

- Heinrich, U., Pott, F. & Rittinghausen, S. (1986b). Comparison of chronic inhalation effects in rodents after long-term exposure to either coal oven flue gas mixed with pyrolyzed pitch or diesel engine exhaust. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 441-457.
- Heinrich, U., R. Fuhst, Rittinghausen, S., Creutzenberg, O., Bellmann, B., Koch, W. & Levsen, K. (1995). Chronic inhalation exposure of Wistar rats and two different strains of mice to diesel engine exhaust, carbon black, and titanium dioxide. *Inhalation Toxicology*, 7, 533-556.
- Heussen, G.A.H., Bouman, H.G.M., Roggeband, R., Baan, R.A., Alink, G.M. & : (1994). ³²P-postlabelling analysis of DNA adducts in white blood cells of humans exposed to residential wood combustion particulate matter. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 23, 121-127.
- Hornberg, C., Maciuleviciute, L. & Seemayer, N.H. (1996). Sister chromatid exchanges in rodent tracheal epithelium exposed in vitro to environmental pollutants. *Toxicology Letters*, 88, 45-53.
- Hornberg, C., Maciuleviciute, L., Seemayer, N.H. & Kainka, E. (1998). Induction of sister chromatid exchanges (SCE) in human tracheal epithelial cells by the fractions PM-10 and PM-2.5 of airborne particulates. *Toxicology Letters*, 96-97, 215-220.
- Houk, V.S., Early, G. & Claxton, L.D. (1991). Use of the spiral Salmonella assay to detect the mutagenicity of complex environmental mixtures. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 17, 112-121.
- Ichinose, T., Yajima, Y., Nagashima, M., Takenoshita, S., Nagamachi, Y. & Sagai, M. (1997a). Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxy-deoxyguanosine in mice by diesel exhaust particles. *Carcinogenesis*, 18, 185-192.
- Ichinose, T., Yamanushi, T., Seto, H. & Sagai, M. (1997b). Oxygen radicals in lung carcinogenesis accompanying phagocytosis of diesel exhaust particles. *International Journal of Oncology*, 11, 571-575.
- Ishinishi, N., Kuwabara, N., Nagase, S., Suzuki, T., Ishiwata, S. & Kohno, T. (1986). Long-term inhalation studies on effects of exhaust from heavy and light duty diesel engines on F344 rats. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 329-348.
- Iwado, H., Koyano, M., Goto, S., Kira, S. & Hayatsu, H. (1994). Ubiquitous presence of mutagenic and antimutagenic components in air-borne particulates of two Japanese cities. *Mutation Research*, 322, 329-339.
- Iwai, K., Adachi, S., Takahashi, M., Moller, L., Udagawa, T., Mizuno, S. & Sugawara, I. (2000). Early oxidative DNA damages and late development of lung cancer in diesel exhaust-exposed rats. *Environmental Research*, 84, 255-264.
- Iwai, K., Higuchi, K., Udagawa, T., Ohtomo, K. & Kawabata, Y. (1997). Lung tumor induced by long-term inhalation or intratracheal instillation of diesel exhaust particles. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 49, 393-401.
- Kaplan, H.L., MacKenzie, W.F., Springer, K.J., Schreck, R.M. & Vostal, J.J. (1982). A subchronic study of the effects of exposure of three species of rodents to diesel exhaust. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 10, 161-182.
- Karagianes, M.T., Palmer, R.F. & Busch, R.H. (1981). Effects of inhaled diesel emissions and coal dust in rats. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 42, 382-391.
- Kawabata, Y., Iwai, K., Udagawa, T., Tukagoshi, K. & Higuchi, K. (1986). Effects of diesel soot on unscheduled DNA synthesis of tracheal epithelium and lung tumor formation. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 213-222.
- Kawabata, Y., Udagawa, T., Higuchi, K. & et al. (1994). Early one year exposure to diesel engine exhaust causes lung tumors. In *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract*, Mohr, U., Dungworth, D.L., Mauderly, J.L. & Oberdorster, G. (eds). International Life Sciences Institute Press: Washington, DC.
- Keane, M.J., Xing, S.G., Harrison, J.C., Ong, T. & Wallace, W.E. (1991). Genotoxicity of diesel-exhaust particles dispersed in simulated pulmonary surfactant. *Mutation Research*, 260, 233-238.
- Kim Oanh, N.T., Nghiem le, H. & Phyu, Y.L. (2002). Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons, toxicity, and mutagenicity from domestic cooking using sawdust briquettes, wood, and kerosene. *Environ Sci Technol*, 36, 833-839.
- 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.
- Kunitake, E., Shimamura, K., Katayama, H., Takemoto, K., Yamamoto, A., Hisanaga, A., Ohyama, S. & Ishinishi, N. (1986). Studies concerning carcinogenesis of diesel particulate extracts following intratracheal instillation, subcutaneous injection, or skin application. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 235-252.
- Löfroth, G. (1981). Comparison of the mutagenic activity in carbon particulate matter and in diesel and gasoline engine exhaust. In *Short-term bioassays in the analysis of complex environmental mixtures II: proceedings of the second symposium on the application of short-term bioassays in the fractionation and analysis of complex environmental mixtures*, Waters, M.D., Sandhu, S.S., Huisingh, J.L., Claxton, L. & Nesnow, S. (eds) pp. 319-336: Williamsburg, VA. New York, NY: Plenum Press (Hollaender, A.; Welch, B. L.; Probststein, R. F., eds. *Environmental science research series: v. 22*).
- Löfroth, G., Lazaridis, G. & Rudling, L. (1986). Mutagenicity assay of emission extracts from wood stoves: comparison with other emission parameters. *Science of the Total Environment*, 58, 199-208.
- Lewtas, J. (1983). Evaluation of the mutagenicity and carcinogenicity of motor vehicle emissions in short-term bioassays. *Environmental Health Perspectives*, 47, 141-152.
- Li, A.P., Royer, R.E., Brooks, A.L. & McClellan, R.O. (1982). Cytotoxicity of diesel exhaust particle extract--a comparison among five diesel passenger cars of different manufactures. *Toxicology*, 24, 1-8.
- Mauderly, J.L., Banas, D.A., Griffith, W.C., Hahn, F.F., Henderson, R.F. & McClellan, R.O. (1996). Diesel exhaust is not a pulmonary carcinogen in CD-1 mice exposed under conditions carcinogenic to F344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30, 233-242.
- Mauderly, J.L., Jones, R.K., Griffith, W.C., Henderson, R.F. & McClellan, R.O. (1987). Diesel exhaust is a pulmonary carcinogen in rats exposed chronically by inhalation. *Fundamental and Applied Toxicology*, 9, 208-221.
- Mauderly, J.L., Jones, R.K., McClellan, R.O., Henderson, R.F. & Griffith, W.C. (1986). Carcinogenicity of diesel exhaust inhaled chronically by rats. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 397-409.
- Mitchell, A.D., Evans, E.L., Jotz, M.M., Riccio, E.S., Mortelmans, K.E. & Simmon, V.F. (1981). Mutagenic and carcinogenic potency of extracts of diesel and related environmental emissions: In vitro mutagenesis and DNA damage. *Environment International*, 5, 393-401.
- Mohr, U. & Riebe-Imre, M. (1992). Tests on the in vitro transformation of epithelial cells of the respiratory tract by automotive exhaust gases. In *Effects of diesel engine exhausts on health* pp. 31-38. GSF Research Centre for Environment and Health Inc.: Munich.
- Nesnow, S., Triplett, L.L. & Slaga, T.J. (1983). Mouse skin tumor initiation-promotion and complete carcinogenesis bioassays: mechanisms and biological activities of emission samples. *Environmental Health Perspectives*, 47, 255-268.
- 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.
- Ohsawa, M., OCHI, T., HAYASHI, H. (1983). Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* mutants of serum extracts from airborne particulates. *Mutation Research*, 116, 83-90.
- Ohshima, 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.
- Orthoefer, J.G., Moore, W., Kraemer, D., Truman, F., Crocker, W. & Yang, Y.Y. (1981). Carcinogenicity of diesel exhaust as tested in strain a mice. *Environment International*, 5, 461-471.
- 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.
- Pohjola, S.K., Lappi, M., Honkanen, M. & Savela, K. (2003). Comparison of mutagenicity and calf thymus DNA adducts formed by the particulate and semivolatile fractions of vehicle exhausts. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 42, 26-36.
- 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.
- Putnam, K.P., Bombick, D.W., Avalos, J.T. & Doolittle, D.J. (1999). Comparison of the cytotoxic and mutagenic potential of liquid smoke food flavourings, cigarette smoke condensate and wood smoke condensate. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 1113-1118.
- Rannug, U., Sundvall, A., Westerholm, R., Alsberg, T. & Stenberg, U. (1983). Some aspects of mutagenicity testing of the particulate phase and the gas phase of diluted and undiluted automobile exhaust. In *Short-term bioassays in the analysis of complex environmental mixtures III* Waters, M.D., Sandhu, S.S., Lewtas, J., Claxton, L., Chernoff, N. & Newnow, S. (eds). New York, NY: Plenum Press: (Environmental science research: v. 27).
- Rasmussen, R.E. (1990). Effect of fuel properties on mutagenic activity in extracts of heavy-duty diesel exhaust particulate. *J Air Waste Manage Assoc*, 40, 1391-1396.
- Salmeen, I.T., Pero, A.M., Zator, R., Schuetzle, D. & Riley, T.L. (1984). Ames assay chromatograms and the identification of mutagens in diesel particle extracts. *Environ Sci Technol*, 18, 375 - 382.
- Sato, H., Sone, H., Sagai, M., Suzuki, K.T. & Aoki, Y. (2000). Increase in mutation frequency in lung of Big Blue rat by exposure to diesel exhaust. *Carcinogenesis*, 21, 653-661.
- Schiffmann, D. & Henschler, D. (1992). Studies of diesel engine exhaust fractions on the genotoxic and celltransforming properties with the model of Syrian hamster embryo fibroblasts and with lung cells. In *Effects of diesel engine exhausts on health* pp. 39-42. GSF Research Centre for Environment and Health Inc.: Munich.
- Seagrave, J., McDonald, J.D., Gigliotti, A.P., Nikula, K.J., Seilkop, S.K., Gurevich, M. & Mauderly, J.L. (2002). Mutagenicity and in vivo toxicity of combined particulate and semivolatile organic fractions of gasoline and diesel engine emissions. *Toxicological Sciences*, 70, 212-226.
- Seemayer, N.H. & Hornberg, C. (1998). Malignant transformation of Syrian hamster kidney cells in vitro by interaction of airborne particulates and simian virus (SV-) 40. *Toxicology Letters*, 96-97, 231-238.
- Shefner, A.M., Collins, B.R., Dooley, L., Fiks, A., Graf, J.L. & Preache, M.M. (1982). Respiratory carcinogenicity of diesel fuel emissions. Interim results. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 10, 329-350.
- Soares, S.R., Bueno-Guimaraes, H.M., Ferreira, C.M., Rivero, D.H., De Castro, I., Garcia, M.L. & Saldiva, P.H. (2003). Urban air pollution induces micronuclei in peripheral erythrocytes of mice in vivo. *Environmental Research*, 92, 191-196.
- Somers, C.M., McCarry, B.E., Malek, F. & Quinn, J.S. (2004). Reduction of particulate air pollution lowers the risk of heritable mutations in mice. *Science*, 304, 1008-1010.
- Stöber, W. (1986). Experimental induction of tumors in hamsters, mice and rats after long-term inhalation of filtered and unfiltered diesel engine exhaust. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 421-439.
- Strandell, M., Zakrisson, S., Alsberg, T., Westerholm, R., Winquist, L. & Rannug, U. (1994). Chemical analysis and biological testing of a polar fraction of ambient air, diesel engine, and gasoline engine particulate extracts. *Environmental Health Perspectives*, 102 Suppl 4, 85-92.
- Takaki, Y., Kitamura, S., Kuwabara, N. & Fukuda, Y. (1989). Long-term inhalation studies of exhaust from the diesel engine in F-344 rats: the quantitative relationship between pulmonary hyperplasia and anthracosis. *Experimental Pathology*, 37, 56-61.
- Takemoto, K., Yoshimura, H. & Katayama, H. (1986). Effects of chronic inhalation exposure to diesel exhaust on the development of lung tumors in di-isopropanol-nitrosamine-treated F344 rats and newborn C57BL and ICR mice. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 311-327.
- Tokiwa, H., Kitamori, S., Nakagawa, R., Horikawa, K. & Matamala, L. (1983). Demonstration of a powerful mutagenic dinitropyrene in airborne particulate matter. *Mutation Research*, 121, 107-116.
- Tsurudome, Y., Hirano, T., Yamato, H., Tanaka, I., Sagai, M., Hirano, H., Nagata, N., Itoh, H. & Kasai, H. (1999). Changes in levels of 8-hydroxyguanine in DNA, its repair and OGG1 mRNA in rat lungs after intratracheal administration of diesel exhaust particles. *Carcinogenesis*, 20, 1573-1576.
- Tucker, J.D., Xu, J., Stewart, J., Baci, P.C. & Ong, T.M. (1986). Detection of sister chromatid

- exchanges induced by volatile genotoxicants. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 6, 15-21.
- U.S.EPA. Health Assessment Document for Diesel Engine Exhaust. EPA Report no. EPA/600/8-90/057F.
- U.S.EPA. Air quality criteria for particulate matter. EPA report no. EPA/600/P-99/002aF.
- Valberg, P.A. & Crouch, E.A. (1999). Meta-analysis of rat lung tumors from lifetime inhalation of diesel exhaust. *Environmental Health Perspectives*, 107, 693-699.
- Vinitketkumnuen, U., Kalayanamitra, K., Chewonarin, T. & Kamens, R. (2002). Particulate matter, PM10 & PM2.5 levels, and airborne mutagenicity in Chiang Mai, Thailand. *Mutation Research*, 519.
- Wallace, W.E., Keane, M.J., Hill, C.A., Xu, J. & Ong, T.M. (1987). Mutagenicity of diesel exhaust particles and oil shale particles dispersed in lecithin surfactant. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 21, 163-171.
- Wallace, W.E., Keane, M.J., Xing, S., Harrison, J., Gautam, M. & Ong, T. (1990). Mutagenicity of diesel exhaust soot dispersed in phospholipid surfactants. In *Environmental Hygiene II*, Seemayer, N.H. & Hadnagy, W. (eds) pp. 7-10. Springer Verlag, Berlin.
- Wong, D., Mitchell, C.E., Wolff, R.K., Mauderly, J.L. & Jeffrey, A.M. (1986). Identification of DNA damage as a result of exposure of rats to diesel engine exhaust. *Carcinogenesis*, 7, 1595-1597.
- Yu, C.P. & Yoon, K.J. (1991). Retention modeling of diesel exhaust particles in rats and humans. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-24.
- Zhao, X., WAN, Z., CHEN, G., ZHU, H., JIANG, S., YAO, J. (2002). Genotoxic activity of extractable organic matter from urban airborne particles in Shanghai, China. *Mutation Research*, 514, 177-192.
- ディーゼル排気微粒子リスク評価検討会. ディーゼル排気微粒子リスク評価検討会 平成 13 年度報告.
- 河端美則. (1988). 肺内での粒子沈着と関連する病変(気管支娘枝をめぐって)(第 11 回日本気管支学会総会特集). *気管支学*, 10, 502-506
- 河端美則, 岩井和郎, 宇田川忠, 樋口一恵, 山田博之, 高橋忠治 & 橋本尚子. (1993). ディーゼル排出ガス中の粒子成分の肺注入による肺障害性と肺発癌, 注入粒子量・反応関係について. *大気汚染学会誌*, 28, 11-19.
- 岩井和郎. 低硫黄軽油使用時のディーゼル排出ガスの慢性健康影響調査
- 岩井和郎, 宇田川忠 & 塚越謙吉. (1991). 気管支粒子注入実験(pilot study). In 昭和 59 年度環境庁委託業務結果報告書—ディーゼル排出ガス影響調査— pp. 22-24.
- 後藤純雄, 加藤幸彦, 折井章子, 田中一幸, 久松由東 & 松下秀鶴. (1982). 大気浮遊粉じんの変異原性の終日変動. *大気汚染学会誌*, 17, 295-303.
- 高木敦彦, 羽田野昭, 光崎研一, 後藤純雄 & 松下秀鶴. (1994). 空気浮遊粒子中の変異原物質への曝露要因に関する研究 個人曝露レベルと屋外空気汚染レベルとの比較. *大気汚染学会誌*, 29, 16-23.
- 大谷仁己, 嶋田好孝, 氏家淳雄, 西村哲治 & 松下秀鶴. (1985). 大気浮遊粉じんの変異原性 前橋市と東京都港区との比較. *大気汚染学会誌*, 20, 463-469.

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チ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 2.5mg を 0.3mL 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 0.3mL 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と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。血中の好中球と肺胞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られた。多変量解析では、ST 上昇と Si 濃度との間のみ相関を認められた。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 O₃ の急性曝露影響について検討した。用いられた粒径は 0.15~2.5 μm (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 O₃ 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 ヶ月間曝露し、実験開始から 18 ヶ月後に肺病変を組織学的小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 ともに 2.5、6.5 mg/m^3 であり、16 時間/日、5 日/週の条件で 24 ヶ月間曝露した。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的な増加はなく、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、肺胞マクロファージ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。

Campan 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