
		14日後	DEHPを腹腔内に投与
		15日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
		18日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
		20日後	ダニアレルギーを耳介部に注射
		21日後	DEHPを腹腔内に投与

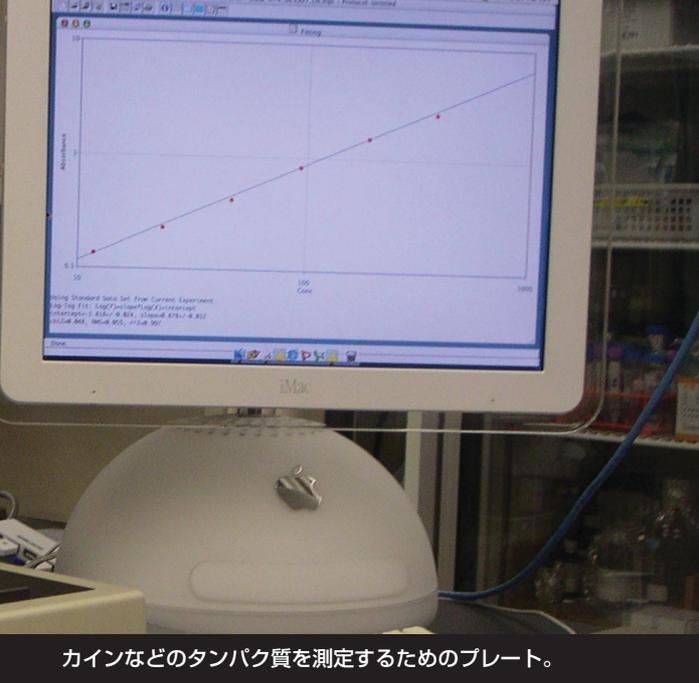
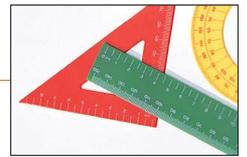
●動物実験のタイムスケジュール

## マウスを使った動物実験

この研究では、マウスを使った動物実験を繰り返し行い、評価を重ねています。

アレルギー性喘息で化学物質の影響を評価する場合、マウスが持っていない異種タンパク質（卵白アルブミン）をアレルギーとして投与し、短期間で意図的にアレルギー性喘息と似た症状を発症させます。また、マウスにはDEPやPQ、NQと評価したい物質を気管から投与し、のべ1カ月半にわたり評価したい物質を曝露します。

一方、アトピー性皮膚炎での影響評価は、NC/Ngaマウスの耳（耳介部）にダニアレルギーを生理食塩水に溶解して注射、アトピー性皮膚炎に似た症状を短期間で発症させ、DEHPを腹腔内に投与します。1回の実験期間は3週間程度と動物実験として投与は比較的短期間です。



カインなどのタンパク質を測定するためのプレート。

膚炎の動物モデルにマウスを使っています。

**Q**：それから、研究と並行して *in vivo* 試験の新たな手法を開発されたそうですが、その理由は何ですか。

**柳澤**：今回は DEP や PQ、NQ、DEHP を評価しましたが、今後、他の多くの化学物質を評価するには、従来からある動物試験方法では時間や感度などの面で問題があったからです。今回開発した *in vivo* 試験の新たな手法は、3 週間で影響を評価することができ、それまでの動物試験に比べてはるかに短期間で評価できました。この成果は、環境関連の学術雑誌であるアメリカの “Environmental Health Perspectives” 誌にも掲載されました。

**Q**：症状が悪化したかどうかは、どのようにして判断されるのですか。

**井上**：アレルギー性喘息の場合は、肺の炎症に関係する白血球の分析と、アレルギーに対する抗体が血液中にどれだけ産生されたかを調べて判断します。まず評価したい化学物質を投与した後、マウスを解剖して肺の中を生理食塩水で洗い、気道に表出した白血球の種類と数を調べます。この解析により炎症の程度を判断することができます。また、血液中にある異種タン

パク質に対する抗体を調べるのは、抗体がどの程度つくられたかによってアレルギー症状の程度が推測できるためです。

**柳澤**：アトピー性皮膚炎では、まずダニからの抽出物（ダニアレルゲン）を計 8 回、マウスの耳に注射し、この間 4 回にわたって腹腔内に DEHP を曝露します。症状の変化は、アレルゲンを投与した翌日に腫れや引っかき傷、乾燥、発疹といった 4 つの状態を肉眼で確認します。肉眼での評価は、評価者によって評価にばらつきが生じることも考えられますので、評価項目にはすべて基準を設けました。腫れに関しては、厚みをレバー操作で簡単に測定できるハンディタイプの測定器で耳を挟み、数値化も行います（図 3）。また、最終的にダニ抽出物の投与で炎症を起こしている耳の組織を採取し、アレルギー性喘息モデルと同様にそこに集まる白血球の種類や数を調べたり、どのようなタンパクが産生されているかを調べたりします。

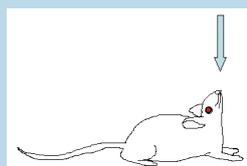
**Q**：研究の結果、とくに目立った所見を教えていただけますでしょうか。

**井上**：DEP を元素状炭素成分と脂溶性化学物質成分に分け、それぞれをマウスに投与したところ、元素状炭素よりも脂溶性化学物質の方が、アレルギー性喘息の症状・病態を悪化させることがわかりました。また、脂溶性化学物質成分に含まれる PQ や NQ を投与したときも同様に、症状が悪化するという結果になりました。

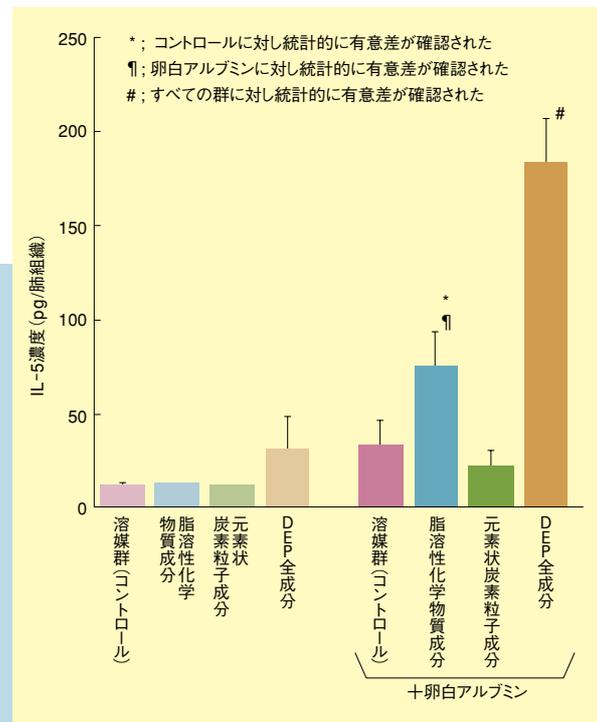
しかし、最もアレルギー症状を悪化させたのは、DEP そのものを投与したときでした（図 4）。つま



■ 図 3 マウスの耳の厚さの測定



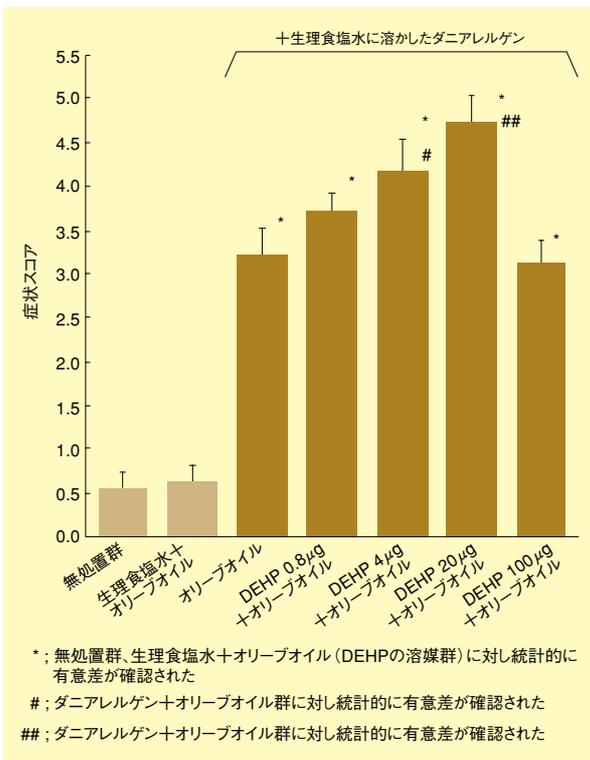
● 気管 (矢印) からアレルギーや DEP、PQ、NQ を投与



■ 図 4 DEP 曝露がアレルギー性炎症に関わるタンパク (IL-5) の肺における発現に及ぼす影響

り、様々な成分の混合物としてのDEPが、アレルギー性喘息の悪化に最も寄与しているといえます。

**柳澤**：研究では、1回あたりのDEHP投与量を0.8、4、20、100 $\mu\text{g}$ 動物/週の4段階設定し、影響を評価しました。投与量は1日あたりに換算すると、4.8、24、120、600 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ に相当しますが、これらはDEHPの毒性が認められないとされる最大量の19 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ よりかなり低濃度です。1日の予測摂取量が6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、最大で40 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ との報告もあることから、今回の設定濃度はヒトが1日で摂取し得る濃度と言えます。実験の結果、最も症状を悪化させたのは、20 $\mu\text{g}$ を投与したときでした。一方、100 $\mu\text{g}$ を投与したときは、逆に症状を悪化させなかったのです(図5、6)。



■図5 DEHPがアトピー性皮膚炎に及ぼす影響 (スコア)



実験に使うマウスを飼育している飼育室

環境ホルモンの中には、高濃度になると影響が消失する逆U字形の反応曲線を描くものがありますが、DEHPもこれに類似した反応曲線でした。このメカニズムの解明については今後の検討課題であり、細胞レベルでの研究結果と合わせて検討していく必要があります。しかしいずれにしても、DEHPが国内における1日予測摂取量と同じぐらいの濃度でアレルギー症状を悪化させ得る結果が得られたことは、非常に重要です。

### 3：簡便かつ鋭敏な影響評価手法の確立

**Q**：研究者として、研究の成果を社会に還元することは考えられているのでしょうか。

**井上**：研究者としてできることは、今後も適正な影響評価を行うことです。どんな化学物質が健康に悪影響を与えるか、ということを経験し、成果を社会に還元していければと思います。

そのためには、症状を悪化させる仕組みを細胞レベルで解明し、動物試験の結果をきちんと裏付けなくてはなりません。動物試験、細胞試験の両方を並行して



■図6 DEHPがアトピー性皮膚炎に及ぼす影響 (肉眼所見)



行い、なおかつ関連させながら、健康への影響評価を包括的に進めていくことが大事になります。

**Q**：そうすると、今後は小池さんの研究が重要になってくるわけですね。

**小池**：現在、免疫を担う細胞の1つで、体内に侵入してきた異物を処理し、その情報をリンパ球に伝える機能（抗原提示機能）を持った、免疫応答に重要な抗原提示細胞を、アトピー性皮膚炎モデルで使用しているマウスから採取し、さまざまな解析を行っています。抗原提示は、アレルギー反応に至る最初のステップとして重要です。このことから、抗原提示細胞の活性化は、化学物質の影響を評価する上で良い指標になると考えています。この実験では、細胞を培養する際に、そこにDEPやDEHPなどの化学物質を単独、もしくはアレルギーと複合させたものを添加し、細胞がどのような機能的変化を起こすのかについて検討していきます。

現在、化学物質が抗原提示細胞の機能をどのように変化させるのか、といったアレルギー疾患の発症・増悪メカニズムの解明を急ぐと同時に、抗原提示細胞を用いた影響評価手法の確立をめざしています。この影

響評価手法に関しては今年度中に確立し、その後は抗原提示細胞以外の免疫担当細胞を用いた影響評価手法も順次検討していく予定です。

**Q**：メカニズムの解明と同時に、影響評価手法の確立も並行して行う形になるのですね。

**小池**：そうです。一般的に言えば、動物個体を用いた生体内（*in vivo*）試験は最小限の個体数にとどめているとはいえ多くの動物が必要で、なおかつ実験が長期間に及ぶことから、多数の化学物質を評価することは非常に困難です。それに対し、細胞を用いた試験管内（*in vitro*）試験は、短期間で同時に複数の化学物質を評価することが可能です。このことから、*in vivo*試験の結果を反映する簡便かつ鋭敏な*in vitro*試験法を確立することが重要と考えています。また、動物愛護の観点から見ても、*in vitro*試験の確立には意義があります。

**柳澤**：現在、小池さんが*in vitro*試験法を開発していますが、ただし、これが確立されても動物試験は並行して行うことになります。それは、細胞レベルの評価は生体内で実際に起きる変化を把握するのに必ずしも充分ではなく、よりヒトに近いところでの生体を用いた評価が必要だからです。

**Q**：それでは最後に、今後の研究の進め方についてお聞かせいただけますでしょうか。

**井上**：まだ評価していない化学物質がたくさんありますので、今回評価した化学物質の研究を、毒性メカニズムの解明を中心に継続しながら、評価対象とする化学物質を拡大していきます。

また、今回はアレルギー性喘息とアトピー性皮膚炎への反応から化学物質の健康への影響を調べましたが、これからは肥満、糖尿病、高血圧などの生活習慣病に対する化学物質の影響にも領域を広げていければと考えています。

## 新たな *in vivo* 試験法の開発

疾患の影響評価に関する動物実験に当たっては、まず動物に疾患を発症させることが必要です。アトピー性皮膚炎モデルでは、一般的に自然発症、あるいはタンパクと結合して抗原性を発揮するハプテンという物質を塗布して皮膚炎を発症させる方法がありますが、動物試験としてはいくつかの問題点がありました。

まず、これら2つの方法は評価できるようになるまでに長い時間を要します。飼育期間が長くなると、飼育環境やマウス同士の相性などによって症状の出方に差が生じやすく、正確な症状の把握が困難でした。また、ハプテンを塗布する場合は、比較的重度の皮膚炎を発症するため、化学物質との複合的な影響を検討するには感覚などの面で問題がありました。そこで今回の研究では、動物個体を用い

た新しい生体内（*in vivo*）試験法を開発することにしました。

この研究で開発した生体内試験法の最大の特徴は、疾患を引き起こす原因物質を直接投与し、短期間で疾患を発症するようにしたこと。これまでの試験法より、影響が評価できるようになるための時間を短縮することが可能で、実験では3週間程度で影響を評価することができました。*in vivo*とはラテン語で「生体内（動物個体内）」という意味で、動物実験で一般的に用いられる言葉です。

しかし、早く評価することが可能になったとはいえ、まだ時間がかかる、一度に複数の物質を評価する場合には向かない、といった面があります。そのため現在、生体外（*in vitro*）試験法の確立も並行して進めています。

## 「アレルギー反応を指標とした毒性メカニズムの解明

以前から、一部の環境化学物質がアレルギー性喘息やアトピー性皮膚炎の症状を悪化させるという指摘がありました。そこで本研究は、環境化学物質が実際にどの程度アレルギー症状を悪化させるのかを、動物試験によって評価しました。現在は動物試験での評価のほかに、細胞レベルでできる影響評価手法の確立もめざしています。

### ●アレルギー性喘息に与える影響

これまでの研究で、ディーゼル排気微粒子(DEP)の曝露がアレルギー性喘息の病態(症状)を悪化させることは知られていましたが、どの構成成分が増悪作用において主たる役割を果たしているかは不明でした。そこで、まず DEP から有機溶媒で抽出される脂溶性化学物質と、有機溶媒に溶けない元素状炭素粒子に分け(図7)、それぞれマウスにアレルギーと一緒に投与し、アレルギー性喘息に与える影響を検討しました。

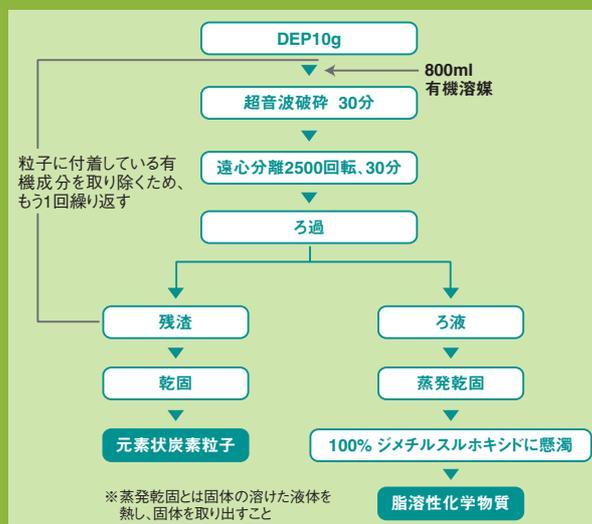
その結果、アレルギー性喘息の基本病態である気道への炎症細胞浸潤は、元素状炭素粒子よりも脂溶性化学物質とアレルギーとの併用投与により悪化していました。また、リンパ球の一種でアレルギー性炎症にかかわるTリンパ球のTh2タイプに含まれるサイトカイン、ケモカインという活性タンパク質の肺での発現レベルも同様に、脂溶性化学物質とアレルギーとの併用投与によりアレルギー単独投与より上昇していました。以上のことより、アレルギー性喘息を悪化させる DEP の主たる構成成分は元素状炭素ではなく、脂溶性化学物質であることが明らかとなりました。

次に、上記化学物質群でさらにどの有機化合物がアレルギー性炎症を悪化させ得るかを明らかにすべく、一般大気中の浮遊粒子状物質に含まれている多環芳香族のキノン類に注目しました。キノン類は *in vitro* 試験で酸化ストレスを誘導して生体に障害をもたらすことは確認されていますが、動物個体に対する影響は確認されていませんでした。そこで本研究ではキノン類のうち、フェナントラキノン(PQ)とナフトキノン(NQ)を用い、アレルギー性喘息におけるそれぞれの増悪効果を検討しました。その結果、気道への炎症細胞浸潤は、アレルギーの単独投与時よりも PQ、NQ との併用投与時で増強していました。また、アレルギー反応増幅に重要な役割を果たしているアレルギー特異的抗体の定量により、アレルギーと PQ、NQ を併用して投与すると、アレルギーの単独投与により誘導されたアレルギー特異的 IgG1 抗体の産生が増加していました(図8)。以上より、PQ、NQ といったキノン系化学物質も、アレルギー性喘息の悪化に寄与していることが示唆されました。

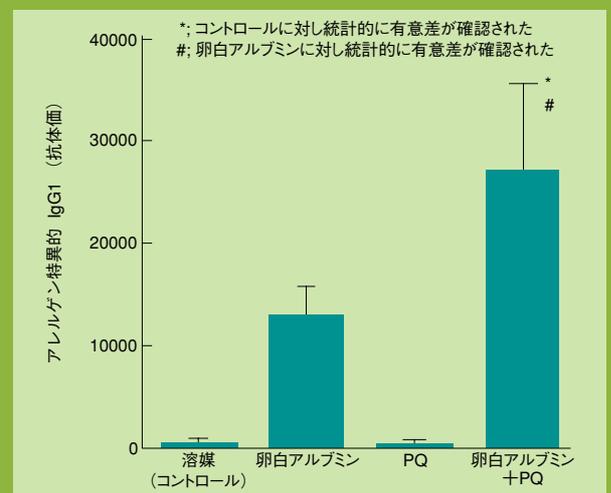
### ●アトピー性皮膚炎に与える影響

近年若年層を中心に急増しているアトピー性皮膚炎について、環境化学物質が与える影響の有無を検討しました。まず対象物質として選んだのは、プラスチックの可塑剤として汎用されているフタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)です。

DEHPをはじめとするフタル酸エステル類は、塩化ビニル樹脂、壁紙、床材、玩具などに含まれており、室内環境における曝露が懸念されています。さらに、産業



■図7 DEP構成成分の分離方法



■図8 PQの経気道への曝露がアレルギー喘息に及ぼす影響(IgG1抗体産生量の変化)



# 化学物質のリスク評価と に関する研究」から

衛生の現場では、アレルギー症状の悪化との関連を指摘する報告もあります。そこで、DEHP がアトピー性皮膚炎に与える影響を、実験動物を用いて検討することとしました。ヒトのアトピー性皮膚炎と良く似た病態を形成する NC/Nga マウスという系統のマウスを用い、ダニアレルゲンをマウスの耳介部に反復的に皮内投与することにより皮膚炎モデルを作製しました。

国内における1日予測摂取量の  $6\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$  (最大で  $40\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ) を含め4段階に設定した DEHP の投与量 (8 ページ参照) の中で、皮膚炎の症状を悪化させたのは、4 もしくは  $20\mu\text{g}/\text{動物}/\text{週}$  を投与したときでした。

しかし、 $100\mu\text{g}/\text{動物}/\text{週}$  という高用量曝露群では、増悪影響が消失していました。このような逆 U 字形を示す量-反応関係は、環境ホルモン物質で観察される場合があることから、DEHP のアレルギー増悪作用は、環境ホルモンと類似したメカニズムを介している可能性が示唆されました。また、DEHP によるアトピー性皮膚炎の悪化に関わるメカニズムとしては、ケモカインという炎症細胞の移動に関与するタンパクの発現が重要と考えられました。

さらに、今回皮膚炎モデルを用いた実験をするにあたり、化学物質の影響を検知するために適切な動物モデルの作製が重要な課題としてありました。従来は、ハプテン (タンパク質と結合して抗原性を発揮する物質) を皮膚に塗布して皮膚炎を起こしていました。しかし、この方法だと実験に長期間を要すること、手技が煩雑であること、重篤な症状を示すため化学物質の影響を検知しにくいこと、などの問題点がありました。

これに対して、ダニアレルゲン誘発アトピー性皮膚炎モデルは、短期間 (3 週間) で比較的軽度な病態を形成するため、化学物質の影響を検知しやすいことから、「アレルギー疾患に対する環境化学物質の影響における *in vivo* スクリーニング」として有用であると考えました。現在、この動物モデルを用いて、他の環境化学物質の影響についても検討中です。

## ●免疫担当細胞に与える影響

アトピー・アレルギーには、さまざまな免疫担当細胞の機能異常が関与しています。中でもアレルギー反応においては、最初のステップを担う抗原提示細胞や、エフェクターとして働いているリンパ球・肥満細胞などの活性亢進が、アレルギーの発症・悪化に大きく寄与していることがわかっています。

前述の動物モデルを使った環境化学物質のアトピー・アレルギー病態への増悪効果に関しては、それらの細胞のうち、どの細胞にどの程度影響を及ぼしているのかを評価することは困難でした。そこで各種免疫担当細胞を動物個体から取り出して、化学物質を試験管内で曝露させることにより、それらの影響を細胞レベルで検討する研究も始めています。たとえば、影響を調べたい化学物質を入れた培地と入れていない培地を用意し、その中で細胞を培養します。そして、それぞれの培地で培養した細胞から産生されたタンパク質や、細胞表面にある分子の発現などを比較することにより、環境化学物質の曝露による影響を評価することができます。

炎症細胞浸潤	体内に侵入した異物などを排除する際に起こる生体反応を炎症、その際に (炎症局所に) 炎症細胞 (白血球) が動員された状態を浸潤と言います。
Th2タイプ	Tリンパ球は大きく分けてTh1タイプ、Th2タイプに分かれます。Th2タイプとは抗体産生により異物 (アレルゲン) を除去する免疫のタイプを指します。このタイプの過剰反応が喘息・アトピー性皮膚炎に代表されるアレルギー性疾患なのです。
アレルゲン特異的抗体	脊椎動物では、1つひとつのアレルゲンに結合し、その後の免疫応答を起こさせる1対1対応の抗体をつくる機構が備わっています。抗原-抗体反応による異物排除形態を液性免疫と呼びます。喘息をはじめとするアレルギー性疾患は、この液性免疫の過剰反応状態でもあります。すなわち、アレルゲン (卵白アルブミンやダニタンパク質) に対する特異的な抗体 (アレルゲン特異的抗体) を定量することにより、そのアレルゲンに対するアレルギー反応の程度を推定することができます。
IgG1抗体	上記のアレルゲン特異的抗体には大きく分けて5つのタイプがあります。マウスにおいてアレルギー反応に関与している抗体としてはIgEとIgG1があります。
エフェクター	異物侵入時に、実際にそれらを攻撃したり、処理することをエフェクター機能と言います。また、それを補助する機能をヘルパー機能と呼びます。

## ●用語解説

# 〈環境化学物質のアレルギー〉

環境化学物質のリスク評価は急性毒性や発がん性、  
人々の生命や生活の質（QOL）と密接に関係し得るアレルギー性疾患に対し、



## ■世界では

ディーゼル排気微粒子（DEP）やフタル酸エステル類といった環境化学物質のアレルギー反応に対する影響評価が進みつつあります。

まず DEP では、イランのグループが、DEP に含まれる化学物質の 1 つであるベンゾピレンがマウスの食物アレルギーを相乗的に増悪することを動物実験で確認し報告しています。また、米国カリフォルニア大学は 1997 年に、アレルゲンのみと、アレルゲンと DEP0.3mg の混合物を花粉症患者に点鼻投与し、引き起こされるアレルギー反応を比較検討する実験を行っています。この実験の結果、同患者の鼻腔局所で DEP がサイトカインを基点とした免疫応答を変化させ、アレルゲン特異的 IgE 抗体の産生を亢進することを明らかにしました。

フタル酸エステル類については 2004 年、スウェーデン国立試験研究所が、室内に存在し得る濃度のフタル酸が子供のアレルギー症状の発現と相関することを示しました。アレルギー性鼻炎と診断された小児が居住した、室内のフタル酸ブチルベンジル（BBzP）濃度は、鼻炎のない小児の室内の BBzP 濃度と比較して高いというものです。室内の BBzP 濃度は鼻炎、皮膚炎の罹患との相関性がある一方、フタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）の濃度は喘息との相関が強いことを公表しました。さらに、これら 2 つのフタル酸エステルの室内濃度が高いほど、小児のアレルギー症状発現との相関がより強くなると報告しています。

動物を用いた実験では、DEHP あるいはその代謝産物が、アレルゲンを投与したマウスにおいて血中の抗体やサイトカインなどの産生を増強するという報告がいくつかなされています。加えて、DEHP の代替物質として使用されているフタル酸エステルにおいても、アレルギー反応を亢進し得る可能性を指摘する報告もあります。さらに、高濃度の DEHP 曝露がアレ

ルギー性気道炎症を増悪することが、最近、デンマークのグループから発表されました。

DEP やフタル酸エステル類以外では、ダイオキシン、ポリ塩化ビフェニル、DDT、ビスフェノール A などでもアレルギー反応に対する影響評価が進んできています。例えば、ビスフェノール A を含んだ高密度なビニール手袋をはめたことで職業性接触性皮膚炎（かぶれ）を発症した、という例も報告されています。

## ■日本では

DEP のアレルギーへの影響は、日本でも国立環境研究所以外に日本医科大学、聖マリアンナ医科大学、筑波大学などといった研究機関で研究されています。

日本医科大学は東京大学や結核研究所と共同で、マウスに低濃度のディーゼル排気（DE）を長期間曝露した際の、喘息の発症への影響を検討しました。環境中でもあり得る濃度  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$  の DE をマウスに 1 日 7 時間、週 5 日の条件で 3 カ月間曝露させた後、アレルゲンにて喘息を発症させると、DE を曝露させていなかった喘息マウスと比較して、喘息の病態がより悪化していることが確認されました。

また、聖マリアンナ医科大学は東京大学などと共同で、スギ花粉症患者の白血球を用い、DEP が白血球に対して及ぼす影響を *in vitro* で検討しました。研究の結果、DEP はスギ花粉症患者の T リンパ球から Th2 サイトカインの産生を増強する作用を有することなどが明らかとなりました。このように DEP は、アレルギー反応の種々の段階に作用し、アレルギー症状の発現・増悪に関与している可能性がわかってきています。

一方、DEHP を含むフタル酸エステル類のアレルギーに対する影響評価については、本号で紹介した例のほかに、静岡県立大学の研究例があります。この研究ではフタル酸ジブチル、フタル酸ジエチル、フタル

# 増悪影響に関する研究動向

生殖機能への影響をターゲットにしたものが中心です。こうした中、ディーゼル排気微粒子（DEP）やフタル酸エステル類が及ぼす影響の評価も始まっています。



酸ジプロピルがマウスの接触性皮膚炎を増悪することを報告しています。

## ■ 国立環境研究所では

環境化学物質のアレルギーへの影響に関する研究は、1997年にDEPによるアレルギー性喘息の増悪影響を発表して以来、国立環境研究所が世界をリードしてきました。その対象物質は、DEPをはじめとする粒子状物質から、本号で紹介したような環境ホルモンとして疑われている化学物質にまで広がられています。

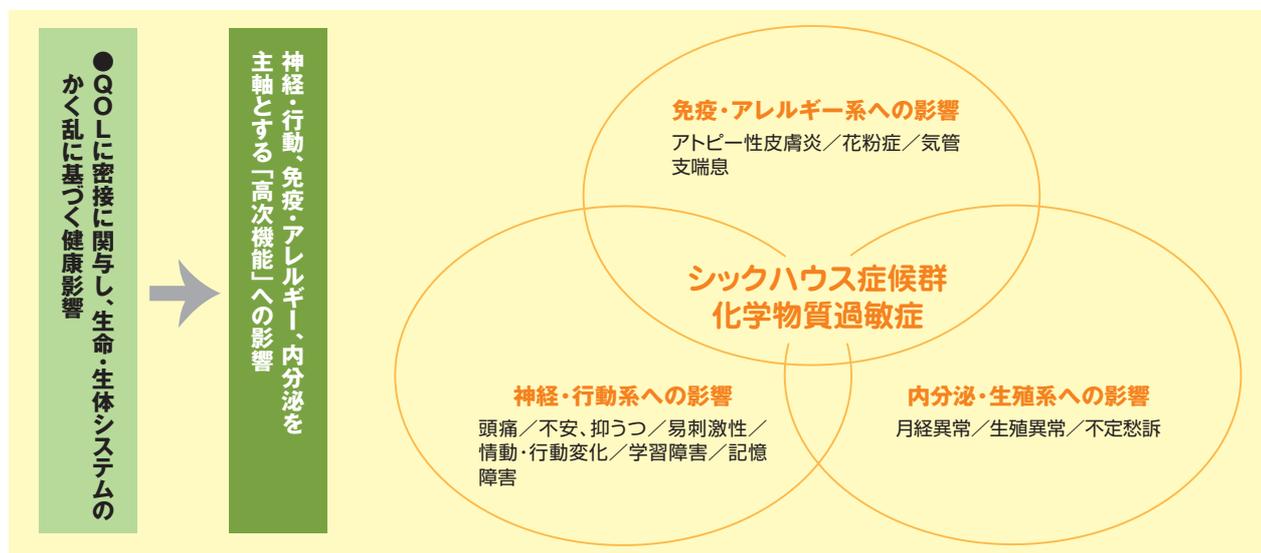
DEPやDEHP以外の環境化学物質のアレルギーに対する影響評価としては、産業医科大学と共同でVOC（揮発性有機化合物）の一種であるトルエンの曝露によるアレルギー反応の増強作用を確認した研究例があります。

この研究は卵白アルブミンをアレルギーにして喘息を発症したマウスの鼻に、0、9、90 ppmという低濃度のトルエンを曝露し、アレルギー反応の指標の変動を検討したものです。喘息を発症したマウスにトルエンを曝露したところ、脾臓でのTh2サイトカイン

の上昇、血漿中のアレルギー特異的抗体量の増加が認められました。以上のことから、低濃度であってもトルエンはアレルギー反応を増悪させることが示唆されました。

このほか、感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価を行うプロジェクトを、2006～2011年度にかけて実施しています。このプロジェクトでは化学物質が高次機能に及ぼす影響を研究課題としており、環境化学物質が、神経・内分泌系と並んでアレルギー・アトピーに与える影響を研究しています。

化学物質のリスク評価に関する研究は、世界、日本ともに、大量曝露による急性毒性や発がん性、生殖機能への影響をターゲットにしたいわゆる“古典的”毒性に関するものが中心です。一方、それ単独で生命を脅かさなくとも、現世代の人々の生命や生活の質（QOL）と密接に関係し得る症状・疾患を対象とし、比較的低濃度での曝露という観点から化学物質の影響を検討・評価する研究は、今後重要となってきます。本号で紹介した環境化学物質とアレルギー性疾患との関係性を評価した例は、そういった意味で、特に環境研究の分野において革新的な研究領域と言えます。



● 感受性要因に注目した化学物質の影響評価プロジェクトの概要

# アレルギー反応を指標とした化学物質のリスク評価のあゆみ

本号で紹介した研究プロジェクトは2002年度から以下の課題に取り組み、現在も継続して取り組んでいます。

## 課題名

### DEPに含まれる化学物質がアレルギー性疾患に及ぼす影響とメカニズムの解明に関する研究

DEP（ディーゼル排気微粒子）とDEPから抽出した脂溶性化学物質および残渣元素炭素粒子をそれぞれ、アレルギー性喘息を発症したマウスの経気道に曝露し、病態に及ぼす影響を検討しました。

## 課題名

### フェナントラキノンがアレルギー性疾患に及ぼす影響とメカニズムの解明に関する研究

DEPに含まれる多環芳香族の一つであるフェナントラキノンを、アレルギー性喘息を発症したマウスの経気道に曝露し、病態に及ぼす影響を検討しました。

## 課題名

### ナフトキノンがアレルギー性疾患に及ぼす影響とメカニズムの解明に関する研究

フェナントラキノンと同じくDEPに含まれる多環芳香族の一つであるナフトキノンを、アレルギー性喘息を発症したマウスの経気道に曝露し、病態に及ぼす影響を検討しました。

## 課題名

### フタル酸エステルが自然発症アトピー性皮膚炎に及ぼす影響に関する研究

アトピー性皮膚炎を自然に発症したマウスの腹腔内にフタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）を投与し、病態に及ぼす影響を評価しました。

## 課題名

### フタル酸エステルが塩化ピクリル誘発皮膚炎に及ぼす影響に関する研究

塩化ピクリルを耳介部に塗布してアトピー性皮膚炎を発症させたマウスの腹腔内にDEHPを投与し、病態に及ぼす影響を検討しました。

## 課題名

### フタル酸エステルがダニ抗原誘発皮膚炎に及ぼす影響とメカニズム解明および「*in vivo*スクリーニングモデル」の開発に関する研究

ダニ抗原をマウスの耳介に皮内投与しアトピー性皮膚炎を早期に誘発させる「*in vivo*スクリーニングモデル」を開発、この方法で疾患を発症したマウスの腹腔内にDEHPを投与し、病態に及ぼす影響を検討しました。

## 課題名

### *in vivo*スクリーニングモデルを用いた環境化学物質のアレルギー増悪影響評価

*in vivo*スクリーニングモデルを用いて、健康影響が懸念されている環境中の化学物質のアトピー性皮膚炎に対する影響を検討しています。

## 課題名

### アレルギー増悪のより簡易なスクリーニング手法の開発Ⅰ （DNAマイクロアレイを用いた短期スクリーニング手法の開発）

*in vivo*スクリーニングモデルにおける遺伝子発現の変化を、病態の進行とともに経時的、網羅的に解析し、解析遺伝子の中からより早期に変動する遺伝子を選抜することで、アレルギーの発症、あるいは増悪の検知が可能か否か検討中です。

## 課題名

### アレルギー増悪のより簡易なスクリーニング手法の開発Ⅱ （培養細胞系を用いた簡易スクリーニング手法の開発）

アレルギー反応に関わる樹状細胞、リンパ球の単独あるいは複合培養系を用い、*in vivo*スクリーニングと相関の良い*in vitro*スクリーニング手法が可能か否か検討しています。

これらの研究は以下のスタッフによって実施されています。

<研究担当者>

●環境健康研究領域

高野 裕久、井上 健一郎、柳澤 利枝、小池 英子、藤巻 秀和(現、環境リスク研究センター)

●内分泌かく乱化学物質及びダイオキシン類のリスク評価と管理プロジェクトグループ

石堂 正美(現、環境リスク研究センター)、白石 不二雄(現、環境リスク研究センター)

<客員研究員>

市瀬 孝道(大分県立看護科学大学)、島田 章則(鳥取大学)、市川 寛(京都府立大学)、古倉 聡(京都府立医科大学)、井上 衛(京都府立医科大学)



近年、私たちの周囲でアレルギー性疾患に苦しむ人びとが急増しています。その主たる原因は、利便性が高く快適な生活のために化学物質が大量に生産され、私たちが日々の暮らしのなかで毒性をもつ化学物質に曝露される機会が増加したためと考えられます。ディーゼル排気微粒子などの大気汚染物質のほか、さまざまな化学物質が皮膚、室内空気、食物をとおして人体に取り込まれています。

化学物質による健康影響の研究では、原因物質の特定と病態を悪化させるメカニズムの解明、さらには影響の評価手法の確立が求められます。これら一連の研究は主に動物実験によって進められますが、新たな実験方法の開発も不可欠です。本号では、3名の研究者が研究の経過や成果だけでなく、その背景や将来展望についても紹介しています。

アレルギー性疾患は、多くの人びとが罹患する可能性が高く、生活習慣病と並んでますます大きな健康問題になると予測されます。これらの病気の発症には、個々人の遺伝特性が関与するものの、ライフスタイルと環境の変化が大きく影響することはまちがいありません。ところが、アレルギー性疾患の主因である化学物質は、種類が非常に多いだけでなく、環境中や生体中での蓄積（残留）性、複数の物質による相互作用など多くのことが未解明のまま残されています。国立環境研究所では、この分野の研究をさらに発展させ、人びとが健康に暮らせる社会づくりに貢献することを目指しています。

2008年1月  
理事長 大塚柳太郎

## 環境儀 No.27

—国立環境研究所の研究情報誌—

2008年1月31日発行

編集 国立環境研究所編集委員会

(担当WG：植弘 崇嗣、井上 健一郎、小池 英子、柳澤 利枝、  
大迫 正浩、伊藤 智彦、内山 政弘、吉田 勝彦、  
岸部 和美)

発行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川16-2

問合せ先 (出版物の入手) 国立環境研究所情報企画室 029(850)2343

(出版物の内容) // 広報・国際室 029(850)2310

環境儀は国立環境研究所のホームページでもご覧になれます。

<http://www.nies.go.jp/kanko/kankyogi/index.html>

編集協力 社団法人国際環境研究協会

〒105-0011 東京都港区芝公園3-1-13

## 「環境儀」既刊の紹介

NO.1	環境中の「ホルモン様化学物質」の生殖・発生影響に関する研究	2001年 7月
NO.2	地球温暖化の影響と対策—AIM:アジア太平洋地域における温暖化対策統合評価モデル	2001年 10月
NO.3	干潟・浅海域—生物による水質浄化に関する研究	2002年 1月
NO.4	熱帯林—持続可能な森林管理をめざして	2002年 4月
NO.5	VOC—揮発性有機化合物による都市大気汚染	2002年 7月
NO.6	海の呼吸—北太平洋海洋表層のCO <sub>2</sub> 吸収に関する研究	2002年 10月
NO.7	バイオ・エコエンジニアリング—開発途上国の水環境改善をめざして	2003年 1月
NO.8	黄砂研究最前線—科学的観測手法で黄砂の流れを遡る	2003年 4月
NO.9	湖沼のエコシステム—持続可能な利用と保全をめざして	2003年 7月
NO.10	オゾン層変動の機構解明—宇宙から探る 地球の大気を探る	2003年 10月
NO.11	持続可能な交通への道—環境負荷の少ない乗り物の普及をめざして	2004年 1月
NO.12	東アジアの広域大気汚染—国境を越える酸性雨	2004年 4月
NO.13	難分解性溶存有機物—湖沼環境研究の新展開	2004年 7月
NO.14	マテリアルフロー分析—モノの流れから循環型社会・経済を考える	2004年 10月
NO.15	干潟の生態系—その機能評価と類型化	2005年 1月
NO.16	長江流域で検証する「流域圏環境管理」のあり方	2005年 4月
NO.17	有機スズと生殖異常—海産巻貝に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響	2005年 7月
NO.18	外来生物による生物多様性への影響を探る	2005年 10月
NO.19	最先端の気候モデルで予測する「地球温暖化」	2006年 1月
NO.20	地球環境保全に向けた国際合意をめざして—温暖化対策における社会科学的アプローチ	2006年 4月
NO.21	中国の都市大気汚染と健康影響	2006年 7月
NO.22	微小粒子の健康影響—アレルギーと循環機能	2006年 10月
NO.23	地球規模の海洋汚染—観測と実態	2007年 1月
NO.24	21世紀の廃棄物最終処分場—高規格最終処分システムの研究	2007年 4月
NO.25	環境知覚研究の勧め—好ましい環境をめざして	2007年 7月
NO.26	成層圏オゾン層の行方—3次元化学モデルで見るオゾン層回復予測	2007年 10月

## 「環境儀」

地球儀が地球上の自分の位置を知るための道具であるように、『環境儀』という命名には、われわれを取り巻く多様な環境問題の中で、われわれは今どこに位置するのか、どこに向かおうとしているのか、それを明確に指し示すべしという意図が込められています。『環境儀』に正確な地図・行路を書き込んでいくことが、環境研究に携わる者の任務であると考えています。

2001年7月  
合志 陽一

(環境儀第1号「発刊に当たって」より抜粋)



このロゴマークは国立環境研究所の英語文字N.I.E.Sで構成されています。

N=空(大気と水)、I=木(生命)、E=Sで構成されるOで地球(世界)を表現しています。

ロゴマーク全体が風を切って左期に進もうとする動きは、研究所の躍動性・進歩・向上・発展を表現しています。



本誌は再生紙を使用しております