

京都大学	博士（工学）	氏名	王 造時（WANG ZAOSHI）
論文題目	Pro-Inflammatory effects of particulate matter in Japan and identification of key contributing components: An integrated framework based on multivariate statistical approaches (日本における粒子状物質の催炎症評価と寄与する主要成分の同定: 多要因統計分析による総合的検討)		
(論文内容の要旨)			
本論文は、国内 3 地域で採取された粒子状物質（PM）の化学組成（地域・季節・粒径別）を整理し、環境中 PM を用いた <i>in-vitro</i> 曝露実験を通じて、気道上皮細胞および抗原提示細胞における細胞障害性や炎症応答との関連を多要因的視点から検討したものであり、第 1 -5 章および結論の章からなる。 第 1 章は序論であり、PM 曝露と健康影響に関する背景を整理し、PM 組成の複雑性について触れ、さらに従来の抽出液による毒性影響評価では難溶性成分や粒子表面の特性が反映されにくいいため、PM 粒子自体による評価が必要であることを論じた。さらに、成分間の共変動が大きいため、多要因を前提とした統合的解釈が重要であることを述べ、PM 粒子の細胞曝露評価と統計的枠組みを通じて、有害影響に寄与する主要成分を明らかにすることを目的とすると述べている。 第 2 章は方法論に関する章であり、福岡・埼玉・神奈川での 1 年間にわたる微小粒子（PM_{2.5}）および粗大粒子（PM_{2.5-10}）の採取方法、主要無機イオン、金属、炭素成分、エンドトキシン、β-グルカン、多環芳香族炭化水素類（PAHs）の測定方法、ヒト気道上皮細胞株（BEAS-2B）およびマウスの抗原提示細胞を用いた、細胞毒性（生存率）と炎症性指標（IL-6, IL-8, TNF-α 等）の測定法などを記述した。また、統計解析では、単変量・多変量解析を併用し、成分間の類似性を踏まえた統合的手順を構築し、その詳細について記述した。 第 3 章は PM 成分の分布特性を解析した章であり、日本の 3 地域で採取した PM の 32 の構成成分および 16 種 PAHs の分布傾向を主成分分析等で整理した。その結果、中国からの越境大気汚染の影響が懸念される福岡市では、SO₄²⁻、As、Se や特定の PAHs 群が顕著で、石炭燃焼等の影響が示唆された。一方、農地と都市機能を有する埼玉県の新潟市から採取した PM では、有機炭素分画（OC）や Si、夏季の Cr、Ni が特徴的で、農業活動（バイオマス燃焼）や土壌の巻き上げ、工業活動の影響が考えられた。また、都市部の代表として神奈川県横浜市で採取した PM では、Cu、Zn、Pb、エンドトキシン等が顕著で、交通由来の道路粉塵や産業活動の影響が示唆された。 第 4 章では、上記 3 地域において、季節ごとに採取した PM による、気道上皮細胞と抗原提示細胞に対する細胞毒性を調べ、毒性に寄与する主要な構成成分について論じた。まず、気道上皮細胞は PM の曝露に対して耐性を示したが、抗原提示細胞は脆弱であり明確な細胞毒性が観察された。粒径別の影響として、気道上皮細胞では、粗大粒子の方がやや毒性の強い傾向がみられたが、抗原提示細胞では、細胞毒性に対する粒径の明確な規則性は認められなかった。主要 PM 成分と細胞毒性の関連では、気道上皮細胞の毒性は、Cu、Fe、Mn、Ti、Si、OC1-OC4、Zn、Pb、EC3、エンドトキシン、β-グルカ			

ンなどの寄与が示唆された。抗原提示細胞においては、主に Ti、Fe、Mn の寄与が顕著であった。PAHs については、気道上皮細胞の細胞毒性に対し有意な寄与を示す成分は認められなかった一方、抗原提示細胞においては、1-NP が弱い寄与を示した。

第 5 章では、PM 曝露に伴う、気道上皮細胞および抗原提示細胞の催炎症サイトカイン産生量変化の実験から、(1) 地域・季節・粒径による変動の検定、(2) 主要 PM 成分との関連、(3) PAHs との関連について検討した。

PM の曝露により、気道上皮細胞では IL-6 および IL-8、抗原提示細胞では IL-6、IL-1 β 、TNF- α が顕著に上昇した。地域差については、福岡 PM による 5 種サイトカインの誘導は、埼玉および神奈川 PM と比較して相対的に低かった。また、抗原提示細胞による IL-1 β の分泌は、他の指標とは異なる挙動を示し、反応の成立に関与する要因が異なる可能性が示唆された。また、粒径とサイトカイン産生量の関係を検討したが、一貫した規則性は得られなかった。

複数の統計モデルによる関連推定結果を比較し、可視化等の補助的検討を併用した結果、PAHs や SO₄²⁻等無機イオンとサイトカイン産生量との間に見かけ上の強い負の関連が得られる場合があったが、群分離の影響、モデル性能、外れ値影響等を個別に精査しつつ結果を統合したところ、検討対象（主要 32 成分+PAHs 16 種）を、炎症応答と整合的に振る舞う主要 12 成分へと絞り込み、既存文献と照合しながら機序的妥当性を議論した。具体的には、気道上皮細胞による IL-6 産生には、Ti, Fe, Mn, Cu, エンドトキシン, Si などが強く寄与しており、IL-8 の産生にはエンドトキシンと Si の寄与が大きかった。また、抗原提示細胞における IL-6 産生に寄与しているのは、Ti, Fe, Mn, Cu, エンドトキシン, Si, OC3 であり、TNF- α 産生には、Ti, Fe, Mn, エンドトキシン, Si, OC3、また、IL-1 β 産生には Cu, Zn, Ni, Cr, EC1, EC2 が主に関与していた。

結論として、本論文は、日本の 3 地域において採取した PM を対象に、化学・生物由来成分の地域差、季節差、粒径差を整理するとともに、気道上皮細胞および抗原提示細胞における細胞障害性と炎症応答との関連を、多要因という前提に立って統合的に検討した。その結果、PM の有害影響は単一成分ではなく複数成分の共存によって規定されることが示され、粒径のみでは炎症応答を一義的に説明し得ないことが確認された。さらに、成分の分布特性に基づき、各地域における汚染物の由来を推論した。

加えて、炎症性サイトカインの誘導に寄与する候補成分を統計的に明らかにし、EC 画分、重金属、エンドトキシン、Si などの寄与が重要であることを明らかにした。これらの一部は、不溶性成分として存在することが推察され、PM そのものの方がその溶媒抽出物よりも強い炎症応答を誘導し得るという観察と整合し、溶媒抽出物ではなく、PM そのものを用いる毒性評価の重要性を裏付けるとともに、環境衛生の観点から注目すべき PM 構成成分を明らかにし、今後の PM 対策に資する知見を提示した。

(続紙 2)

氏名

王 造時

(WANG ZAOSHI)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、日本の 3 地域において採取した粒子状物質 (PM) を対象に、環境中粒子状物質そのもの (crude PM) を用いた *in vitro* 細胞毒性試験と、化学・生物由来成分の詳細な特性解析、ならびに多要因的視点に立脚した統計的検討を統合し、PM の細胞障害性および炎症応答を規定する主要寄与成分の抽出を試みた研究成果をまとめたものである。得られた主な成果は次のとおりである。

主要 32 成分 (無機イオン、金属 (類)、炭素成分、生物由来成分) および PAHs 16 種を対象に PCA 等を用いて地点・季節・粒径別の分布傾向を整理し、福岡・埼玉・神奈川における PM の成分プロファイルの特徴を明確化するとともに、その由来について文献知見と照合しつつ合理的に推論した。

気道上皮細胞および抗原提示細胞に対し crude PM (75 µg/mL) 曝露を行い、細胞活性と炎症性サイトカインを測定することで、地域差・季節差を踏まえた PM の有害影響を一貫した実験系で評価した。特に、抗原提示細胞間が気道上皮細胞に比して PM に脆弱であること、ならびに福岡 PM による炎症応答が相対的に低い傾向を示すこと等、有意義な知見を得ている。

粒径と毒性指標との関係を検討した結果、粒径のみでは PM の炎症誘発能を一義的に説明し得ず、物理的要因が化学的要因から独立して毒性を規定するという単純な図式は支持されないことを示した点は重要である。

多成分データにおける共変動や群分離、外れ値影響等を踏まえ、複数の統計モデルと可視化を組み合わせることで結果を精査し、誤解釈の回避に配慮した上で PM の炎症誘発に関わる候補寄与成分を絞り込んだ。特に、EC 画分および重金属元素 (酸化物等の形態で存在し得る成分) が炎症応答と整合的に振る舞うことを示し、これら要素の重要性を明らかにし、crude PM を用いる毒性評価の重要性を裏付けた。

以上の研究成果は、PM を多成分混合物として捉える多要因的視点に基づき、環境健康の観点から注視すべき重要成分のセットを抽出・追跡し得る実践的枠組みを提示するものであり、学術上ならびに實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 8 年 2 月 19 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公開可能日： 令和 8 年 4 月 1 日以降