

6. 粒子成分と健康影響の関係

6.1. 仮説の紹介

粒子状物質は、様々な成分で構成され、地域や時間によって成分が変動する特徴を有している。成分の種類によって、生体内への影響の内容が異なることが考えられ、特定の成分によるヒトへの強い健康影響が生じる可能性もありうる。

大気粒子に含まれる構成成分による毒性発現の程度について考察するために、「微小粒子状物質の毒性は特定の成分により引き起こされる。」という仮説をたて、異なる成分を含む粒子を用いて同一の動物実験で実施し、毒性による影響の比較が可能な知見に基づき、仮説の確からしさの程度に関する検証を行なう。

6.2. 論文の紹介

Vincent ら(2001)は、Wistar ラットを用いてオタワ標準粉じん(EHC-93)とそれを水ろ過した EHC-93L、Diesel soot (DS)および CBP の曝露時間 4 時間の急性曝露の影響を調べた。曝露濃度は、EHC-93: 48mg/m³、EHC-93L: 49mg/m³、DS: 4.2mg/m³ および CBP: 4.6mg/m³であった。

結果として、全ての曝露群で肺病理及びチミジンの取り込みに違いは見られなかった。EHC-93 曝露では曝露 2 日後で血圧が、32 時間でエンドセリン(ET)-1 が、2 時間、32 時間、48 時間で ET-3 がそれぞれ曝露前と比較して有意に上昇した。これに対して EHC-93L では血圧に明確な影響はなかったが、ET-1 及び ET-2 が曝露後 2 時間で曝露前と比較して有意に増加し、ET-3 が有意ではないが 2、24 時間後に増加し、その後減少した。

DS 曝露では曝露後 32 時間で ET-3 が有意に増加したが血圧への影響はなかった。CBP 曝露ではいずれの指標に関しても明確な影響は見られなかった。

本研究では、都市部大気中の EHC-93 粒子の吸入が血漿中の ET-1 及び ET-3 レベルに影響を与え、急性の肺障害がなくても血管収縮が生じる可能性が示された。更に、極性有機化合物や可溶性成分を取り除くことにより粒子が血行力学的変化に影響を与える可能性が示唆された。ET 上昇の病態生理学的重要性はヒトにおいて確立されているので、本研究における観察結果は吸入された粒子が心血管へ影響を与える可能性を裏付けるものである。ラットでのこれらの知見は、ヒトにおける大気中の粒子状物質と心血管疾患罹患及び死亡率との間の疫学的関連を支持する重要な証拠と考えられると著者は述べている。

Molinelli ら(2002)は、TSP の水溶性抽出物 1mg をラットの気管内に単回投与した。TSP 抽出物の気管内投与した場合の BALF 中のタンパク質や LDH は、生理食塩水の気管内投与と比較して増加した。金属類を除去した TSP 抽出物では、BALF 中のタンパク質や LDH の増加量は有意に減弱していた。金属類除去 TSP 抽出物に金属類を加えると、増悪効果は復活した。金属類でもタンパク質量は軽度に増加していた。TSP 抽出物、金属類除去 TSP 抽出物、金属類除去 TSP 抽出物+金属類の気管内投与により好中球性炎症が惹起されたが、群間で有意な差は見られなかった。本研究は、一般環境における粒子に含まれる水溶性の

金属成分が、量によっては、肺の障害に関与している可能性があることを示している。

Kotin ら(1955)は、暖機(負荷なし)または荷重運転時に DEP を回収し、そのアセトン抽出物をマウスの皮膚に塗布し腫瘍の発生を観察した。暖機運転時の DEP 抽出物塗布で C57Bl マウスに 13 ヶ月後に 2 例の乳頭腫、荷重運転時の DEP 抽出物塗布では、A 系マウス(雄)に 4 例の腫瘍(組織型不明)、A 系マウス(雌)に 17 例(組織型不明)の腫瘍発生を認めた。

Suzuki ら(1993)は、DEP にも含まれるピレンと OVA との混合物をマウスの腹腔内に投与し、OVA のみを投与した動物に比べ混合物を投与した動物の方が OVA 特異 IgE 抗体の産生が高まったことからピレンにアジュバント作用がある可能性を指摘した。

Løvik ら(1997)は、BALB/c マウスを用いて、DEP と CB の局所リンパ節での免疫応答への影響について検索した。DEP は平均粒径 $0.03\mu\text{m}$ で $0.1\text{mg}/\text{個体}$ を OVA 抗原と共に足蹠に皮下注射し経時的に 20 週後まで膝窩リンパ節の種々のインデックス(湿重量、細胞数、細胞増殖)を測定した。DEP+OVA 投与後 4~6 週後まではリンパ節の指標で有意な増加がみられ、CB を OVA と共に投与するとやはり DEP には劣るものの増加がみられた。抗 OVA IgE 抗体価も DEP+OVA で高い値が得られた。今回の結果から、DEP と CB の局所への投与でアジュバント効果がみられ、CB での結果から、DEP の効果は PAH 類のみならず核としてのカーボン分画にもあることが示唆された。

Gavett ら(1997)は 2 種類の ROFA の肺への影響を比較し、ROFA のどの成分が大きく影響を及ぼすか検討した。2 種類の ROFA を用意し、それぞれ 2.5 mg を 0.3 mL の生理食塩水に懸濁し、R1、R2 とした。さらに R1、R2 の上清を R1s、R2s とした。SD ラット(雄)に R2、R2s、R1s または生理食塩水 0.3 mL を気管内投与し、4 日後にアセチルコリン静脈注射による気道反応、BALF 中の細胞数および成分を検討した。その結果、R2 を投与したラット 12 匹のうち 3 匹が、また 12 匹の R2s のうち 1 匹が 4 日後までに死亡した。またアセチルコリンへの反応性は R2、R2s が R1s に比べ強かった。BALF 細胞については R1s と比較して R2、R2s は好中球の増加がみられた。このことから ROFA 中の可溶性の金属の組成の違いが肺の障害や気道の過敏の進行に大きな影響を与えることが示された。

Saldiva ら(2002)は、SD ラットを 4 群に分け、正常ラット(1、3 群)と慢性気管支炎ラット(2、4 群)に、清浄空気(1、2 群)もしくは CAPs(3、4 群 : Harvard Ambient Particle Concentrator を使用)を吸入曝露した。慢性気管支炎は SO_2 を吸入させることにより惹起した。CAPs の曝露濃度は、 $126.1\sim 481.0\mu\text{g}/\text{m}^3$ (3 日平均)、 $73.5\sim 733.0\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1 日平均)であり、曝露時間を 5 時間/日として 3 日間連続曝露を行った。CAPs の曝露は、正常動物においても、慢性気管支炎動物においても BALF 中の好中球を増加させた。6 回にわたる実験のうち、正常ラットでは 4 回、慢性気管支炎ラットでは 5 回、BALF 中の好中球の増加がみられた。好中球の増加は、粒子、V、Br、Pb、 H_2SO_4 、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関したが、Cl 濃度とは相関しなかった。この結果は、特に、慢性気管支炎動物において顕著であった。また、BALF 中のタンパク質濃度も、Pb、 H_2SO_4 、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関した。組織学的には、正常ラットに CAPs を曝露すると、好中球やマク

ロファージの肺胞への集積や肺胞上過形成が観察された。慢性気管支炎動物では炎症や粘液増加等が観察されたが、CAPsによる増悪は見られなかった。総じて、組織上は、全体あるいは正常ラットでは CAPs による増悪効果が観察されたが、慢性気管支炎ラットでは顕著とはいえなかった。粒子と所見の間にも相関は認められなかった。しかし、全体においては V および Br と組織所見、正常ラットにおいては Pb、Cl、元素状炭素、および有機炭素と組織所見の間に相関を認めた。慢性気管支炎ラットでは有意な相関を認めなかった。正常ラットにおいては、V 濃度と組織所見の間に量反応関係が認められた。

Kodavanti ら(2000)らは、気管支炎ラットモデルで CAPs 曝露による肺への影響を検索するため、SD ラット(雄)に SO₂ を曝露して気管支炎を誘導した。SO₂ 最終曝露の翌日、正常または気管支炎の両方のラットを清浄空気(正常 3 匹、気管支炎 4 匹)、あるいは、CAPs(ノースカロライナ州リサーチトライアングルパーク)(正常 5 匹、気管支炎 4 匹)で 6 時間/日、3 日もしくは 2 日連続で全身吸入曝露させた。最終的な CAPs 曝露後に肺の損傷を調べた。0 時間を含む手順を 4 回繰り返したが(study #A、1997 年 11 月; #B、1998 年 2 月; #C and #D、1998 年 5 月)、18 時間のものは一度(#F)だけ実験した。曝露濃度は、それぞれ、1 回目(#A) : 約 650 µg/m³、2 回目(#B)約 475 µg/m³、3 回目(#C) : 約 869 µg/m³、4 回目(#D) : 約 907 µg/m³であった。追加研究(#E)では CAPs プロトコル(1998 年 2 月)の模擬実験として、ラットを ROFA に曝露した。

18 時間(#F)後の検索では BALF 中で炎症マーカーに違いは見られなかった。4 回の CAPs(0 時間ポイント)の検索では、最初(#A)の実験で CAPs 曝露したラットでは BALF 中タンパク質、アルブミン、NAG 活性、および好中球数が増加した。2 番目(#B)の実験では BALF のパラメーターに有意な影響は見られなかった。実験#C または、実験#D では、気管支炎のラットで上記のパラメーターが少し増加した。研究#A、#C、#D、および#F の肺の組織学的評価では、CAPs 曝露した気管支炎のラットでわずかなうっ血と血管周囲の細胞浸潤がみられた。ROFA で曝露した正常および気管支炎のラットでは明確な肺の損傷を示さなかった(#E)。CAPs の基本的構成要素は S、Zn、Mn、および Fe であったが、肺の損傷と CAPs 濃度、硫酸塩または基本的構成要素にはまったく関連が見られなかった。正常ラットに関しては、CAPs 曝露の明らかな影響は見られなかった。組織学的検討でも、正常ラットに関しては、CAPs 曝露の影響は見られなかった。慢性気管支炎ラットでは、うっ血、粘液産生細胞増加、炎症細胞浸潤が、CAPs 曝露により増悪しているようであったが、有意差検定は施行されていない。

以上のことから、大気中の粒子状物質は感受性モデルの肺の損傷をもたらすかもしれないが、季節により CAPs の構成要素が異なることと関連して曝露影響も異なることや、気管支炎などの呼吸器疾患が潜在しているときには、粒子状物質自体の毒性だけを明確にすることは困難かもしれないと報告している。

Clarke ら(2000)は、CAPs を曝露されたイヌにおける肺の炎症や血液学的な反応について検討した。肺の炎症変化検索と血液学的な検索のために、正常イヌを CAPs やろ過空気

に曝露した。血液学的な検索では、CAPs またはろ過空気に 6 時間/日、3 日間連続曝露の後、次の週には、清浄空気曝露群は CAPs 曝露へ、CAPs 曝露群は清浄空気へとクロスオーバー曝露し、CAPs の 1 日の組成の変化と血液成分の変化との関連を調べた。次の週にはクロスオーバー曝露を行い、CAPs の 1 日の組成の変化と血液成分の変化との関連を調べた。全ての CAPs や全ての擬似曝露を比較したところ、生物学的な反応において統計的な有意差はみられなかった。しかしながら、CAPs 曝露における生物学的な反応の変動が大きかった。すなわち、日ごとの曝露量と成分のばらつきが大きく、それに対する生物学的な反応も変動も大きくなっていった。そこで、統計学的に、CAPs の成分と生物学的な反応の間の関連性を解析した。BALF 中の好中球の割合、末梢血の総白血球数、好中球、リンパ球の増加が Al や Si の増加と関連していた。血中の好中球と肺泡洗浄のマクロファージの増加は V や Ni 因子と関連していた。BALF の好中球の増加は、Br/Pb と CAPs 曝露の 3 日目のデータのみで関連性がみられた。赤血球の数やヘモグロビンレベルの有意な減少がイオウと相関があった。BALF と血液学的なパラメータは総計 CAPs の質量濃度の増加とは関連がなかった。これらのデータは CAPs の吸入が肺性および全身性の細胞プロファイルの変化と微妙に関連して、CAPs の特異的な成分はその生物学的な反応の原因である可能性を示唆している。

Wellenius ら (2003) は、6 匹のイヌに開胸手術を試行し、冠動脈の左前下行枝にバルーンを用いた閉塞作成装置を取り付けた。二匹を一組とし、CAPs (Harvard Ambient Particle Concentrator を使用 ; 345.25 ± 194.30 ($161.34 \sim 957.32$) $\mu\text{g}/\text{m}^3$) もしくは清浄空気を 6 時間/日、3 日間連続で吸入させた。曝露終了直後に、5 分間バルーンを膨張させ、冠動脈閉塞状態を作成し心電図を持続的にモニターし、ST 部分の上昇を高さの最大値と面積から判定した。冠動脈閉塞による V4、V5 誘導における ST 上昇は、清浄空気曝露個体に比較し、CAPs 曝露個体において顕著であった。しかし、単回帰解析において、ST 上昇と粒子濃度には相関はなく、ST 上昇と Si もしくは Pb の濃度との間に相関を認めた。多変量解析では、ST 上昇と Si 濃度との間のみ相関を認めた。冠動脈閉塞により頻脈が惹起されたが、CAPs 曝露の影響は認められなかった。冠動脈閉塞により心室性不整脈はあまり惹起されず、CAPs の影響も見られなかった。以上の結果から、浮遊粒子状物質は、冠動脈狭窄や閉塞に基づく心疾患を増悪する可能性が示唆された。

Kobzik ら (2001) は、OVA 誘発性喘息モデルマウスにおける CAPs と 0.3ppm O_3 の急性曝露影響について検討した。用いられた粒径は $0.15 \sim 2.5\mu\text{m}$ (粒子採集装置及びフィルターの性能からの予測値であり、測定値は記載なし) で曝露濃度は高用量 ($63.3 \sim 1,568.6\mu\text{g}/\text{m}^3$) と低用量 ($1.6 \sim 133.1\mu\text{g}/\text{m}^3$) の 2 種類であった。7 日齢及び 14 日齢に OVA 感作後、21 日齢より実験を開始した。OVA 誘発性喘息モデル群及び対照群に対し、5 時間/日で、3 日間連続し、CAPs (Harvard Ambient Particle Concentrator を使用) 及び O_3 又は清浄空気を吸入させた。その結果、① CAPs 単独曝露により、メサコリン応答性 Penh: enhanced pause (メサコリン誘導肺気流抵抗) の濃度依存的な上昇が認められた ($100\mu\text{g}/\text{m}^3$ につき 0.86% 上昇)。

②300~500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ CAPs と O_3 の複合曝露により、メサコリン誘導肺気流抵抗の上昇が認められた。①と②は CAPs 曝露直後にのみ認められ、曝露 24 時間後では認めなかった。③CAPs 中の元素組成と Penh との相関を検討した結果、CAPs 中の Al-Si 含有率に相関して Penh(ベースライン：メサコリン刺激無し)の上昇が認められた。④CAPs 単独曝露又は CAPs+ O_3 複合曝露 48 時間後において、BALF 中の全細胞数及びマクロファージ数の減少が認められた。

Gavett ら (2003) らは、OVA 感作モデルに、①初回 OVA 処理の 2 日前にドイツの異なる 2 都市、ヘットシュテット(Hettstedt)(アレルギー体質の子供数が多い)とツェルブスト(Zerbst)(対照)に由来する $\text{PM}_{2.5}$ を 10 $\mu\text{g}/50\mu\text{l}$ saline で投与(感作)、あるいは②初回 OVA 処理 14 日後に上記 $\text{PM}_{2.5}$ を投与(チャレンジ)し、A、B それぞれについてその後の OVA 再投与による反応(メサコリン試験、OVA-IgE、BALF)を調べた。結果としてヘットシュテット由来の $\text{PM}_{2.5}$ を投与したマウスの方が、OVA 再投与により強い気道の反応性所見(気道閉塞による減少した流入空気量)、メサコリンへの反応、肺の炎症所見を示した。OVA-IgE はヘットシュテット由来 $\text{PM}_{2.5}$ による感作、チャレンジのいずれのマウスでも増加していた。二つの異なる都市由来の $\text{PM}_{2.5}$ (金属の含有量の違いに注目)の肺への影響を動物実験により比較したところ、疫学データと同様の結果が得られ、そのメカニズムとして、 $\text{PM}_{2.5}$ の金属組成が肺のアレルギー性炎症に影響を与えていると述べている。

Schins ら (2004) は、工業地帯(都市部)と郊外より採集した粒子状物質(coarse、fine の 2 サイズ)をラット気管内に投与し、18 時間後の BALF および血中の炎症指標を測定した。その結果、fine より coarse の粒子状物質が、さらに、工業地帯よりも郊外の粒子状物質がより強い毒性を示した。その背景に、金属(組成、含有量)ではなく、エンドトキシン量が関与していることが示唆された。

Rhoden ら (2004) は、ラットに CAPs(ボストン由来)を曝露濃度 1,060 \pm 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で 5 時間曝露し、肺組織の生化学的および病理学的解析を実施した。その結果、酸化反応物の 2 倍量の増加(チオバルビツール酸反応物質、酸化タンパク質)が認められた。また、炎症の指標としての BALF 中の好中球数の増加、肺湿重量の増加、軽度の気管支炎が認められた。抗酸化剤としての N-アセチルシステイン前処置により、酸化脂質産生、肺の湿重量増加、BALF 内の好中球浸潤および気管支炎の抑制効果が見られた。チオバルビツール酸反応物質と CAPs 中の Al、Si、Fe との有意な関連が認められた。本報告では CAPs 曝露により、活性酸素種の反応を介した生体影響が起こることが示唆されたと報告している。

Gurgueira ら (2002) は、ラットに CAPs(300 \pm 60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を 1~5 時間吸入させ、人工呼吸下に肺、心臓、肝臓の化学発光量(酸化ストレスの指標)を調べたところ、肺と心臓において有意な上昇が認められた。同様の結果が ROFA(1.7 mg/m^3 、30 分)の曝露において認められたが CB(300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)では変化は認められなかった。肺の化学発光量は、CAPs 中の Ca、Mn、Cu、Fe、Zn と、心臓の化学発光量は、Si、Al、Ti、Fe と相関が見られた。また、肺の障害指標としての乾湿重量比、組織障害指標としての血清 LDH、クレアチンホスホキナーゼ

活性、肺の Mn-SOD とカタラーゼ活性、心臓の Cu/Zn-SOD と Mn-SOD 活性が CAPs の曝露により上昇した。

Batalha ら (2002) は、CAPs に短期曝露された正常ラットや慢性気管支炎ラットの肺小動脈の形態変化の有無を検討するために、SD ラット(雄)を 6 群に分け CAPs(平均 182.75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (73.5~733 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)または粒子を含まない空気を 5 時間/日、3 日間連続曝露した。慢性気管支炎ラットは 276 \pm 9 ppm SO_2 を 5 時間/日、5 日間/週、6 週間曝露して誘導した。CAPs の最終曝露 24 時間後に試料を採取し、肺葉の無作為に選んだ部位から組織標本を作製し、肺小動脈の横方向の切片から形態計測学的に管腔/壁の割合(L/W 比)を調べた。全ての正常ラットと慢性気管支炎ラットをまとめてデータ解析を行うと、粒子の質量、Si、Pb、 H_2SO_4 、元素状炭素、有機炭素が多いほど、L/W 比が減少した。各動物データからの単変量解析では、 H_2SO_4 との関連は正常ラットにのみ有意であるのに対し、Si は慢性気管支炎ラットと正常ラット共に有意に関連していた。全ての粒子要因が含まれた多変量解析では、Si との関連が有意であった。本研究結果は CAPs の短期的曝露が正常ラットまたは、慢性気管支炎ラットの肺小動脈の血管狭窄を誘導することを示唆している。この影響は特異的な粒子の成分と関連があり、肺の脈管構造が大気中粒子毒性のための重要な標的かもしれないということを示している。

Pott と Roller(1994)は、DEP に近い材料として種々の炭粉を Wistar ラット(雌)に経気道肺内投与し(3mg/回を 10 回、あるいは 15 回)、腫瘍発生を観察した。粒子表面積の異なる炭粉などで比較したが、ほぼ同等の肺腫瘍発生率で、最も表面積の大きい活性炭では肺腫瘍発生率は低かった。

Ohyama ら (1999) は、F344 ラットに DEP 抽出物でコーティングした CBP(DEcCBP)0.2mg を、1 回/週、計 4 回、気管内投与し、6 ppm の NO_2 および 4 ppm の SO_2 を 10 カ月間曝露し、実験開始から 18 カ月後に肺病変を組織学的および DNA 付加物について検討した。それによると、DEcCBP 単独投与群では肺胞道における硝子塊の形成と硝子塊周辺の肺胞道上皮の気管支上皮化が認められたのみであったが、肺腫瘍形成および DNA 付加物の形成は DEcCBP 気管内投与に NO_2 および SO_2 を曝露した群に認められた。これらのことから、硝子塊から溶出した DEP 抽出物が肺胞上皮の DNA 損傷および肺胞上皮の増殖を惹起し、 NO_2 および SO_2 が DEP 抽出物による肺腫瘍の誘導を促進すると推測している。

Heinrich ら (1994) によると、Wistar ラット(雌)への DEP、有機溶媒洗浄 DEP、CB(有機溶媒洗浄)投与実験の結果では、洗浄された DEP でも肺腫瘍発生を観察し、CB では表面積の大きな種類が高い肺腫瘍発生率であったと報告した。

Nikula ら (1995) は、DE 中に含まれる有機化合物のラット肺腫瘍の発生に対する影響力を調べるために、DE と CB を F344 ラットに曝露した。粒子濃度は、DE および CB とともに 2.5、6.5 mg/m^3 であり、16 時間/日、5 日/週の条件で 24 カ月間曝露した。高粒子濃度 6.5 mg/m^3 の DE および CB による肺腫瘍発生率は両群で近い値で、Squamous cyst の発生

割合、生存率ともに類似していた。2.5mg/m³ではDE曝露による肺腫瘍に高い傾向があったが、肺に貯留した粒子量を測定してみるとDE曝露の方が高い傾向があり、これを基準とした肺腫瘍発生率をCBとDEとで比較すると、ほぼ同等の発がんが認められた。その結果から、DEに含まれる有機化合物は、ラット肺腫瘍発生への寄与は小さいと述べている。

Depassら(1982)は、DEPとそのジクロロメタン抽出液を1群40匹のマウス皮膚に塗布した。試験物質の投与条件は、ディーゼル粒子5%、10%のアセトン浮遊液、5%、10%、25%、50%のジクロロメタン抽出液25μLを、発がん試験では3回/週投与、最高で714日まで継続、プロモーション試験では、1.5% BaPの単回塗布後、5回/週投与、イニシエーション試験では試験物質の単回投与の1週間後からPhorbol myristate acetateを3回/週投与した。いずれの試験でも腫瘍発生の有意味な増加はなく、発がん性、プロモーション作用、イニシエーション作用はほとんどなかった。

Yangら(2001)は、SDラット(雄)に生理食塩水またはCB(5 mg/kg(体重))、DEP(5mg/kg(体重))を曝露後、リステリア菌を感染させ、1週間観察した。感染させたリステリア菌のクリアランスはCB投与では影響なかったがDEP投与群で遅延し、DEPの曝露がリステリア菌感染の感受性を高めることが示された。BALF中のマクロファージ、好中球の割合はDEP、CB投与共に感染3日後に増加したが、リステリア菌感染により増加するBALF中の活性酸素やNO産生は、DEP前投与では阻害されていた。感染3日後に肺胞マクロファージを分離培養し、TNFの産生能を調べたところDEP曝露群ではCB投与群に比べ産生能が低かった。DEP気管内投与により、AMの抗細菌活性物の産生能が減少し、肺感染症にかかりやすくなる可能性が示された。また、DEPとCBの結果に明らかな違いが見られることから、DEPに付着した化学物質が影響している可能性を示した。

Kodavantiら(1998)は、ROFAの金属含有量の違いが肺の炎症と障害作用に影響するかについて検討するために、火力発電所の異なる部位から採集されたROFA(0.83、3.33、8.3 mg/kg)をラットの気管内に投与した。24時間のBALF中のタンパク質、ヘモグロビン、LDH量はNiやFeの含量と相関がみられた。一方、BALF中の好中球数はV含量と相関がみられた。マクロファージの活性化(活性酸素の産生)はV含量の高いROFAで観察された。ROFAによる肺の炎症作用やマクロファージの活性化はV含量と関連し、障害作用についてはNi含量と関連することが示された。

Fernandezら(2002)は、石炭と乾燥下水汚泥の燃焼由来粒子(MSS/coal ash)を0mg/m³、1,000μg/m³、3,000μg/m³の濃度でC57BL/6マウスに1時間/日、24日間の連続曝露を行い、呼吸器への影響について検討した。また、Coal ash(3,000μg/m³)も同様に曝露した。動的肺コンプライアンスと気道抵抗には変化がみられなかったが、^{99m}Tc (Technetium、テクネチウム)を用いた肺の透過性の測定では、MSS/coal ashの濃度依存的な増加が認められ、BALFの細胞数は、どちらの濃度のMSS/coal ash群でも同程度の低下がみられた。一方、Coal ash曝露では^{99m}Tc透過性、BALF中細胞数のいずれも明らかな変化を認めなかった。MSS/coal ashではZn濃度がCoal ashより有意に高かった。粒子を溶解した溶液のpHに

差がないため、粒子の組成が肺の障害にかかわっている可能性を示唆していると考えられる。

Muggenburg ら (2000) は、イヌの心血管系への ROFA の影響を検討するため、急性実験を行った。正常イヌ(ビーグル犬、n=4、10.5 歳)に対して、平均粒径 2.22 μ m の ROFA を、3mg/m³ の濃度で 3 時間/日×3 日間の吸入曝露を行った。曝露中は心電図を連続記録(鎮静剤投与下)した。その結果、ROFA 曝露では心電図の ST 分節の高さ、T 波の形状や高さに変化を与えず不整脈もみられなかった。したがって ROFA 曝露はイヌの心臓の電気生理学的変化をもたらすことはないことが示された。

Moyer ら (2002) は、4 種の化学物質 (InP、CoSO₄、V₂O₅ および GaAs) を B6C3F1 マウスに吸入曝露した。低濃度 (0.3~4 mg/m³、化学物質によって濃度は異なる。化学物質 1 種類につき 1 濃度) を 2 年間吸入曝露(1 日あたりの曝露時間は不明)をし、病理組織学的解析を行った。InP 曝露により心臓の筋性動脈(細い動脈)において動脈炎が観察された。また、CoSO₄ においても動脈炎が観察された。しかし、高濃度(16~100 mg/m³)90 日間曝露においては、雄雌のマウスともに対照群と比較して有意に動脈炎発症が増加するとの知見は得られなかった。

Watkinson ら (2000) は、老齢 SHR(雄、15 ヶ月齢、350~420g) にオタワ粉じん(OTT)2.5mg、燃焼に伴って発生する粒子状物質(ROFA)0.5mg、ヘレナ山の火山灰(MSH)2.5mg を気管内投与し、心電図、心拍数、深部体温を曝露前 48 時間から曝露後 96 時間にわたりモニターした。心電図、心拍数、不整脈などの悪影響は OTT>ROFA>>MSH の順に大きかった。また、粒子状物質の重要な金属成分である Fe、V、Ni をそれぞれ単独あるいは混合(105 μ g of Fe₂(SO₄)₃、263 μ g of NiSO₄、245 μ g of VSO₄ in 0.3 ml acidified saline (pH=2)) でモノクロタリン処理 SD ラット(肺血管炎/肺高血圧モデル)に気管内投与した。投与後 0~6 時間、12~72 時間後に心拍数および深部体温の低下、不整脈や死亡率(30%)の増加が認められた。最も著しい影響は Ni と V 曝露により起こった。粒子状物質の循環器系への影響を明らかにした。

Campen ら (2002) は、①モノクロタリン非処置 SD ラットに生理食塩水、Fe₂(SO₄)₃ (0.105 mg)、NiSO₄(0.263 mg)、VSO₄ (0.245 mg)、②モノクロタリン処置ラットに生理食塩水、Fe₂(SO₄)₃、NiSO₄、VSO₄、③モノクロタリン処置ラットに Fe₂(SO₄)₃+VSO₄、Fe₂(SO₄)₃+NiSO₄、NiSO₄+VSO₄ (n=6)、Fe₂(SO₄)₃+NiSO₄+VSO₄ を気管内投与し、曝露後 2~4 日の影響を調べた。すべての群において生理食塩水投与で心拍数と深部体温の上昇が見られた。Fe の投与でも同様の現象がみられた。V 投与では心拍数・深部体温とも低下し、不整脈発生頻度も増加した。Ni 投与では遅発性に頻脈・低体温・不整脈がみられ、心拍数・深部体温は減少した。Ni と V の同時投与により、致死率は上昇した。これらは Fe の投与によりある程度抑制された。またモノクロタリン投与群は右心肥大が見られ、BALF では高濃度のタンパク質・LDH・NAG が観察された。さらに対照群において V と Ni は LDH や MIA レベルの上昇を引き起こし、Ni と他の金属を組み合わせるとさらなる上昇

を引き起こした。モノクロタリン投与群においても Ni 投与により LDH レベルが上昇した。本研究により、心拍数や深部体温・心電図の異常等、自律神経系に悪影響を与えるだけでなく、致死率等においても Ni や V は悪影響を与えること、Fe が Ni や V によって引き起こされる心機能異常を抑える働きをすることが示されたと考えられる。

Muggenburg ら (2003) は、心血管系の異常を有する老齢ビーグル犬に、Mn、Ni、V、Fe、Cu、の酸化物、Ni、V の硫酸塩エアロゾルのいずれか一つを、 $0.05\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度で 3 時間/日、連続 3 日間、口から吸入曝露し、心電図を記録して心拍数変化、心拍変動、波形異常との関連を評価した。その結果、これらの遷移金属エアロゾルへの曝露による心拍数、心拍変動、ST セグメントへの有意な影響は認められなかった。

Kodavanti ら (1997) は、ROFA または ROFA に含有される金属 (Fe、V、Ni) をラットの気管内に 1 回投与した。ROFA の粒径は $1.95 \pm 1.61\mu\text{m}$ で、投与量は ROFA (2.5 mg/個体)、Fe ($0.54\ \mu\text{M}/\text{個体}$)、V ($1.66\ \mu\text{M}/\text{個体}$)、Ni ($1.0\ \mu\text{M}/\text{個体}$) であった。いずれも 0.3 ml の生理食塩水 (pH 2.5) に溶解した。投与 1 時間後から気道・肺泡領域の浮腫および出血性変化、炎症細胞 (好酸球、好中球、マクロファージ) の浸潤が出現し、24 時間後にピークに達した後 96 時間後まで継続した。同様の変化は金属の投与によっても惹起されたが、Fe や V に比べて Ni による肺の炎症や障害が高度であった。金属を混合した場合にはむしろ炎症・障害の誘導作用は減弱した。ROFA 投与 3 時間後には一過性に MIP-2、IL-1 β 、IL-5、IL-6、VCAM-1、E-selectin の遺伝子発現が増加した。これら炎症性遺伝子は金属の投与でも観察されたが、特に Ni の影響が強く見られた。本研究では、ROFA に含有される金属による肺の炎症作用は、Ni>V>Fe の順に大きいことが示された。

Cassee ら (1997) は、マウスで NH_4HSO_4 粒子の曝露影響を検討した。粒径は ultrafine:85nm、fine(low mass):531nm、fine(high mass):453nm [mass median diameter] であり、曝露濃度は ultrafine: $235\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、fine(low mass): $78\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、fine(high mass): $972\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、曝露時間は 4 時間/日、連続 3 日間であった。肺やアレルギー反応に関するいずれの指標でも有意な結果を認めなかった。

Cassee ら (1998a) は、マウスで $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 粒子の急性曝露効果 (曝露時間 4 時間/日、連続 3 日間) を検討した。粒径は 459nm、曝露濃度は $250\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。その結果、肺や気管に関するいずれの指標でも有意な結果を認めなかった。

Cassee ら (1998b) は、マウスで NH_4NO_3 粒子の急性曝露効果 (曝露時間 4 時間/日、連続 3 日間) を検討した。粒径は、ultrafine: $0.03\mu\text{m}$ 、fine: $0.3\mu\text{m}$ で、曝露濃度は $250\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。肺やアレルギー反応に関するいずれの指標でも有意な結果を認めなかった。

Schlesinger と Cassee (2003) は、環境中のエアロゾルの主要成分である硫酸塩、硝酸塩への曝露が動物、ヒトに及ぼす生物学的影響について、臨床的曝露研究に関する学術論文および一般に公開されているレポート類から得られるデータに基づき、レビューした。その結果、硫酸塩、硝酸塩の粒子は、環境中の濃度に相当するレベルの曝露では、健常なヒトや動物、限定的な障害を有するモデル動物に対し、生物学的影響を及ぼす可能性はほと

んどないことが示唆された。ただし、実験と、実際の環境における曝露との相違に関連して注意すべき点があることを指摘している。

6.3. 論文による仮説の検証

CAPs (PM_{2.5})、DEP、ROFA、金属、酸性エアロゾル、生物起源エアロゾルに分け、それぞれを構成する成分における特定のものが毒性発現と関係しているかどうか調べた。

a) CAPs (PM_{2.5})

CAPs (PM_{2.5}) とその抽出物や洗浄後粒子との比較により、成分の毒性発現への関与を調べた報告がいくつかある。Vincent ら(2001)は、オタワ標準粉じん (EHC-93) とそれを水ろ過した EHC-93L をラットに吸入(鼻部)曝露して循環器系への影響を比較検討し、水ろ過により極性有機化合物や可溶性成分を取り除くと、血行力学的影響が消失したと報告している。Molinelli ら(2002)によると、ラットの気管内への TSP 抽出物投与により、BALF 中のタンパク質や LDH は増加した。金属類除去 TSP 抽出物ではこの変化は減弱し、金属類除去 TSP 抽出物に金属類を加えると毒性は復活した。

曝露影響評価報告書(毒性分野)によると、ラット内皮細胞培養系を用いた研究で、PM_{2.5} 抽出物は、微小血管内皮細胞に酸化ストレスを与えることにより細胞障害を引き起こし、抗酸化系酵素の遺伝子発現量を増加させた。また、PM_{2.5} 抽出物は同細胞の細胞間接着構造に障害を与え、物質透過性を亢進した。さらに、PM_{2.5} 抽出物の気管内投与によりマウスの肺の炎症の増悪作用、高血圧ラットの心拍数減少や副交感神経活動への影響をもたらしていることも確認された。

一方、CAPs 中の個々の成分と毒性に関する研究は、実験動物(正常イヌ、正常ラット、正常マウス、冠動脈閉塞モデル(イヌ)、慢性気管支炎ラット、アレルギー性喘息モデルマウスなど)に CAPs を吸入曝露し、CAPs 中成分濃度と影響の程度の違いから両者の関係を推察したり、統計学的に解析するなどの方法を用いて行われている。

結果として、正常ラットと SO₂ による慢性気管支炎ラットへの吸入曝露では、BALF 中の好中球増加が V、Br、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関したが、Cl 濃度とは相関しなかった。この結果は慢性気管支炎ラットにおいて顕著であった。BALF 中のタンパク質濃度も、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関した。全体においては V および Br と組織所見、正常ラットにおいて Pb、Cl、元素状炭素、有機炭素と組織所見の間に相関を認めた。正常ラットにおいては V 濃度と組織所見の間に量反応関係が認められた(Saldiva ら(2002))。しかし一方で、慢性気管支炎ラットに CAPs を吸入曝露しても BALF 中タンパク質、アルブミン、NAG 活性、好中球数の増加が硫酸塩または基本的構成要素(S、Zn、Mn、および Fe)と関連しなかったという報告もある(Kodavanti ら(2000))。

正常イヌに曝露した報告では、BALF中の好中球の割合、末梢血の総白血球数、好中球、リンパ球の増加がAlやSiの増加と関連し、血中の好中球と肺胞洗浄のマクロファージの増加はVやNiと関連していた。肺胞洗浄液の好中球の増加は、Br/PbとCAPs曝露の一部データのみで関連性がみられた。赤血球数やヘモグロビンレベルはS濃度との間に負の相関がみられた(Clarkeら(2000))。

冠動脈閉塞(虚血性心疾患)モデル犬を用いた実験では、冠動脈閉塞によるV4、V5誘導におけるST上昇がSiもしくはPbの濃度との間に相関を認めた。多変量解析では、ST上昇とSi濃度との間のみに関連を認めた(Welleniusら(2003))。

アレルギー性喘息モデルマウスへの吸入曝露ではAl、Si含有率とメサコリン応答性(Penh)の上昇の間に相関が認められた(Kobzikら(2001))。アレルギー性炎症モデルマウスにアレルギー体質の子供がより多い都市由来のPM_{2.5}を気管内投与すると、少ない都市由来のそれに比較し、気道反応性と肺の炎症所見がより強く観察され、Zn、Mg、Pb、Cu、Cdなど金属含量の違いがアレルギー反応の違いに関与していることが想定された(Gavettら(2003))。

一方、都市部工業地帯と郊外より採集した粒子状物質(coarse、fine)をラットの気管内に投与したところ、fineよりcoarseのサイズの粒子状物質が強く肺に炎症を誘導し、メカニズムとして、金属成分ではなく、エンドトキシンや他の汚染物質(O₃、窒素酸化物やイオウ酸化物など)の関与を示唆する報告もある(Schinsら(2004))。

循環器系への影響としては、ラットへ吸入曝露すると、チオバルビツール酸反応物質とCAPs中のAl、Si、Fe濃度との間に相関がみられた(Rhodenら(2004))。また、他の研究では、肺と心臓の化学発光量(酸化ストレスの指標)はCAPs中のCa、Mn、Cu、Fe、Zn濃度と、心臓の化学発光量はSi、Al、Ti、Fe濃度と相関がみられた(Gurgueiraら(2002))。慢性気管支炎ラットおよび正常ラットへのCAPs短期曝露において、小肺動脈管腔/壁の割合(L/W比)への影響が、単変量解析では、正常ラットでH₂SO₄との関連のみ有意であり、Siは慢性気管支炎、正常ラット共に有意に関連していた。多変量解析では、Siとの関連が有意であった(Batalhaら(2002))。

以上をまとめると、CAPs (PM_{2.5})の成分は毒性発現の重要な要素である。その理由として1) オタワ標準粉じんによる血行力学的影響が同粉じんの水ろ過により消失したこと(Vincentら(2001))、2) TSP抽出物における金属類の除去による肺障害の減弱および再添加による肺障害の復活(Molinelliら(2002))が挙げられる。しかしながら、個々の成分について検討すると、元素状炭素、有機炭素、H₂SO₄、Br、Cl、S、Si、金属(Al、Ca、Cd、Co、Cu、Fe、La、Mg、Mn、Pb、Ti、V、Zn等)、あるいはエンドトキシンが毒性発現に重要であると示唆する論文があるが、結果は論文ごとに異なり明確な結論は見出せなかった。

b) DEP

DEP の成分による毒性研究として、DEP と種々の炭粉によるラット経気道肺内投与後の肺腫瘍発生率の比較 (Pott と Roller(1994))、DEP 抽出物でコーティングした CBP の気管内投与による肺腫瘍形成および DNA 付加物の形成の検討 (Ohyama ら (1999))、DEP・有機溶媒洗浄 DEP・CB(有機溶媒洗浄)・TiO₂ 粒子投与による肺腫瘍発生の比較(Heinrich ら (1994))、DE と CB の吸入曝露による肺腫瘍発生の比較(Nikula ら (1995))、DEP アセトン抽出物のマウス皮膚塗布試験(Kotin ら (1955))、DEP ジクロロメタン抽出液のマウス皮膚塗布試験(Depass ら (1982))、DEP と CB の局所リンパ節試験の比較(Lovik ら (1997))、DEP と CB のリステリア菌感染の感受性の比較(Yang ら (2001))などの報告があるが、DEP 中の個々の成分についての検討は行われていない。

一方、DE あるいは DEP 曝露によって、PAH やニトロ PAH と肺組織 DNA が結合した DNA 付加体の形成も認められており、DEP に含まれる PAH とニトロ PAH が肺発がんの原因として重視すべきであるとされている。また、DEP 成分には代謝活性化を必要としない直接変異原物質が多く含まれ、その大部分は強変異原性を示す物質を多く含む PAH や多環芳香族ケトン等のニトロ誘導体であると考えられている。

また、DEP に含まれるピレンにアジュバント作用があることが示唆されている(Suzuki ら (1993))。また、DEP 抽出物が試験管の中で非常に微量でヒトの精子の運動能力を低下させることも報告されている。

以上まとめると、DEP 成分である PAH やニトロ PAH による変異原性や DNA 付加体形成、ピレンによるアジュバント作用が報告されているが、それ以外の特定の DEP 成分と毒性発現との関係についての報告はほとんどない。

c) ROFA

ROFA(2 種類)の懸濁液とその上清をラット気管内投与した実験から、ROFA 中可溶性金属の組成の違いが肺の障害や気道の過敏の進行に大きな影響を与えることが想定されている(Gavett ら (1997))。火力発電所の異なる部位から採集された ROFA をラット気管内投与した試験では、肺の炎症作用、マクロファージの活性化と V の関連、および肺障害作用と Ni の関連が示唆されている(Kodavanti ら (1998))。乾燥下水汚泥の燃焼由来粒子(MSS)が石炭燃焼由来粒子 (coal ash) のマウス鼻部曝露より肺の透過性が亢進した。粒子を溶解した溶液に pH の差はなく、Zn が MSS で有意に高かった(Fernandez ら (2002))。

Muggenburg ら (2000) は、正常犬に 3mg/m³ の ROFA を吸入曝露しても心電図に一貫した変化は観測されなかったと報告している、この論文では金属の影響については特に述べられていないが、曝露された遷移金属濃度は米国都市大気より数桁高い値と考えられている。

以上まとめると、ROFA の懸濁液上清の気管内投与により ROFA 中可溶性金属の組成の違いが肺障害や気道過敏性亢進に大きな影響を与えるが、溶解性の Fe、V、Ni の含有

量を濃縮大気中の粒子状物質よりかなり高くした吸入試験でも心臓に特に影響は観察されず、ROFA 中の特定成分と毒性発現との間に明確な関係は見出せなかった。

d) 金属

微小粒子状物質の特定の金属成分が毒性を有するかどうかの研究には大きく 2 つの方法がある。一つは特定の金属塩を動物に投与する方法、もう一つは採取した種々の微小粒子状物質 (CAPs、PM_{2.5}) を動物に曝露し、その金属成分と毒性の関係を統計学的に解析する方法である。

Moyer ら (2002) は、InP、CoSO₄、V₂O₅ および GaAs をマウスに 2 年間吸入曝露した。低濃度の InP、CoSO₄ 曝露により動脈炎が観察された。しかし、高濃度 (16~100 mg/m³) 90 日間曝露においては、雄性、雌性マウスともに対照群と比較して有意に動脈炎発症が増加する知見は得られなかった。Watkinson ら (2000) は、Fe、V、Ni をそれぞれ単独あるいは混合でラット (肺血管炎/肺高血圧モデル) に気管内投与し、最も著しい影響は Ni と V 曝露により起こったと報告している。Campen ら (2002) はラットへの Fe₂(SO₄)₃、NiSO₄、VSO₄ 気管内投与により、Ni や V が心拍数や深部体温・心電図の異常等、自律神経系、致死率等に悪影響を、Fe が Ni や V によって引き起こされる心機能異常を抑える働きを示した。Muggenburg ら (2003) は Mn、Ni、V、Fe、Cu の酸化物および Ni、V の硫酸塩をビーグル犬に吸入曝露 (0.05 mg/m³: 大気濃度より 2 から 4 桁高濃度) したが、顕著な心血管系への影響は観察されなかったと報告している。

Fe、V、Ni 硫酸塩のラット気管内投与による肺の炎症作用は Ni>V>Fe の順に大きいことが示唆されている (Kodavanti ら (1997))。

しかしながら、金属塩を実験動物に吸入あるいは気管内曝露する試験が実際の大气による曝露をどの程度反映するか不明確である。

一方、CAPs、PM_{2.5} を用いた研究では、ラットの気管内に TSP 抽出物を投与すると、BALF 中のタンパク質や LDH は増加した。金属類除去 TSP 抽出物ではこの変化は減弱し、金属類除去 TSP 抽出物に金属類を加えると増悪効果は復活したことが報告されており (Molinelli ら (2002))、金属成分の重要性は証明されている。しかし、特定の金属成分については、本章 a)CAPs (PM_{2.5}) で述べたように、すべての文献を比較して一貫した関係が認められない。また、CAPs を用いた研究は非常に限られたものであるため、曝露/反応に対して因子分析を行うには情報が不足している、などの理由から明確な結論はえられなかった。

以上をまとめると金属成分が微小粒子状物質の毒性発現の重要な要素である可能性は極めて高いが、一般的に、実験的研究は非常に高濃度の曝露を用いるため、一般の大气中のいずれの金属成分によって影響を生じるかは依然として不確かである。

e) 酸性エアロゾル

Saldiva ら (2002) は CB ラットへの CAPs 吸入曝露試験で CAPs 中 SO_4^{2-} と BALF 中の蛋白と好中球増加との間にのみ有意の関係をみとめているが、Kodavanti ら (2000)、Clarke ら (2000) の報告では CAPs 中 SO_4^{2-} 成分と有意な関係のある生体影響を認めていない。

1996 年の PMAQCD にて要約された研究では、酸性エアロゾルは健康人に対して肺機能の変化をほとんどもしくは全く引き起こさないと結論付けている。しかし、喘息患者では、肺機能のわずかな変化を生じる可能性があるともしている。

Cassee ら (1997)、Cassee ら (1998a)、Cassee ら (1998b) は、硫酸塩エアロゾル、硝酸塩エアロゾルなどによる顕著な生体影響は認められなかったと報告している。Schlesinger と Cassee (2003) は、硝酸塩、硫酸塩粒子に関するレビューを行い、環境レベルの濃度では生物学的な影響はほとんどないと結論付けた。

以上をまとめると、現在の環境レベルの酸性エアロゾルが健康な個体に顕著な影響を及ぼすことを示すのは困難である。

f) 生物起源エアロゾル

生物起源エアロゾルとして、1) 花粉およびその断片、2) 菌類および孢子、3) 腐植土のような物質、4) 動物の残骸、例えばダニやその糞、5) 細菌およびその断片、例えば、エンドトキシン、6) ポリグルコース成分、7) ウィルスなどが含まれる。菌類および真菌孢子は屋外のバイオエアロゾルの最大の成分であり、アレルギー性鼻炎、喘息、アレルギー性マイコシスなどに関連している (U.S.EPA (2004))。また、花粉は上気道に堆積してアレルギー性鼻炎を起こす。細菌の毒性のほとんどは、外側の細胞膜に存在するエンドトキシンによるものであり、サイトカインの産生および炎症のカスケードを引き起こされる U.S.EPA (2004)。大気中粒子状物質(coarse)による強い肺の炎症の原因として、エンドトキシンの関与を示唆する報告がある (Schins ら (2004)) が、通例エンドトキシンの大気中濃度は非常に低い。

以上をまとめると、生物起源エアロゾルとして花粉および菌・孢子によるアレルギー、エンドトキシンによる肺の炎症が問題となる。しかしこれらの成分は主に粗大粒子モードに存在し、微小粒子状物質による毒性を引き起こす成分として示すことは困難である。

g) その他

曝露影響評価報告書 (毒性分野) 環境省 (2007) によると、CAPs 中の元素炭素濃度、アンモニウムイオン濃度、硝酸イオン濃度、有機炭素濃度、硫酸イオン濃度、CAPs 濃度と心拍数、血圧、核心温度の生体影響指標の間に明確な関係を予測させる成分は認められなかった。

h) まとめ

微小粒子状物質の成分である元素状炭素、有機炭素、酸性エアロゾル (H_2SO_4 、 HNO_3 など)、Br、Cl、 NH_3 、ピレン、PAH、ニトロ PAH、金属 (Al、V、Ni、Fe、Si、Pb、Ca、Mn、Cu、Zn、Mg、Ti、La、Cd、In、Co など) の毒性について検討した。これらの成分と毒性発現との関係の重要性を示唆する論文もあるが、結果は必ずしも一様ではなかった。CAPs の中に含まれる成分と毒性に関する研究は非常に限定的であり、微小粒子状物質の毒性は特定の成分により引き起こされるという明確な証拠はなかった。

未定稿

参考文献

- 1 Batalha, J.R., Saldiva, P.H., Clarke, R.W., Coull, B.A., Stearns, R.C., Lawrence, J., Murthy, G.G., Koutrakis, P. & Godleski, J.J. (2002). Concentrated ambient air particles induce vasoconstriction of small pulmonary arteries in rats. *Environmental Health Perspectives*, 110, 1191-1197.
- 2 Campen, M.J., Nolan, J.P., Schladweiler, M.C., Kodavanti, U.P., Costa, D.L. & Watkinson, W.P. (2002). Cardiac and thermoregulatory effects of instilled particulate matter-associated transition metals in healthy and cardiopulmonary-compromised rats. *J Toxicol Environ Health A*, 65, 1615-1631.
- 3 Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. (1997). Toxicity of Ambient Particulate Matter (PM10) I. Acute toxicity study in asthmatic mice following 3-day exposure to ultrafine and fine ammonium bisulfate, a model compound for secondary aerosol fraction of PM10 National Institute of Public Health and the Environment (RIVM): Bilthoven, The Netherlands.
- 4 Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. (1998a). Toxicity of ambient particulate matter II. Acute toxicity study in asthmatic mice following 3-day exposure to fine ammonium ferrosulfate, a model compound for secondary aerosol of PM10. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM): Bilthoven, The Netherlands.
- 5 Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. (1998b). Toxicity of ambient particulate matter III. Acute toxicity study in asthmatic mice following 3-day exposure to ultrafine and fine ammonium nitrate, a model compound for secondary aerosol fraction of PM10. In *Inhalation Toxicol.* National Institute of Public Health and the Environment (RIVM): Bilthoven, The Netherlands.
- 6 Clarke, R.W., Coull, B., Reinisch, U., Catalano, P., Killingsworth, C.R., Koutrakis, P., Kavouras, I., Murthy, G.G., Lawrence, J., Lovett, E., Wolfson, J.M., Verrier, R.L. & Godleski, J.J. (2000). Inhaled concentrated ambient particles are associated with hematologic and bronchoalveolar lavage changes in canines. *Environmental Health Perspectives*, 108, 1179-1187.
- 7 Depass, L.R., Chen, K.C. & Peterson, L.G. (1982). Dermal carcinogenesis bioassays of diesel particulates and dichloromethane extract of diesel particulates in C3H mice. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 10, 321-327.
- 8 Fernandez, A., Wendt, J.O., Cenni, R., Young, R.S. & Witten, M.L. (2002).

- Resuspension of coal and coal/municipal sewage sludge combustion generated fine particles for inhalation health effects studies. *Science of the Total Environment*, 287, 265-274.
- 9 Gavett, S.H., Haykal-Coates, N., Copeland, L.B., Heinrich, J. & Gilmour, M.I. (2003). Metal composition of ambient PM_{2.5} influences severity of allergic airways disease in mice. *Environmental Health Perspectives*, 111, 1471-1477.
 - 10 Gavett, S.H., Madison, S.L., Dreher, K.L., Winsett, D.W., McGee, J.K. & Costa, D.L. (1997). Metal and sulfate composition of residual oil fly ash determines airway hyperreactivity and lung injury in rats. *Environmental Research*, 72, 162-172.
 - 11 Gurgueira, S.A., Lawrence, J., Coull, B., Murthy, G.G. & Gonzalez-Flecha, B. (2002). Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation. *Environmental Health Perspectives*, 110, 749-755.
 - 12 Heinrich, U., Dungworth, D.L., Pott, F. & et al. (1994). The carcinogenic effects of carbon black particles and tar-pitch condensation aerosol after inhalation exposure of rats. *Annals of Occupational Hygiene*, 48 351-356.
 - 13 Kobzik, L., Goldsmith, C.A., Ning, Y.Y., Qin, G., Morgan, B., Imrich, A., Lawrence, J., Murthy, G.G. & Catalano, P.J. (2001). Effects of combined ozone and air pollution particle exposure in mice. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-29; discussion 31-28.
 - 14 Kodavanti, U.P., Hauser, R., Christiani, D.C., Meng, Z.H., McGee, J., Ledbetter, A., Richards, J. & Costa, D.L. (1998). Pulmonary responses to oil fly ash particles in the rat differ by virtue of their specific soluble metals. *Toxicological Sciences*, 43, 204-212.
 - 15 Kodavanti, U.P., Jaskot, R.H., Costa, D.L. & Dreher, K.L. (1997). Pulmonary proinflammatory gene induction following acute exposure to residual oil fly ash: roles of particle-associated metals. *Inhalation Toxicology*, 9, 679-701.
 - 16 Kodavanti, U.P., Mebane, R., Ledbetter, A., Krantz, T., McGee, J., Jackson, M.C., Walsh, L., Hilliard, H., Chen, B.Y., Richards, J. & Costa, D.L. (2000). Variable pulmonary responses from exposure to concentrated ambient air particles in a rat model of bronchitis. *Toxicological Sciences*, 54, 441-451.
 - 17 Kotin, P., Falk, H.L. & Thomas, M. (1955). Aromatic hydrocarbons. III. Presence in the particulate phase of diesel-engine exhausts and the carcinogenicity of exhaust extracts. *AMA Arch Ind Health*, 11, 113-120.

- 18 Løvik, M., Hogseth, A.K., Gaarder, P.I., Hagemann, R. & Eide, I. (1997). Diesel exhaust particles and carbon black have adjuvant activity on the local lymph node response and systemic IgE production to ovalbumin. *Toxicology*, 121, 165-178.
- 19 Molinelli, A.R., Madden, M.C., McGee, J.K., Stonehuerner, J.G. & Ghio, A.J. (2002). Effect of metal removal on the toxicity of airborne particulate matter from the Utah Valley. *Inhalation Toxicology*, 14, 1069-1086.
- 20 Moyer, C.F., Kodavanti, U.P., Haseman, J.K., Costa, D.L. & Nyska, A. (2002). Systemic vascular disease in male B6C3F1 mice exposed to particulate matter by inhalation: studies conducted by the National Toxicology Program. *Toxicologic Pathology*, 30, 427-434.
- 21 Muggenburg, B.A., Barr, E.B., Cheng, Y.S., Seagrave, J.C., Tilley, L.P. & Mauderley, J.L. (2000). Effect of inhaled residual oil fly ash on the electrocardiogram of dogs. *Inhalation Toxicology*, 12 Suppl 4, 189-208.
- 22 Muggenburg, B.A., Benson, J.M., Barr, E.B., Kubatko, J. & Tilley, L.P. (2003). Short-term inhalation of particulate transition metals has little effect on the electrocardiograms of dogs having preexisting cardiac abnormalities. *Inhalation Toxicology*, 15, 357-371.
- 23 Nikula, K.J., Snipes, M.B., Barr, E.B., Griffith, W.C., Henderson, R.F. & Mauderly, J.L. (1995). Comparative pulmonary toxicities and carcinogenicities of chronically inhaled diesel exhaust and carbon black in F344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 25, 80-94.
- 24 Ohyama, K., Ito, T. & Kanisawa, M. (1999). The roles of diesel exhaust particle extracts and the promotive effects of NO₂ and/or SO₂ exposure on rat lung tumorigenesis. *Cancer Letters*, 139, 189-197.
- 25 Pott, F. & Roller, M. (1994). Relevance of non-physiologic exposure routes for carcinogenicity studies of solid particles. In *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract*, Mohr, U., Dungworth, D.L., Mauderly, J.L. & Oberdorster, G. (eds) pp. 109-125. International Life Sciences Institute Press: Washington, DC.
- 26 Rhoden, C.R., Lawrence, J., Godleski, J.J. & Gonzalez-Flecha, B. (2004). N-acetylcysteine prevents lung inflammation after short-term inhalation exposure to concentrated ambient particles. *Toxicological Sciences*, 79, 296-303.
- 27 Saldiva, P.H., Clarke, R.W., Coull, B.A., Stearns, R.C., Lawrence, J., Murthy, G.G., Diaz, E., Koutrakis, P., Suh, H., Tsuda, A. & Godleski, J.J. (2002). Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to

- particle composition. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165, 1610-1617.
- 28 Schins, R.P., Lightbody, J.H., Borm, P.J., Shi, T., Donaldson, K. & Stone, V. (2004). Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195, 1-11.
- 29 Schlesinger, R.B. & Cassee, F. (2003). Atmospheric secondary inorganic particulate matter: the toxicological perspective as a basis for health effects risk assessment. *Inhalation Toxicology*, 15, 197-235.
- 30 Suzuki, T., Kanoh, T., Kanbayashi, M., Todome, Y. & Ohkuni, H. (1993). The adjuvant activity of pyrene in diesel exhaust on IgE antibody production in mice. *Arerugi Japanese Journal of Allergology*, 42, 963-968.
- 31 U.S.EPA. (2004). Air quality criteria for particulate matter. EPA report no. EPA/600/P-99/002aF.
- 32 Vincent, R., Kumarathasan, P., Goegan, P., Bjarnason, S.G., Guénette, J., Bérubé, D., Adamson, I.Y., Desjardins, S., Burnett, R.T., Miller, F.J. & Battistini, B. (2001). Inhalation toxicology of urban ambient particulate matter: acute cardiovascular effects in rats. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-54; discussion 55-62.
- 33 Watkinson, W.P., Campen, M.J., Nolan, J.P., Kodavanti, U.P., Dreher, K.L., Su, W.Y., Highfill, J.W. & Costa, D.L. (2000). Cardiovascular effects following exposure to particulate matter in healthy and cardiopulmonary-compromised rats. In *Relationships between acute and chronic effects of air pollution* Heinrich, U. & Mohr, U. (eds) pp. 447-463. ISLI Press, : Washington, DC.
- 34 Wellenius, G.A., Coull, B.A., Godleski, J.J., Koutrakis, P., Okabe, K., Savage, S.T., Lawrence, J.E., Murthy, G.G. & Verrier, R.L. (2003). Inhalation of concentrated ambient air particles exacerbates myocardial ischemia in conscious dogs. *Environmental Health Perspectives*, 111, 402-408.
- 35 Yang, H.M., Antonini, J.M., Barger, M.W., Butterworth, L., Roberts, B.R., Ma, J.K., Castranova, V. & Ma, J.Y. (2001). Diesel exhaust particles suppress macrophage function and slow the pulmonary clearance of *Listeria monocytogenes* in rats. *Environmental Health Perspectives*, 109, 515-521.
- 36 環境省. (2007). 第3章 毒性評価ワーキンググループ編. In *微小粒子状物質曝露影響調査報告書*, 環境省 (ed) pp. 209.