

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($2.5\text{mg}/\text{個体}$)、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 0.3ml 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。

6.3.1. 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総浮遊粒子(TSP)抽出物投与により、BALF 中のタンパク質や LDH (Lactic DeHydrogenase) 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(EC)、有機炭素(OC)、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、EC、OC、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、EC、OC 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(N-Acetyl Glucosamide)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 BALF のマクロファージの増加は V や Ni と関連していた。BALF 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 濃度との間のみに相関を認めた (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、NO_x や SO_x 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 は慢性気管支炎ラット、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、EC、OC、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。

6.3.2. 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(Carbon Black Particle)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、有機溶媒洗浄CB、TiO₂粒子投与による肺腫瘍発生率の比較(Heinrichら(1994))、DEとCBの吸入曝露による肺腫瘍発生率の比較(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、多環芳香族炭化水素(PAH、Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)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。

6.3.3. 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))。マウスに鼻部曝露した乾燥下水汚泥の燃焼由来粒子(MSS)は、石炭燃焼由来粒子(coal ash)より肺の透過性を亢進した。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。

6.3.4. 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 の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曝露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、一般の大気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。

6.3.5. 酸性エアロゾル

Saldiva ら (2002)は慢性気管支炎ラットへの CAPs 吸入曝露試験で、CAPs 中 SO_4^{2-} と BALF 中のタンパク質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年の米国 EPA、PMAQCD (Particulate Matter Air Quality Criteria Document)にて要約された研究では、酸性エアロゾルは健康なヒト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。

6.3.6. 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す (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。

6.3.7. 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 EC 濃度、 NH_4^+ 濃度、 NO_3^- 濃度、OC 濃度、 SO_4^{2-} 濃度、CAPs 濃度と心拍数、血圧、深部体温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。

6.3.8. まとめ

微小粒子状物質の成分である EC、OC、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

- 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.
- Campen, M.J., Nolan, J.P., Schlädweiler, 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.
- Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. 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
- Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. 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.
- Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.
- U.S.EPA. Air quality criteria for particulate matter. EPA report no. EPA/600/P-99/002aF.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 環境省. (2007). (6) CAPs 曝露が老齢ラットの心機能に与える影響に関する研究. 微小粒子状物質曝露影響調査報告書.

7. 粒径と健康影響の関係

7.1. 仮説の紹介

不溶性の微小な粒子の場合、粒子の重量が同じとすると粗大粒子に比し表面積や個数が（それぞれ粒径比および粒径比の二乗に逆比例することから）極めて大きくなる。粒子の表面の性状が毒性と関連する場合、表面積が大きくなると毒性が強くなる可能性がある。

粒子状物質について、粒径の大きさによって健康影響が異なる可能性があることから、毒性学の観点からも検証を行うため、平均粒径が異なり、曝露あるいは投与した粒子の重量濃度あるいは重量や化学的な組成が同一な粒子を用いた条件のもと細胞への曝露や気管内投与あるいは吸入曝露した実験の結果を以て、仮説「粒径（表面積の大きさ等）により健康影響（細胞損傷・炎症の強さ）に違いがある。」の検証を行うこととする。

7.2. 論文の紹介

一つの研究の中で、平均粒径の異なる各種粒子を曝露した研究については、数が少ないものの、カーボンブラック(CB)、TiO₂、テフロン、ポリスチレン、Al₂O₃、Ga₂O₃、Ni 含有粒子などを用いた研究がある。

Koike と Kobayashi (2006)は、14、56 および 95nm の CB 粒子の酸化能を還元剤であるジチオスレイトールの消費でみると粒径の小さいものが同一重量の場合大きいこと、粒子の表面積と消費量がよく相関すること、ラット肺胞上皮細胞 (SV40T2) と肺胞マクロファージに曝露したときの酸化ストレスをヘムオキシゲナーゼ-1(HO-1)の誘導で観察すると同一重量の場合粒径の小さいものの方が HO-1 を誘導することを見出した。

Monteiller ち (2007)は、難溶解性低毒性粒子(LSLTP)の表面積が、炎症反応を引き起こす作用の指標となるか検討するため、ヒト肺胞上皮の細胞系 A549 を用いた *in vitro* 試験を実施した。細胞を LSLTP として TiO₂ と CB の微小粒子と超微小粒子に曝露するとともに、反応性の高い表面構造を有する DQ12 石英粒子に曝露し、前炎症作用のマーカである IL-8mRNA、IL-8 タンパク質の放出量と、酸化ストレスの指標としてグルタチオン(GSH、glutathione)を測定した。その結果、重量用量としては同用量の TiO₂ 微小粒子や CB 微小粒子と比較して、TiO₂ 超微小粒子と CB 超微小粒子はより強い前炎症反応を起こした。また、GSH 分析の結果は、表面積として同用量の微細金属粒子(Co、Ni)と TiO₂ 超微小粒子は、同等の酸化ストレスを細胞に及ぼすことが示された。反応性の高い表面構造を持つ DQ12 石英は、他の粒子状物質と比較してより炎症を起こしやすかった。これらの *in vitro* 試験で観測された用量反応関係は用量が標準化されていれば、*in vivo* 試験で示された用量反応関係と類似しているように見えた。*in vitro*、*in vivo* の両方のデータセットによると、細胞表面積に対する粒子状物質の表面積として用量を表現したとき、約 1~10cm²/cm² に閾値が存在していることが示唆された。*in vitro*、*in vivo* とともに、LSLTP の用量を重量で表