

系の増強に重要であると考えられる。

ヒトボランティア実験では、ヒトの鼻内へのブタクサ抗原と DEP の投与は Th1 タイプのサイトカイン (IFN- γ や IL-2) mRNA の発現の減少をもたらしたが、他のサイトカイン (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13) の mRNA の発現の増加をもたらした (Diaz-Sanchez ら (1997))。

DEP とブタクサ抗原の粘膜刺激の複合作用としては、ブタクサ・アレルギーのヒトで *in vivo* の IgE isotype への switching を引き起こしうることを示している (Fujieda ら (1998))。

ヒトが遭遇しない KLH (Keyhole Limpet Hemocyanin) 抗原を用いた研究では DEP が新しい IgE 反応に粘膜アジュバントとして作用し、アレルギー感作を増加させる可能性を示した (Diaz-Sanchez ら (1999))。

DEP の曝露はマスト細胞の脱顆粒を促進することによりアレルギーに対する臨床症状の重症度を増強させることを示唆した (Diaz-Sanchez ら (2000))。

アトピー性の被験者では、清浄空気に比し粒子がアレルギー曝露に先行する場合には反応が増強される証拠があると述べている (Hauser ら (2003))。

ノースカロライナ州の Chapel Hill でサンプリングした PM_{10-2.5} を使用した実験で PM_{10-2.5} の生物学的構成要素は、必ずしも好中球の反応を誘発しないが、マクロファージの反応調節には必要であると述べている。また、PM_{10-2.5} の曝露によって、単球の細胞を活性化し、潜在的に、eotaxin レベルを増強することによりアレルギー患者におけるアレルギーあるいは細菌に対する反応を増強する可能性が示唆された (Alexis ら (2006))。

しかしながら、喘息患者では、DE 曝露は、好中球性反応を引き起こしたり、既存の好酸球性気道炎症を増悪させたりすることはなかったこと (Stenfors ら (2004))、喘息グループの気道粘膜の生検組織は、空気曝露後に好酸球性気道炎症がみられたが、DE は、気道の好中球、好酸球やその他の炎症性細胞、またサイトカインや炎症のメディエーターの有意な変化をもたらさなかったとの報告もみられる (Holgate ら (2003))。

したがって、動物実験ではアレルギー性炎症の増悪が DE や DEP により認められたが、ヒトボランティア実験では、喘息患者について増悪が引き起こされない知見とともに、アレルギー感作を増悪させる知見が存在している。総体として見ると DE や DEP がアレルギー感作の増悪に影響を生じさせていることが示唆された。

4.3.3. 生殖器への影響が生じる

粒子状物質による全身影響の1つとして生殖器への影響が考えられているが知見が限られている。

ラットに DE を曝露すると、肝および前立腺の aryl hydrocarbon hydroxylase 活性が増加がみられた (Lee ら (1980))。

DE をマウスに曝露したが、精子の頭部異常はみられなかった (Pereira ら (1981))。次

世代への影響、全体の繁殖能力、生存率にも著しい変化はなかったが、唯一、卵巣黄体数の顕著な減少を認めたという報告がある (Pepelko と Peirano (1983))。

一方、DEP をマウスの腹腔内に注射すると、第 1 代 F₁ マウスで精子数の減少と睪丸重量の減少、精子奇形等を認めた (Quinto と de Marinis (1984))。

成長期のラットに総 DE、除粒子 DE を曝露すると、血清中の男性ホルモン(テストステロン)と女性ホルモン(エストラジオール)濃度は曝露により増加し、卵胞刺激ホルモン濃度は逆に低下したと報告されている (Watanabe と Oonuki (1999))。

また、DE をマウスに曝露すると、ライディッヒ細胞の形態異常が観察され、黄体形成ホルモン受容体の mRNA の発現量も濃度に依存して低下した (Yoshida ら (1999))。

さらに、妊娠ラットを DE、除粒子 DE および清浄空気に曝露すると、性器-肛門間距離は DE および除粒子 DE 群で長かったという報告もある (Watanabe と Kurita (2001))。

以上のように、動物実験では、DE 中の粒子成分のみならずガス成分による生殖機能への種々の影響が示されているが、まだ科学的知見が十分でなくメカニズムの解明には至っていないのが現状である。

4.3.4. 神経・行動への影響が生じる

粒子状物質の神経・行動への影響に関する知見は限られている。

ラットに DE を曝露すると自発的な運動の減少が見られたという報告がある (Laurie ら (1978))。また、新生仔期に DE に曝露され、その後清浄空気下で飼育された動物では、バーを押して食餌を取る行動の習得率が対照よりも有意に遅くなることが見いだされた (Laurie と Boyes (1980))。

ラットにガソリン二輪車排気ガス(ME)を吸入曝露、あるいはガソリン二輪車排気ガス中微小粒子(MEP)を気管内投与したところ、運動機能が低下した (Liu ら (2002))。また、運動神経伝導速度の低下、神経におけるナトリウムカリウム ATPase 活性の低下が認められた。Apo E^{-/-}マウスにニューヨークの CAPs を曝露すると、黒質緻密核からのニューロンが減少し、星状細胞は増加した (Veronesi ら (2005))。

サルにメタルアークステンレス鋼溶接蒸気を曝露すると、大脳基底核の MRI T1 relaxation time が減少していくことが示され、溶接蒸気を長期に吸入すると血中 Mn が高値となり脳 MRI T1 signal が増強されることが示唆された (Sung ら (2007))。

以上のように、動物実験は、DE、CAPs や ME などによる動物の行動や神経系への影響を示しているが、科学的知見が不足していることからそのメカニズムについては不明である。

- Alessandrini, F., Schulz, H., Takenaka, S., Lentner, B., Karg, E., Behrendt, H. & Jakob, T. (2006). Effects of ultrafine carbon particle inhalation on allergic inflammation of the lung. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 824-830.
- Alexis, N.E., Lay, J.C., Zeman, K., Bennett, W.E., Peden, D.B., Soukup, J.M., Devlin, R.B. & Becker, S. (2006). Biological material on inhaled coarse fraction particulate matter activates airway phagocytes in vivo in healthy volunteers. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 1396-1403.
- Campbell, A., Oldham, M., Becaria, A., Bondy, S.C., Meacher, D., Sioutas, C., Misra, C., Mendez, L.B. & Kleinman, M. (2005). Particulate matter in polluted air may increase biomarkers of inflammation in mouse brain. *Neurotoxicology*, 26, 133-140.
- Campbell, K.I., George, E.L. & Washington, I.S. (1981). Enhanced susceptibility to infection in mice after exposure to diluted exhaust from light duty diesel engines. *Environment International*, 5, 377-382.
- Diaz-Sanchez, D., Garcia, M.P., Wang, M., Jyrala, M. & Saxon, A. (1999). Nasal challenge with diesel exhaust particles can induce sensitization to a neoallergen in the human mucosa. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104, 1183-1188.
- Diaz-Sanchez, D., Penichet-Garcia, M. & Saxon, A. (2000). Diesel exhaust particles directly induce activated mast cells to degranulate and increase histamine levels and symptom severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106, 1140-1146.
- Diaz-Sanchez, D., Tsien, A., Fleming, J. & Saxon, A. (1997). Combined diesel exhaust particulate and ragweed allergen challenge markedly enhances human in vivo nasal ragweed-specific IgE and skews cytokine production to a T helper cell 2-type pattern. *Journal of Immunology*, 158, 2406-2413.
- Fujieda, S., Diaz-Sanchez, D. & Saxon, A. (1998). Combined nasal challenge with diesel exhaust particles and allergen induces In vivo IgE isotype switching. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 19, 507-512.
- Fujimaki, H., Nohara, O., Ichinose, T., Watanabe, N. & Saito, S. (1994). IL-4 production in mediastinal lymph node cells in mice intratracheally instilled with diesel exhaust particulates and antigen. *Toxicology*, 92, 261-268.
- Fujimaki, H., Saneyoshi, K., Shiraishi, F., Imai, T. & Endo, T. (1997). Inhalation of diesel exhaust enhances antigen-specific IgE antibody production in mice. *Toxicology*, 116, 227-233.
- Hahon, N., Booth, J.A., Green, F. & Lewis, T.R. (1985). Influenza virus infection in mice after exposure to coal dust and diesel engine emissions. *Environmental Research*, 37, 44-60.
- Hamada, K., Goldsmith, C.A., Goldman, A. & Kobzik, L. (2000). Resistance of very young

- mice to inhaled allergen sensitization is overcome by coexposure to an air-pollutant aerosol. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 1285-1293.
- Harrod, K.S., Jaramillo, R.J., Berger, J.A., Gigliotti, A.P., Seilkop, S.K. & Reed, M.D. (2005). Inhaled diesel engine emissions reduce bacterial clearance and exacerbate lung disease to *Pseudomonas aeruginosa* infection in vivo. *Toxicological Sciences*, 83, 155-165.
- Hauser, R., Rice, T.M., Krishna Murthy, G.G., Wand, M.P., Lewis, D., Bledsoe, T. & Paulauskis, J. (2003). The upper airway response to pollen is enhanced by exposure to combustion particulates: a pilot human experimental challenge study. *Environmental Health Perspectives*, 111, 472-477.
- Hiramatsu, K., Saito, Y., Sakakibara, K., Azuma, A., Takizawa, H. & Sugawara, I. (2005). The effects of inhalation of diesel exhaust on murine mycobacterial infection. *Experimental Lung Research*, 31, 405-415.
- Holgate, S.T., Sandstrom, T., Frew, A.J., Stenfors, N., Nordenhall, C., Salvi, S., Blomberg, A., Helleday, R. & Soderberg, M. (2003). Health effects of acute exposure to air pollution. Part I: Healthy and asthmatic subjects exposed to diesel exhaust. Research Report / Health Effects Institute, 1-30; discussion 51-67.
- Kleinman, M.T., Hamade, A., Meacher, D., Oldham, M., Sioutas, C., Chakrabarti, B., Stram, D., Froines, J.R. & Cho, A.K. (2005). Inhalation of concentrated ambient particulate matter near a heavily trafficked road stimulates antigen-induced airway responses in mice. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 55, 1277-1288.
- Lambert, A.L., Trasti, F.S., Mangum, J.B. & Everitt, J.I. (2003). Effect of preexposure to ultrafine carbon black on respiratory syncytial virus infection in mice. *Toxicological Sciences*, 72, 331-338.
- Laurie, R.D. & Boyes, W.K. (1980). Neurophysiological alterations due to diesel exhaust exposure during the neonatal life of the rat. In *Health effects of diesel engine emissions : proceedings of International Symposium on the Health Effects of Diesel Engine Emissions*, December 1979, E. Pepelko, W., M. Danner, R. & A. Clarke, N. (eds). U.S. Environmental Protection Agency, Health Effects Research Laboratory: Cincinnati, Ohio.
- Laurie, R.D., Lewkowski, J.P., Cooper, G.P. & et al. (1978). Effects of diesel exhaust on behavior of the rat. In 71st annual meeting of the Air Pollution Control Association. Air Pollution Control Association, Pittsburgh, PA: Houston, TX.
- Lee, I.P., Suzuki, K., Lee, S.D. & Dixon, R.L. (1980). Aryl hydrocarbon hydroxylase induction in rat lung, liver, and male reproductive organs following inhalation exposure to

- diesel emission. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 52, 181-184.
- Liu, S.H., Wang, J.H., Chuu, J.J. & Lin-Shiau, S.Y. (2002). Alterations of motor nerve functions in animals exposed to motorcycle exhaust. *J Toxicol Environ Health A*, 65, 803-812.
- Pepelko, W.E. & Peirano, W.B. (1983). Health effects of exposure to diesel engine emissions: a summary of animal studies conducted by the U.S. Environmental Protection Agency's Health Effects Research Laboratories at Cincinnati, Ohio. *J Am Coll Toxicol*, 2, 253-306.
- Pereira, M.A., Sabharwal, P.S., Gordon, L. & Wyrobek, A.J. (1981). The effect of diesel exhaust on sperm-shape abnormalities in mice. *Environment International*, 5, 459-460.
- Quinto, I. & de Marinis, E. (1984). Sperm abnormalities in mice exposed to diesel particulate. *Mutation Research*, 130, 242.
- Steenberg, P.A., Withagen, C.E., van Dalen, W.J., Dormans, J.A., Heisterkamp, S.H., van Loveren, H. & Cassee, F.R. (2005). Dose dependency of adjuvant activity of particulate matter from five European sites in three seasons in an ovalbumin-mouse model. *Inhalation Toxicology*, 17, 133-145.
- Stenfors, N., Nordenhall, C., Salvi, S.S., Mudway, I., Soderberg, M., Blomberg, A., Helleday, R., Levin, J.O., Holgate, S.T., Kelly, F.J., Frew, A.J. & Sandstrom, T. (2004). Different airway inflammatory responses in asthmatic and healthy humans exposed to diesel. *European Respiratory Journal*, 23, 82-86.
- Sung, J.H., Kim, C.Y., Yang, S.O., Khang, H.S., Cheong, H.K., Lee, J.S., Song, C.W., Park, J.D., Han, J.H., Chung, Y.H., Choi, B.S., Kwon, I.H., Cho, M.H. & Yu, I.J. (2007). Changes in blood manganese concentration and MRI t1 relaxation time during 180 days of stainless steel welding-fume exposure in cynomolgus monkeys. *Inhalation Toxicology*, 19, 47-55.
- Veronesi, B., Makwana, O., Pooler, M. & Chen, L.C. (2005). Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles. VII. Degeneration of dopaminergic neurons in Apo E^{-/-} mice. *Inhalation Toxicology*, 17, 235-241.
- Watanabe, N. & Kurita, M. (2001). The masculinization of the fetus during pregnancy due to inhalation of diesel exhaust. *Environmental Health Perspectives*, 109, 111-119.
- Watanabe, N. & Oonuki, Y. (1999). Inhalation of diesel engine exhaust affects spermatogenesis in growing male rats. *Environmental Health Perspectives*, 107, 539-544.
- Yoshida, S., Sagai, M., Oshio, S., Umeda, T., Ihara, T., Sugamata, M., Sugawara, I. & Takeda, K. (1999). Exposure to diesel exhaust affects the male reproductive system of mice.

International Journal of Andrology, 22, 307-315.

Zelikoff, J.T., Schermerhorn, K.R., Fang, K., Cohen, M.D. & Schlesinger, R.B. (2002). A role for associated transition metals in the immunotoxicity of inhaled ambient particulate matter. Environmental Health Perspectives, 110 Suppl 5, 871-875.

未定稿

5. 変異原性・遺伝子傷害性及び発がん影響

5.1. 仮説の紹介

実験動物への都市大気粒子曝露は、大気粒子の発がん影響を推定可能な試験法であるが検討例は少なく、発がん性を示唆する結果は得られていない。CAPs の曝露装置が開発され中・長期の曝露実験が実施されたが、発がん作用を直接示唆する有意な肺腫瘍発生の増加は報告されていない。

一方、都市大気粒子を構成する人為起源粒子の多くは石油系燃料の燃焼によって生成し、日本においては DEP の寄与が最も大きいことが報告されている。これら都市大気粒子については変異原性が認められているものの、変異原活性は、多環芳香族炭化水素(PAH、Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)含有量に基づく既知の変異原活性の総和よりもかなり大きいことから、新たな変異原成分や相互作用が推察されてきた。代謝活性化を必要としない強力な直接変異原である 1,6-ジニトロピレン、1,8-ジニトロピレン、3-ニトロベンズアントロンは高い含有量ではないが DEP の主要な変異原成分として注目される。これらのニトロアレン類は、それぞれ経気道肺内投与などによる実験動物での DNA 付加体生成と肺腫瘍発生が確認されている。発生源の種類や分布による差はあるが、DEP 以外の大気粒子には、燃焼由来のベンゾ(a)ピレンをはじめとする変異原性を有する PAH、V、Cr、Ni など肺組織に炎症や浮腫を引き起こす重金属類が含有され、粒子自体も肺組織に DNA の酸化的損傷を引き起こす作用のあることが知られている。これらのことから、大気中の微小粒子状物質が肺発がん性を有する可能性は否定できないと考えられるが、肺組織のどの部位あるいはどの細胞に作用し、多段階発がんのどの過程に最も影響を与える可能性があるかといった肺組織の特性を考慮した、より詳細な *in vivo* 研究が課題である。

なお既に、「ディーゼル排気微粒子リスク評価検討会(2002)」が DEP の発がん性について検討結果を発表しているが、その概略は以下のとおりである。

DEP は代謝活性化を必要としない直接変異原性物質を多く含み、哺乳動物細胞を用いる体細胞突然変異や姉妹染色分体交換の試験における一般に陽性の結果、また *in vivo* や *in vitro* での DNA 付加体の形成から、DEP には遺伝子傷害性があり、その発がん作用には閾値がないと考えるべきと判断される。また、DE の曝露と発がんリスクに関する職業集団を対象とした疫学調査は、その多くにおいて曝露評価が不完全であるが、多くの国で、また多くの職種において DE 曝露とヒト発がんとの関連を認め、各報告における推定リスクも類似している。一方、動物実験においては、DEP 曝露による腫瘍発生がラット以外では認められず、肺への過剰負荷による発がんという問題点も残るが、その発がん性は明らかである。

同検討会は、以上の知見を総合的に判断し、DEP のヒトに対する発がん性は強く示唆されると結論している。また、U.S.EPA による Health Assessment Document for Diesel Engine Exhaust(U.S.EPA (2002))もほぼ同様な判断と結論を示している。

微小粒子状物質の発がん影響に関する評価では、主としてこれまでの実験的知見に基づく以下の2つの仮説を検証するが、DEPに関しては上記検討会報告と重複するところが多い。

- (1) 都市大気微小粒子は変異原性・遺伝子傷害性を有する
- (2) 都市大気微小粒子は発がん性を有する

5.2. 論文の紹介

5.2.1. 都市大気微小粒子は変異原性・遺伝子傷害性を有する

変異原性はAmesらがサルモネラ菌の復帰突然変異を観察するいわゆるAmes法を開発して以来、発がんの初期段階との関連性から化学物質の発がん性スクリーニングとして広く検討されてきた(表5-1)。

後藤ら(1982)は東京都内で季節ごとに採取した大気浮遊粉じんの変異原性と多環芳香族炭化水素(PAH)含有量との関係を調べ、PAHが変異原性に寄与しているもののS9添加による代謝活性化を必要としない未知の変異原が存在するとした。

Tokiwaら(1983)は、チリのサンティアゴで採取した都市大気粒子の変異原性と成分を調べて、含有量の多い1-ニトロピレンの変異原性の寄与は小さく、微量ではあるが1,6-ジニトロピレン、1,8-ジニトロピレンが直接変異原として重要であることを明らかにした。

Ohsawa(1983)は、都市と郊外で大気粒子の変異原性を比べると都市の方が高いと報告した。

大谷ら(1985)は、東京と前橋で季節ごとの大気粒子の変異原性を調べ、両地域ともに夏季に低い傾向を認めた。これらの研究は都市大気粒子の変異原性が代謝活性化を必要としない直接変異原の寄与が大きく、未知の変異原を示唆していたが、Enyaら(1997)は、強力な直接変異原である3-ニトロベンズアントロンを都市大気粒子とディーゼル排気粒子から同定した。哺乳動物細胞を使った姉妹染色分体交換(SCE、Sister Chromatid Exchange)やマウス小核試験による検討結果でも、陽性結果を認めている。

Wongら(1986)は、ラット(F344)に粒子濃度7.1mg/m³でDEの曝露を31ヵ月続け、肺内のDNA付加体が増加することを報告した。

Bondら(1988)は、呼吸器内のDNA付加体の位置を決定するため、ラット(F344)にDEPを粒子濃度10mg/m³で7時間/日、5日/週、12週間曝露し、呼吸器の部位別にDNA付加体を分析した。DNA付加体は、末梢の肺組織と鼻部組織で検出され、その量は18/10⁹ NNであった。DNA付加体のレベルは発がん物質の効果量を測る上でよい指標である。

Bondら(1989)は、マウス(B6C3F1)、ハムスター、ラット(F344)、カニクイザルにDEPとCBを曝露した。曝露濃度はDE(0.35~10 mg/m³)、CB(3.5あるいは10 mg/m³)であり、6~7時間/日、5日/週で、12週間曝露した。ラットでは、DEP曝露によって気道及び肺組織のDNA付加体生成が示されたが、他の動物種について、ラットやサルでDNA付加体が検出される条件で、マウス(B6C3F1)、ハムスターに曝露を行い同様に分析しても増加は認められなかった。

Bondら(1990)は、ラット(F344)に、0.35、7.0、10 mg/m³の粒子濃度で、16時間/日、5

日/週、12週間の曝露を行い、それらのDNA付加体量には大きな差のないことを報告した。肺のDNA付加体生成は、低濃度で飽和状態に達している可能性が考えられる。また、Bondらは、同じくラット(F344)に粒子濃度7 mg/m³で12週間まで曝露させ、開始から2、4、8、12、14、16週目のDNA付加体量を測定したところ、曝露期間の延長にしたがい付加体量が増えた。そして曝露終了後には、速やかに減少し4週間後には対照群との間に有意の差がみられなくなった。さらにBondらは、炭素粒子曝露によるDNA付加体形成について、CBの0、3.5、10 mg/m³で12週間ラットを曝露し、炭素粒子への高度曝露によってもDNA付加体が増加するとした。

Gallagherら(1993)、Gallagherら(1994)は、ラット(Wistar、雌)への粒子濃度7.5 mg/m³のDEおよび11.3 mg/m³のCBに18時間/日、5日/週で24ヵ月間曝露を行い、肺内のDNA付加体を測定した。これらの2群の平均付加体量に大きな差はなく、対照群との間にも有意な差はみられなかった。DE曝露によるラットの肺内DNA付加体量は、曝露24ヵ月後では同じく2または6ヵ月後よりも低い量であった。

Tsurudomeら(1999)は、ラット(F344)へのDEP経気道投与後(2mg、4mg)に肺組織の8-OHdG量と修復酵素であるオキソグアニングリコシレース(OGG1、8-OxoGuanine DNA Glycosylase)の変化を調べた。8-OHdGは投与後速やかに上昇し、1週間以内に対照と同程度に低下した。OGG1のmRNAは、投与後、徐々に活性が低下するものの5日目には対照のレベルとなった。これは、DEPによる8-OHdGの変化には、活性酸素種の生成だけでなく、修復酵素の低下が関わっているとした。

Ohyamaら(1999)は、ラット(F344)にディーゼル排気粒子(DEP)抽出物でコーティングしたCB粒子(DECcBP: Carbon Black Particles coated with Diesel Exhaust) 0.2mgを、週1回、計4回、気管内投与し、6 ppmのNO₂および4 ppmのSO₂を10ヵ月間曝露し、実験開始から18ヵ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ている。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るのみであったが、肺腫瘍形成およびDNA付加体の生成はDECcBP気管内投与にNO₂およびSO₂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、NO₂およびSO₂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。

Satoら(2000)は、Big Blueラット(*lambda/lacI* 遺伝子導入)を使ってDE曝露後の肺組織について変異頻度と変異スペクトルを調べた。1または6 mg/m³のDEに4週間曝露した。6 mg/m³ DEへの曝露後では、肺における変異頻度は、対照群より4.8倍高かったが、1 mg/m³ DE曝露では増加がみられなかった。6 mg/m³ DE曝露では69の変異が同定された。主要な変異は、A:T→G:C(18変異)とG:C→A:T(19変異)トランジションであった。とくに、*lacI* 遺伝子の221におけるG→Tトランスバージョンは、DEに引き起こされたホットスポットで、6 mg/m³ DE曝露では、重複変異がみられた。DEによって形成されたDNA付加体の量を³²P-ポストラ

ベル TLC 法と、8-OHdG (8-hydroxy-deoxyguanosine)は HPLC で測定したところ、対照群のそれぞれ 3 倍および 2.2 倍に増加した。ノーザンブロットによるチトクローム P4501A1 mRNA のレベルは、6 mg/m³ DE 曝露で 5.5 倍に増加した。これらの結果から、DE がラット肺においてゲノム DNA に対する変異原として作用すると結論づけている。

Iwai ら (2000)は、ラット (F344) に若齢時から、粒子濃度 3.5 mg/m³、17 時間/日、3 日/週で 1、3、6、9、12 ヶ月間曝露し、肺組織の 8-OHdG を測定した。その結果、曝露期間の延長にしたがって 8-OHdG 量は増加すると報告した。同時に分析した PAH によって形成される DNA 付加体の変化は対照的に、前述の如く曝露期間の延長に伴い減少した。この結果は、ラットにおける粒子過剰負荷による肺発がん機構について示唆するものと言及している。

Driscoll ら (1996)は、F344 雄ラットに CB (1.1、7.1、52.8mg/m³) に 13 週間 (6 時間/日、5 日/週) 曝露し、直後および終了後 12 週目と 32 週目に II 型肺胞上皮の hprt 変異を測定したところ、変異頻度は 2 つの高曝露群で有意に増加したが、7.1mg/m³ 群では変異体頻度は 12 週で対照レベルまで戻り、52.8 mg/m³ 群では 32 週後でも対照群より高かった。Driscoll ら (1997)は、さらに CB、石英、および TiO₂ の気管内注入後のラット肺胞上皮にも hprt 変異の誘導を認めた。気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の好中球の有意な増加に示されるように、3 種の粒子すべては炎症反応を誘発し、BALF 中の好中球は活性酸素種の発生源である。活性酸素種から生じる DNA 損傷は二次的な遺伝毒性であり、この影響は高用量においてのみ認められる。曝露ラットからの BALF をラット肺上皮細胞株とともに培養しても、結果として hprt 変異が増加した。この反応は培養混合液中にカタラーゼが含まれると抑制され、細胞由来の酸化的傷害の証拠を示した。CB による酸化的損傷は用量反応関係に閾値が存在することを示唆すると考察している。

Finch ら (2002)は、大豆油を燃料としたバイオディーゼル排気をラット (CDF(F344)/CrIBR) に低濃度 (0.04±0.03 mg/m³)、中濃度 (0.2±0.1 mg/m³) および高濃度 (0.5±0.1 mg/m³) で曝露 (6 時間/日、5 日/週、14 週間) し、骨髄小核および末梢リンパ球 SCE を観察したが有意な変化を認めなかった。

Soares ら (2003)は、マウス (BALB/C、雄、8~10 週齢) を交通量の多い地域 (サンパウロ) と少ない地域 (Atibaia) で、それぞれ終日、最長 120 日間の吸入曝露を行い、血液を用いた小核発生頻度の観察を行った。その結果、サンパウロで曝露されたマウスの小核頻度は Atibaia よりも高い傾向があり、採血前週平均の粒子濃度、CO 濃度および NO₂ 濃度と小核頻度に有意な相関関係を見いだしている。以上の結果から都市レベルの大気汚染は体細胞の遺伝子変異を誘導する原因となるとした。

Somers ら (2004)らは、カナダ、オンタリオ州の製鋼所と高速道路に近い場所 (Hamilton Harbour) と 30km 離れた郊外の 2 カ所でマウス (系統不明) への 9 週間の吸入曝露 (全浮遊微小粒子濃度 16.2~115.3 μg/m³) を実施し、交配させた仔について ESTR loci (Expanded Simple Tandem Repeat loci) の変異を検出した。また、それぞれの箇所で HEPA フィルター

(High-Efficiency Particulate-Air filter) による除じん曝露、雄マウスのみ曝露して交配した仔での同様の観察も行った結果、都市工業地域での粒子状成分曝露が遺伝的な変異と強く関連し、母系よりも父系の影響であることが示された。

5.2.2. 都市大気微小粒子は発がん性を有する

5.2.2.1. 吸入曝露

Karagianes ら (1981)は、Wistar ラット(雄)を用いて、DE と炭粉曝露の生体影響を調べた。曝露条件は、6時間/日、5日/週で最長20ヵ月間行い、曝露群としてはDE曝露のみは $8.3\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度で、炭粉のみの曝露は低濃度が $6.6\text{mg}/\text{m}^3$ 、高濃度が $14.9\text{mg}/\text{m}^3$ で行い、混合曝露ではDE曝露は $8.3\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度、炭粉曝露は $5.8\text{mg}/\text{m}^3$ で行った。粒径は、DEでは $0.71\mu\text{m}$ MMAD、炭粉では $2.1\mu\text{m}$ MMADであった。その結果、4、8、16ヵ月曝露ラットのヘマトクリット値、赤血球、白血球数に清浄空気曝露の対照群と比べ差はみられなかった。また、COヘモグロビンレベルは4ヵ月DE曝露で3.7%、20ヵ月曝露で5%増加がみられ、混合曝露群の4ヵ月曝露で4.1%、20ヵ月曝露で5.6%の増加がみられた。生存した6例中1例に肺腫瘍(腺腫)を認めたが、DEの影響とは結論づけられない例数であった。

Orthofer ら (1981)は、マウス(A系)に粒子濃度 $6.4\text{mg}/\text{m}^3$ 、20時間/日、7日/週、7週間吸入曝露し肺腫瘍発生を観察した。肺腺腫発生率は、対照群に比べて曝露群で高くなかった。ウレタンを投与して肺腫瘍発生を促進したマウスでは、曝露群の肺腺腫発生率が高くなったものの、DE曝露の影響は対照群に比較して極めて小さい(Kaplan ら (1982)、Pepelko と Peirano (1983))。

Heinrich ら (1982)は、ハムスター(Syrian、雌、8週齢)にDEまたは除粒子排気を吸入させ、毒性と発がん性を検討した(粒子濃度 $3.9\text{mg}/\text{m}^3$ 、8時間/日、5日/週、2年間)。ジベンゾ(a,h)アントラセン(DbahA; Dibenzo(a,h)anthracene)経気道肺内投与あるいはジエチルニトロサミン(DEN; DiEthylNitrosamine)皮下投与の併用により観察した結果、肺組織の増殖性変化や腫瘍発生率は全排気群が除粒子排気群より高くなったと報告した。

Heinrich ら (1985)、Heinrich ら (1986a)は、マウス(NMRI)にDbahAを皮下投与後、排気を曝露し(粒子濃度 $4.0\text{mg}/\text{m}^3$ 、19時間/日、5日/週、30ヵ月)、肺腫瘍発生率に差はないが、個体あたりの肺腺腫数は曝露群で有意に高かったとした。また、マウス(NMRI)に同様の曝露のみで観察した結果、対照群に比べ高い肺腺腫、腺がん発生を認めたものの、除粒子群でも高く、全排気群との差はなかった。

Brightwell ら (1986)、ラット、ハムスターに16時間/日、5日/週で2年間のDE曝露を行い、肺腫瘍発生には量反応関係がみられ、除粒子排気で有意な増加はなく、雄の高濃度で71例中16例(23%)、中濃度72例中3例(4%)、低濃度72例中1例(1%)、雌の高濃度で72例中39例(54%)、中濃度で72例中11例(15%)、低濃度で72例中0(0%)、対照群の雄では140例中3例、雌では142例中1例の肺腫瘍を観察した。除粒子排気曝露では、肺腫瘍の増加はなかった。ハムスターにDENを皮下投与後に曝露を行い、気管に乳頭腫の発生を認めたが曝露群と対照群

に有意差はなかった。以上の結果から、量反応関係があり、ろ過排ガスで腫瘍がみられないことから、ディーゼル排ガスによる腫瘍発生は疑いなく、粒子の沈着に伴うものであるとしていた。

Stöber (1986)は、DE または除粒子排気をハムスター、マウス、ラットに長期間曝露 (19 時間/日、5 日/週、140 週) し、腫瘍の発生を観察した。全排気群、除粒子群は対照群に比べて腺がんを発生した動物の割合が高く、除粒子排気群と対照群には過形成、化生、腺腫、扁平上皮腫瘍の発生が認めなかったが、全排気群には観察された。

Mauderly ら (1986)は、ラット (F344) に DE を 0.35、3.5、7.1 mg/m³ の粒子濃度で 1 日 7 時間、週 5 日、30 ヶ月曝露し、肺腫瘍発生率は、それぞれ 1.3、3.6、12.8% で明確な量反応関係を観察した。ラットにおいて明らかな量反応関係が認められ、ディーゼル排気の人に対する発がん性は無視できないとした。

Ishinishi ら (1986)は、ラット (F344) に重量級または軽量級 DE を 30 ヶ月吸入させた。肺腫瘍は、腺がん、扁平上皮がん、腺扁平上皮がんで、軽量級では濃度に関わらず発生し、重量級では濃度に依存して発生し、3.7 mg/m³ でのみ対照に対し有意な差であった。ガス成分による気管や気管支上皮の繊毛の短縮や欠損がみられ、濃度や期間に伴い増加した。0.4 mg/m³ 以下では肺胞の変化はなく、それ以上でもわずかである。

Takemoto ら (1986)は、DE をラット (F344)、マウス (ICR および C57Bl) に長期間曝露し (粒子濃度 0、2~4 mg/m³、4 時間/日、4 日/週、18~28 ヶ月または 19~28 ヶ月)、肺腫瘍発生を観察した。ラットでは、DE 単独群に肺腫瘍の発生が観察されなかったが、ジイソプロパノールニトロサミン (DIPN; DiIsoProanolNitrosamine) の投与と排気曝露を併用した群で、DIPN 単独群と比べ高い肺腫瘍発生率を観察した。また、出生 24 時間以内からのマウス (C57Bl および B6C3F1) 新生仔期から曝露を開始し、28 ヶ月までの継続曝露および 9 ヶ月までの曝露から清浄空気で 30 ヶ月まで飼育し、対照群に比べ肺腫瘍発生率が高くなることを観察した。

Takaki ら (1989)は、ラット (F344) に軽量級 DE を 0.1、0.4、1.1、2.3 mg/m³ の粒子濃度で 16 時間/日、5 日/週、30 ヶ月の曝露を行い、肺腫瘍を観察した。曝露群の肺に腺腫、腺がん、腺扁平上皮がん、扁平上皮がんの発生を認めたが、対照群との明らかな差はなく、量反応関係もみられなかった。しかし、肺の過形成は曝露濃度に依存して病変の存在が高くなった。

Heinrich ら (1989)は、ハムスターへの DE (3.75 mg/m³)、除粒子曝露、NO₂+SO₂ の曝露、ジエチルニトロサミン (DEN、3 または 6 mg/kg bw) との併用群を設定し、19 時間/日、5 日/週、6 週間、10.5 週間、18 週間の曝露をおこなった。DEN 高用量、排気曝露群で上部気道腫瘍の増加を認めたものの、他の群では排気曝露の影響はみられなかった。この実験結果および他の研究結果から、ディーゼルは発がん補助物質 (cocarcinogen) あるいは、この実験系での増強因子であると不十分ながら結論付けたいとしていた。

Brightwell ら (1989)は、ラット、ハムスターに粒子濃度 0、0.7、2.2、6.6 mg/m³、16 時間/日、5 日/週で 2 年間 DE を曝露し、肺腫瘍発生を観察した。ラットでは腫瘍発生率に量反応関係