

氏 名 (生年月日)	もはまど しやりあー かーん MOHAMMAD SHAHRIAR KHAN (1987 年 10 月 20 日)
学 位 の 種 類	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	博 薬 第 192 号
学位授与の日付	2020 年 3 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 目	Association of bioaerosols in outdoor air with Asian dust events and emergency department visits for asthma in Kyoto, Japan (大気中バイオエアロゾルの黄砂現象および京都市における喘息による救急外来受診との関係)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 渡 辺 徹 志 (副査) 教 授 小 田 真 隆 (副査) 教 授 安 井 裕 之

論 文 内 容 の 要 旨

Introduction

Bioaerosols are suspended airborne particles comprising microorganisms and organic materials originating from living organisms. An Asian dust event is a meteorological occurrence in which the dust particles from desert areas in Mongolia and northern China are transported east by the prevailing westerlies, and several studies have revealed that bacteria and fungi attach to the dust particles. Endotoxin or lipopolysaccharide is the major component of the outer membrane of Gram-negative bacteria, and epidemiological studies have indicated that indoor endotoxin exposure is associated with the exacerbation of asthma. Asthma is an allergic disease and triggered by allergens, and allergenic protein originating from fungi and pollen have been detected in outdoor air. These studies suggest that atmospheric endotoxin and protein may be associated with asthma exacerbation. However, there were few reports on the long-term levels of endotoxin and protein in the outdoor air of Japan and the association of these biological substances with asthma. In the present study, the author attempted to clarify the association of atmospheric endotoxin and protein levels with Asian dust events at Kyoto in Kyoto Prefecture and Sasebo in Nagasaki Prefecture, Japan. Then, the author tried to find out the association between the endotoxin and protein levels in outdoor air and emergency department visits for asthma in Kyoto.

Chapter I: Relationship of Asian dust events with atmospheric endotoxin and protein levels in Kyoto and Sasebo, Japan, in spring

To explore the relationship of Asian dust events with endotoxin and protein levels in outdoor air, total suspended particles (TSP) were collected daily in the Asian dust season, from March to May, in 2015 in Kyoto (70 days) and Sasebo (69 days), and endotoxin and protein were analyzed by the kinetic chromogenic limulus amoebocyte lysate (LAL) method and the Micro BCA assay, respectively. Sasebo is a city located on the westernmost tip of Japan and experiences frequent and severe Asian dust events. At both locations, the concentrations of TSP, water-soluble Ca^{2+} , endotoxins, and proteins were high during and after Asian dust events

recorded by the Japan Meteorological Agency (JMA). The concentration of Ca^{2+} , which is an indicator mineral of soil in dust and was analyzed by ion chromatography, showed a strong positive correlation with the concentrations of TSP (Sasebo: $r = 0.827$, $p < 0.01$; Kyoto: $r = 0.810$, $p < 0.01$) and endotoxin (Sasebo: $r = 0.679$, $p < 0.01$; Kyoto: $r = 0.707$, $p < 0.01$), while the protein concentration was moderately positively correlated with Ca^{2+} in Sasebo ($r = 0.588$, $p < 0.01$) and Kyoto ($r = 0.541$, $p < 0.01$). The fluctuation of endotoxin concentration was large at each place (Sasebo: 0.0014–0.266 EU/m³; Kyoto: 0.0004–0.105 EU/m³), and high concentrations were found in Sasebo on many days. In contrast, protein concentration showed low levels of fluctuation (Sasebo: 0.90–5.61 µg/m³; Kyoto: 0.47–6.78 µg/m³), and no major differences were found in two places. The results of backward trajectory analysis indicate that the air masses containing high levels of endotoxin have traveled through desert areas in China and Mongolia and have reached to Sasebo and Kyoto. These results suggested that the concentration of endotoxin strongly correlated with Asian dust events.

Chapter II: Association of endotoxin and protein with emergency department visits for asthma in Kyoto, Japan

To assess the association of atmospheric endotoxin and protein with asthma, the author analyzed endotoxin and protein in fine (aerodynamic diameter ≤ 2.5 µm) and coarse (≥ 2.5 µm) particles, which were weekly collected in Kyoto from September 2014 to May 2016 (77 weeks), and obtained data on emergency department visits for asthma at a hospital in Kyoto. The concentration of endotoxin in coarse particles (0.0004–0.0292 EU/m³) was markedly higher than that in fine particles (0.00003–0.01279 EU/m³), and endotoxin concentration in both particles was high in autumn months including September 2014 and 2015. Asian dust events were found in February, March, and June in 2015 and April in 2016 by JMA, and endotoxin levels in particles collected for weeks including these days were high. On the other hand, the protein concentrations in fine particles (0.17–5.09 µg/m³) were markedly higher than that in coarse particles (0.02–0.46 µg/m³), and protein concentration in fine particles was high in spring months. There were 1 to 15 emergency department visits for asthma per week, and the number of visits increased in the autumn and spring, namely many weeks in September, October, and April. The author evaluated the influences of the concentrations of airborne particles, endotoxin, and protein in fine and coarse particles on the emergency department visits for asthma by generalized linear models to fit a Poisson regression to adjust for meteorological factors, which might be associated with asthma exacerbation. After adjusting for meteorological factors, the concentrations of coarse particles and endotoxin in both particles were found significant factors on emergency department visits for asthma; regression coefficients and p values were as follows: coarse particles, 0.044, $p < 0.01$; endotoxin in fine particles, 59.792, $p < 0.01$; and endotoxin in coarse particles, 29.637, $p < 0.01$. In contrast, the concentration of protein did not show any association with emergency department visits for asthma. These results suggested that atmospheric coarse particles and endotoxin are significantly associated with an increased risk of asthma exacerbation.

Conclusion:

This study strongly suggests that Asian dust events increase the concentrations of endotoxin and protein in outdoor air in spring in Japan. Moreover, endotoxin in outdoor air exacerbate asthmatic symptom. Atmospheric endotoxin exists on airborne particles and is suspending in outdoor air. These findings help to understand scientifically adverse effects of airborne particles and a mean to avoid asthma exacerbation, such as reducing

審査の結果の要旨

《緒言》

気管支喘息は、世界的に有症率が高いアレルギー性呼吸器疾患である。喘息患者は気道過敏性が亢進しており、種々の環境因子の刺激により気道平滑筋が収縮し、喘鳴、咳、呼吸困難などの発作症状を起こす。黄砂飛散による喘息増悪が報告されているが、その原因については未だ明らかにされていない。一方、疫学研究により、室内におけるアレルゲンタンパク質やエンドトキシンへの曝露が喘息増悪と関連することを明らかにされている。また、近年、アレルゲンタンパク質を有する真菌やエンドトキシンを有するグラム陰性菌が黄砂に付着し、それらの微生物が黄砂とともに大量に飛散する可能性があることが明らかにされた。これら大気中に浮遊する生物由来物質はバイオエアロゾルと呼ばれ、喘息増悪に関与することが予想されるが、それらに関する知見は未だ十分に得られていない。今回、申請者はタンパク質とエンドトキシンに着目し、それらの大気中の濃度と発生源ならびにそれらと喘息発作との関係について検討した。

《審査結果の要旨》

第1章では、気象庁による黄砂観測日が多い春季（3月～5月）に京都市と本邦の最西端に位置し黄砂飛散の影響が大きい長崎県佐世保市において大気中のタンパク質、エンドトキシンおよび黄砂量の指標となる Ca^{2+} イオンの定量分析を行い、それらの関連性について検討した。その結果、いずれの地点においても気象庁による黄砂観測日等到大気中の Ca^{2+} イオン、タンパク質およびエンドトキシンの濃度が顕著に上昇することを明らかにした。また、各地点において、 Ca^{2+} イオンとタンパク質、ならびに Ca^{2+} イオンとエンドトキシンの濃度が有意な正の相関関係にあり、 Ca^{2+} イオンとエンドトキシンの濃度が強い相関関係にあることを明らかにした。また、エンドトキシン濃度の高かった日の両地点の空気塊の移動経路について後方流跡線解析を行い、それらの空気塊が、いずれもゴビ砂漠など黄砂発生地帯を通過して来たことを示唆する結果を得た。以上の検討により、春季に西日本の広範囲にわたって大気中のタンパク質とエンドトキシンの濃度が上昇する日が存在し、黄砂の飛散に伴い大気中のエンドトキシン濃度が顕著に上昇することを明らかにした。

第2章では、長期間（21カ月）にわたり京都市において大気中のタンパク質とエンドトキシンを定量分析して各物質の濃度の年内変動を明らかにするとともに同期間に喘息発作のために救急外来を受診した患者数を調査し、それらの関連性について、喘息発作に関与することが報告されている気象因子を加味した多変量解析（ポアソン回帰分析）を行った。その結果、タンパク質は微小粒子（粒径 $2.5\ \mu\text{m}$ 以下）に、エンドトキシンは粗大粒子（粒径 $2.5\ \mu\text{m}$ 以上）に多く分布していること、タンパク質濃度が春季に上昇し、エンドトキシン濃度が春季と秋季に上昇することを明らかにした。また、両粒子中のエンドトキシン濃度が気象因子を考慮しても喘息発作患者数の増加に関して有意な因子であることを明らかにした。これまで、大気中のエンドトキシンが喘息発作と関連することは明らかにされておらず、本知見は非常に重要であると考えられる。

《結論》

申請者は、喘息増悪が起こると報告されている春季の黄砂時に黄砂飛散に伴うと予想される大気中

のタンパク質およびエンドトキシンの濃度上昇が起こること、また、秋季にも大気中のエンドトキシン濃度の上昇が起こり、大気中のエンドトキシン濃度が喘息発作による救急外来受診患者数と有意な正の関連性を有することを明らかにした。これまで大気中のバイオエアロゾルと喘息増悪の関係については明らかにされておらず、本研究により得られた知見は、喘息発作対策を考えるうえで非常に重要であると考えられる。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。