

現するよりも表面積によって表現する方が、より適切であることが示された。

Oberdörster ら (2000)は、20 および 250nm の  $\text{TiO}_2$  粒子をラットに気管内投与し、24 時間後の肺胞洗浄液中の好中球の数を指標に炎症惹起作用を検討した。同一重量の場合、粒径の小さい 20nm の  $\text{TiO}_2$  粒子のほうが 250nm の  $\text{TiO}_2$  粒子よりも炎症惹起作用が強いこと、粒子の表面積に依存し炎症惹起作用が強くなることを見出された。

Tran ら (2000)は、Wistarラットに対して、 $\text{TiO}_2$  と  $\text{BaSO}_4$  のエアロゾルを吸入曝露した。 $\text{TiO}_2$  と  $\text{BaSO}_4$  粒子の粒径は、MMAD として  $2.1\mu\text{m}$  と  $4.3\mu\text{m}$  であった。曝露濃度は、 $\text{TiO}_2$  : 25、50 $\text{mg}/\text{m}^3$ 、 $\text{BaSO}_4$  : 37.5、75 $\text{mg}/\text{m}^3$  であり、曝露期間は、約 100~200 日であった。肺への負荷量は、粒子の重量、個数、表面積で表現した。

結果は肺負荷を粒子の総表面積として表現したとき、2 種類の粒子に起因する炎症反応 (BAL 中の好中球数や肺胞マクロファージ数) やリンパ節への移動の差異について、最もよく説明することが可能であることを示した。総表面積と炎症やリンパ節への移動との関連性をみると、肺負荷として表面積で約 200~300 $\text{cm}^2$  に閾値があることが示唆されている。

Brown ら (2001)は、64、202 および 535nm のポリスチレン粒子をラットに気管内投与し 24 時間後の肺胞洗浄液中の好中球数を指標に炎症惹起作用を検討した。同一重量の場合、粒径の小さいポリスチレン粒子の方が炎症惹起作用が強いこと、粒子の表面積に依存し炎症惹起作用が強くなることを見出された。

これらの報告は、不溶性の粒子で表面の性状がほぼ同じと考えられる場合には、粒子の毒性は表面積に依存すること、同一重量の場合、粒径の小さい粒子の方が表面積が大きくなり毒性が強くなることを示唆している。

Oberdörster と Yu (1990)は、粒子表面積と肺腫瘍発生率との関連性をディーゼルおよびその他の粒子の吸入研究の発表論文の評価により検討した。ラットにおける腫瘍誘発は、PAH 含有量に関係なく、粒子重量、粒子容積、粒子数などよりも、肺内に滞留した粒子の表面積に最も高い関連性を示した。この結果より、DE に曝露されたラットの腫瘍反応においては、粒子の表面積 (臨界表面積: Critical surface) およびその特性が決定的な役割を果し、吸着された PAHs の関与は少ないことが示唆されている。DEP は、ラットにおいて特異的な発がん影響を発現せず、むしろ粒子自体の非特異的影響が大きいとされている。

Oberdörster (1996)は、ラットに対する様々な粒子を曝露した慢性吸入曝露試験によって、粒子状物質が、肺クリアランスの障害、慢性肺炎症、肺線維症、および肺腫瘍などを含む重要な健康影響を及ぼすことを示した。曝露された用量の範囲は、数  $\text{mg}$ ~250 $\text{mg}/\text{m}^3$  であった。用量は、多くの場合、重量で表現されるが、これは観測された健康影響との相関関

係を検討するための適切な用量ではない可能性がある。

例えば、肺胞マクロファージによる粒子状物質のクリアランスへの効果は、粒子状物質の体積で示した負荷量と最もよく関連し、粒子状物質による肺の炎症反応は、微小粒子状物質の表面積で示した負荷量と最もよく関連性が示される。粒子状物質の粒子径と表面積は、吸入した粒子状物質への反応において重要であり、ラットに  $\text{TiO}_2$  や CB の超微小粒子を吸入曝露させると、より粒径の大きい粒子と比較すると、重量で示すとかなり低い用量において肺腫瘍が誘導された。しかしながら、異なるタイプの超微粒子の影響を表面積のみで説明することはできず、吸入された粒子の動態なども関連してくる。また、実験系の種差の問題もある。異なったエンドポイントに対する曝露反応関係や用量反応関係は、有害な作用が全く起こらない閾値の存在を示唆している。閾値については、呼吸器官における防御機構などで説明されている。慢性試験と亜慢性試験では、曝露時間の違いによって、用量反応関係や閾値がシフトする可能性があり、このようなシフトが存在することは、粒子状物質の亜慢性吸入曝露試験の結果から閾値を判断する際に困難な面があると述べている。

Kleinman ら (2005) は、OVA 感作したマウスを CAPs に曝露しアレルギー反応への影響を各種指標 (IL-5、IL13、OVA 特異的 IgE、IgG1、好酸球、多核白血球) を用いて検討した。実験は、道路沿道から 50m、150m 離れた地点で集めた CAPs を用いて行われた。曝露濃度は、50m 離れた地点で集めた CAPs は、fine ( $<2.5 \mu\text{m}$ ) で  $498 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ultrafine ( $<0.15 \mu\text{m}$ ) で  $433 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、150m 離れた地点で集めた CAPs は、fine で  $442 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ultrafine で  $283 \mu\text{g}/\text{m}^3$  であった。

曝露群でのアレルギー反応指標の増加および道路からの距離が近いほど強い影響を認め、自動車排気粒子は気道アレルギー反応を引き起こすことを示唆した。道路からの距離が近いほど超微小粒子を多く含むことから、より粒径の小さい粒子の方がアレルギー反応を増悪する作用が強いことが示唆された。

Win-Shwe ら (2005) は、マウスに、14nm と 95nm の 2 種の CB 超微小粒子 (投与濃度  $0 \mu\text{g}/\text{個体}$ 、 $25 \mu\text{g}/\text{個体}$ 、 $125 \mu\text{g}/\text{個体}$ 、 $625 \mu\text{g}/\text{個体}$ ) を 4 回反復気管内投与した際の肺とリンパ節での炎症性サイトカイン・ケモカインと粒子サイズ、粒子濃度との関係について検討した。その結果、以下の 6 つの結論を示した。①免疫関連臓器である胸腺重量、脾臓重量と脾臓細胞数には粒子サイズ、粒子濃度の影響は認められなかった。②最終投与 24 時間後の BALF 中の総細胞数、肺胞マクロファージ数、リンパ球数、好中球数は、14nm では濃度に依存して明らかに増加した。95nm でも同様な増加傾向を認めたが、肺胞マクロファージ数には明らかなる量反応関係を認めなかった。好中球数と粒子面積との間には相関関係が見られた。③最終投与 24 時間後の BALF 中サイトカインは、14nm では IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、CCL-2、CCL-3 が濃度依存性に増加し、95nm でも同様な傾向を認めたが、IL-6、

TNF- $\alpha$ の変動は少なかった。④縦隔リンパ節で粒子を少なくとも3個以上貪食している細胞数は、14nm、95nm両者で濃度に依存して増加し、その程度は95nmに比較して14nmで大きかった。⑤125 $\mu$ g粒子最終投与4時間後の肺組織ケモカインCCL-2とCCL-3mRNA量は14nm、95nmで増加したが、リンパ節では14nmがCCL-2、CCL-3mRNA量の増加を示したのに対し、95nmではCCL-2 mRNAのみ増加傾向を示した。⑥超微小粒子CBの反復投与は、粒子サイズに依存した肺の炎症、縦隔リンパ節への粒子の移動、肺及びリンパ節での各種サイトカイン mRNA 発現の増加を引き起こし、その結果、より微小な粒子ほど縦隔リンパ節への移動を介して免疫調節機構に影響を与えている可能性があることが示唆された。

Liら(1997)は、PM<sub>10</sub>が酸化ストレスを惹起し気道上皮の炎症や損傷をもたらすとの仮説から、ラットにPM<sub>10</sub>(50~125 $\mu$ g)を気管内投与し、6時間後のBALでBALFの検討とBALF白血球を培養してin vitroの検討を行なった。それによると、BALFの総タンパク質、LDHは増加しグルタチオンは低下していた。PM<sub>10</sub>の効果との比較で、CB微粒子(CB: Degussa Huber NG 90、直径200~250 nm)およびCB超微小粒子(ufCB: Degussa printex 19、直径20 nm)についても検討した。それによるとufCBの気管内投与はPM<sub>10</sub>よりも強い炎症所見を示したがCBでは認められなかった。さらに、PM<sub>10</sub>を投与されたラットのBALF白血球は一酸化窒素(NO)およびTNF- $\alpha$ の産生が高まっていた。

著者らはPM<sub>10</sub>浮遊液を超遠心することにより得られる上清は超微小粒子成分のみを含むものと考え、この上清がプラスミドDNAの切断をもたらしたことから、PM<sub>10</sub>のフリーラジカル活性の大半は超微小粒子によるものと報告した。そして、超微小粒子のなかでもTiO<sub>2</sub>がフリーラジカル活性を有するものと推測した。また、in vitroにおいて認められたNOやTNF- $\alpha$ の増加はPM<sub>10</sub>そのものによるとしながらもPM<sub>10</sub>による酸化ストレスによってもたらされた可能性もあると報告している。

Gilmourら(2004)は、CD1マウスにCFA気管内投与18時間後のBALF(各種炎症性指標;好中球の浸潤、生化学的指標、炎症性サイトカイン)を解析した。粒径はultrafine 0.2 $\mu$ m(モンタナ産石炭由来)、fine 2.5 $\mu$ m、coarse >2.5 $\mu$ m(西ケンタッキー産由来)で、投与量は2mg/ml原液から50 $\mu$ lを投与(100 $\mu$ g/50 $\mu$ l)した。毒性はより小さいサイズの粒子の方が大きい(0.2 $\mu$ m以下のultrafine >2.5 $\mu$ m以下のfine >2.5 $\mu$ m以上のcoarse)ことが示された。この結果から、サイズの粒子が小さいほどCFAの毒性は大きく、また、毒性には、イオウ成分と微量元素成分の増加が関連することが示唆されると報告している。

Steerenbergら(2005)は、OVA感作マウスモデルを用い、ヨーロッパ各都市で採集したPMのアレルギー反応におけるアジュバント効果を調べた。5都市で採取したPM(coarse 2.5~10 $\mu$ m、fine <2.5 $\mu$ m)を3mg/ml、9mg/mlで鼻腔内投与し、対照群: NaCl、

OVA、OVA+オタワ標準粉じん(EHC-93)を気管内投与した。投与パターンは、OVA+PMにより感作(0日、14日、9mg/ml、450mg PM/個体)後、35、38、41日にOVAでチャレンジ、42日目に殺処分、観察した。その結果、ウッチ(Lodz、ポーランド)、ローマ、オスロ、アムステルダム順にアジュバント効果が高いことが示された。また、fine PMの方がcoarse PMより増強効果が高いこと、PMを採集した季節ごとに効果が異なること、水溶性および不溶性の成分のいずれも効果を有することが示された。

Steerenbergら(2006)は、ヨーロッパ4都市で採取したPM(coarse 2.35~8.5  $\mu\text{m}$ 、fine 0.12~2.35  $\mu\text{m}$ )をラット(気管内投与 1.0、2.5mg PM;呼吸器の炎症への影響の研究)、マウス(足蹠皮下投与 100、200  $\mu\text{g}$ /個体;アジュバント活性への影響の研究)、マウスOVA感作モデル(点鼻投与 3.0mg;抗体産生、病理組織への影響の研究)、培養細胞(in vitroにおけるサイトカインの放出への影響の研究)に投与あるいは添加し、PMの生体影響を解析した。化学成分などから5のクラスターにわけ、13の影響指標との関係について解析を行った。交通に由来する元素のZn、Pb、Hgやhopaneやsteraneはfine PMに含まれているが、これらは呼吸器のアジュバント活性の指標と相関した。このことより、交通、燃焼やごみ焼却由来のPMはアレルギーと関連があるかもしれないとした。木材燃焼由来の粒子(多くはfine PM;63~74% $<1\mu\text{m}$ ;26~37% $>1\mu\text{m}$ )は呼吸器のアレルギー指標と関連がある可能性が示唆された。Al、Si、K、Ca、Feを含む粒子は多くはcoarse PMであり、これらは肺の刺激や急性毒性との関連がある可能性が示唆された。硫酸塩、アンモニウム塩、硝酸塩、V、Ni、Seを含む粒子は2次生成や長距離輸送などが関連しバックグラウンドの粒子とみなしているが、OVAと粒子の皮下投与によるIgE反応との関連がある可能性が示唆された。NaとClはcoarse PMの海塩粒子と考えられ、CC16と関連がある可能性が示唆された。

以上のことから、PMは多方面の生物学的反応と関連する可能性があることからPMの健康影響には多くの機構が関与している可能性、また、化学的な成分との関連性の解析から燃焼由来のPMは気道のアレルギーと、地殻に含まれる成分を含むPMは炎症や毒性と関連する可能性が示唆されるとしている。

Schinsら(2004)は、工業地帯(都市部)と郊外より採集した粒子(2サイズ coarse 2.5~10  $\mu\text{m}$ 、fine  $<2.5\mu\text{m}$ )をラットの気管内に0.32mg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のサイズのPMが、肺での強い炎症誘導することを示した。このメカニズムに、エンドトキシンおよび他の汚染物質(O<sub>3</sub>、窒素酸化物やイオウ酸化物など)が関与している可能性が示唆された。

Vallyathanら(1995)は、石英粒子を破碎し、破碎直後の粒子と破碎後2ヶ月をへた粒子をラットに吸入曝露(5時間/日、10日間)し、その炎症惹起作用を検討した。破碎直後の粒子の方が破碎後2ヶ月をへた粒子よりもラジカル量として高いこと、炎症惹起作用が強

いことが見出された。

このことは、毒性は単に表面積だけではなく表面の化学的性状が関与することを示唆していることから組成の異なる粒子を比較する場合、留意することが必要と考えられる。

### 7.3. 論文による仮説の検証

細胞に対する毒性については、粒径が小さいものほど毒性が強いことや曝露量によって毒性が増加し、曝露量を表面積で換算するとその毒性が表面積と関連することを示唆する報告がある(KoikeとKobayashi(2006)、Monteillerら(2007))。

また、気管内投与あるいは吸入曝露実験で、肺での炎症惹起作用を観察する研究においても、粒径がより小さい粒子の毒性が強いことや炎症の程度(炎症細胞の浸潤数等)が表面積と関連することを示唆する報告もある(Oberdörsterら(2000)、Tranら(2000)、Brownら(2001))。また、難溶解性で低毒性のTiO<sub>2</sub>やCB粒子曝露における肺腫瘍の発生率においても、重量濃度より表面積濃度のほうがより関連しているとの報告がある(OberdörsterとYu(1990)、Oberdörster(1996))。

現実の大気中の粒子のうち粒径が異なる粒子の毒性に関して、上述の小さい粒子の毒性が強いことを示す知見は多いが(Kleinmanら(2005)、Win-Shweら(2005)、Liら(1997)、Gilmourら(2004)、Steerenbergら(2005))、大きい粒子も毒性を認める知見は存在する(Schinsら(2004)、Steerenbergら(2006))。現実の大気中では粒径が異なると粒子の化学的組成や生物学的組成が異なることが予想される。毒性は単に表面積だけではなく表面の化学的性状が関与することが示唆されていること(Vallyathanら(1995))から現実の大気中の粒子の場合においてはこれらの因子が毒性および影響機構に寄与するものと考えられる。このため、粒子の健康影響については粒径の大きさのみならず粒子の化学的・生物学的組成などの各種因子も考慮に入れて検討を行うことが妥当である。

- Brown, D.M., Wilson, M.R., MacNee, W., Stone, V. & Donaldson, K. (2001). Size-dependent proinflammatory effects of ultrafine polystyrene particles: A role for surface area and oxidative stress in the enhanced activity of ultrafines. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 175, 191-199.
- Gilmour, M.I., O'Connor, S., Dick, C.A., Miller, C.A. & Linak, W.P. (2004). Differential pulmonary inflammation and in vitro cytotoxicity of size-fractionated fly ash particles from pulverized coal combustion. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 54, 286-295.
- 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.
- Koike, E. & Kobayashi, T. (2006). Chemical and biological oxidative effects of carbon black nanoparticles. *Chemosphere*, 65.
- Li, X.Y., Gilmour, P.S., Donaldson, K. & MacNee, W. (1997). In vivo and in vitro proinflammatory effects of particulate air pollution (PM10). *Environmental Health Perspectives*, 105 Suppl 5, 1279-1283.
- Monteiller, C., Tran, L., MacNee, W., Faux, S., Jones, A., Miller, B. & Donaldson, K. (2007). The pro-inflammatory effects of low-toxicity low-solubility particles, nanoparticles and fine particles, on epithelial cells in vitro: the role of surface area. *Occupational and Environmental Medicine*, 64, 609-615.
- Oberdörster, G. (1996). Significance of particle parameters in the evaluation of exposure-dose-response relationships of inhaled particles. *Inhalation Toxicology*, 8 Suppl, 73-89.
- Oberdörster, G., Finkelstein, J.N., Johnston, C., Gelein, R., Cox, C., Baggs, R. & Elder, A.C. (2000). Acute pulmonary effects of ultrafine particles in rats and mice. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-74; disc 75-86.
- Oberdörster, G. & Yu, C.P. (1990). The carcinogenic potential of inhaled diesel exhaust: a particle effect? *Journal of Aerosol Science*, Volume 21, S397-S401.
- 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.
- Steenberg, P.A., van Amelsvoort, L., Lovik, M., Hetland, R.B., Alberg, T., Halatek, T., Bloemen, H.J., Rydzynski, K., Swaen, G., Schwarze, P., Dybing, E. & Cassee, F.R.

- (2006). Relation between sources of particulate air pollution and biological effect parameters in samples from four European cities: an exploratory study. *Inhalation Toxicology*, 18, 333-346.
- Steerenberg, 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.
- Tran, C.L., Buchanan, D., Cullen, R.T., Searl, A., Jones, A.D. & Donaldson, K. (2000). Inhalation of poorly soluble particles. II. Influence of particle surface area on inflammation and clearance. *Inhalation Toxicology*, 12, 1113-1126.
- Vallyathan, V., Castranova, V., Pack, D., Leonard, S., Shumaker, J., Hubbs, A.F., Shoemaker, D.A., Ramsey, D.M., Pretty, J.R., McLaurin, J.L. & et al. (1995). Freshly fractured quartz inhalation leads to enhanced lung injury and inflammation. Potential role of free radicals. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 152, 1003-1009.
- Win-Shwe, T.T., Yamamoto, S., Kakeyama, M., Kobayashi, T. & Fujimaki, H. (2005). Effect of intratracheal instillation of ultrafine carbon black on proinflammatory cytokine and chemokine release and mRNA expression in lung and lymph nodes of mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 209, 51-61.

## 8. まとめ

粒子状物質の影響メカニズムに関する検討に資するため、毒性学の影響メカニズムに関する知見を整理し評価を行った。具体的には、各器官における粒子状物質の影響に関して想定しうる障害の仮説を列挙し、その仮説を検証するため、粒子状物質の健康影響に関する文献調査によりレビューされた動物実験及びヒトボランティア実験の文献等から、研究内容や研究対象物質が適切である等優れた科学的知見を列挙し、吸入曝露、気管内投与による実験の種類や対象粒子の種類[一般大気、ROFA (Residual Oil Fly Ash)、DEP (Diesel Exhaust Particles) 等]毎に整理をしたうえで、これらの知見により障害の仮説の確からしさの程度に関する評価を行った。以下に各器官における評価のまとめを記述する。

### 8.1. 呼吸器への影響

呼吸器への影響について検証する仮説として、1) 肺障害および炎症を誘導する；2) 気道反応性の亢進および喘息の悪化がみられる；3) 呼吸器感染に対する感受性が亢進する；4) 疾患モデル動物では影響に差異が生じる；5) 複合大気汚染により影響が増悪する を挙げた。

以上の仮説の確からしさに対する現状での評価は、以下のようにまとめられるものと考えられる。1) 肺障害および炎症を誘導する仮説に関して、粒子状物質の曝露はヒトの気道や肺に炎症反応を誘導する。動物実験においてはより高濃度の粒子状物質の曝露により肺障害が生じることが認められている。2) 気道反応性の亢進および喘息の悪化がみられる仮説に関して、動物実験においては、さまざまな種類の粒子状物質が気道の抗原反応性を亢進する粘膜アジュバントとして働き、喘息やアレルギー性鼻炎を悪化させる作用のあることが認められている。ヒトにおける研究成績は限定的ではあるが、DE (Diesel Exhaust) や DEP については気道反応性を亢進および喘息、鼻アレルギー症状を悪化させる可能性がある。3) 呼吸器感染に対する感受性が亢進する仮説に関して、ヒトにおいては証明されていないが、動物実験においては粒子状物質曝露による呼吸器感染の感受性の亢進が認められている。4) 疾患モデル動物では影響に差異が生じる仮説に関して、疾患感受性動物によっては粒子状物質曝露による影響や既存の病態が悪化する可能性が指摘されている。しかしながら、これらの結果が疾患を有するヒトにも同様に適用できるかについては議論がある。5) 複合大気汚染により影響が増悪する仮説に関して、複合大気汚染により呼吸器系への影響が増悪するかについては研究成績が定まっていない。

### 8.2. 心血管系（循環器系）への影響

心血管系（循環器系）への影響について検証する仮説として、1) 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる；2) 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす；3) 微小粒子状物質の曝露によって、自律神経機能に影響を及ぼす；4) 血液の凝固線溶系への影響がみら



れる；5) 心機能変化において呼吸器系の刺激が影響する；6) 微小粒子（粒子中成分）は血液中に浸出し心血管系に影響を及ぼす；7) 疾患モデル動物は正常動物に比べて循環機能変化に差異が生じる；8) 複合大気汚染物質により影響の増悪が生じる を挙げた。

以上の仮説の確からしさに対する現状での評価は以下のようにまとめられるものと考えられる。1) 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる仮説に関して、影響が見られないとする知見もあるが、期外収縮や徐脈など心機能に明瞭な変化を示す根拠が多く存在する。この相違の原因は不明な点が多いものの、粒子状物質の吸入により実験動物に不整脈に関連する変化が生じやすくなることが示唆される。2) 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす仮説に関して、CAPs (Concentrated Ambient Particles) や ROFA の吸入曝露によって主に血管系の形態的な変化を促進する傾向が存在し、とくに潜在的に血管系に異常を持っている動物では血管病変の悪化がより促進されるといえる。このような血管系の異常は、心臓に対する圧負荷を増大させ、不整脈を誘発しやすくなるものと考えられる。3) 微小粒子状物質の曝露によって、自律神経機能に影響を及ぼす仮説に関して、ヒトの研究で得られた自律神経機能影響に関する傾向は動物実験による傾向とは必ずしも一致しないが、ヒトにおいても動物においても、PM<sub>2.5</sub> および PM<sub>10</sub> の曝露が自律神経機能に影響を及ぼすことが示唆される。4) 血液の凝固線溶系への影響がみられる仮説に関して、粒子状物質や DEP 曝露に関する動物実験の結果から、血液成分に影響が現れるとする報告が多い。多くの実験で、血液凝固系が活性化し、血栓の形成を誘導することが示唆された。これらの結果は、ヒトボランティアの研究における CAPs 曝露による血中フィブリノゲンの増加に関する報告や大気汚染物質の曝露による血栓症が起こる臨床的報告と方向性が一致している。このような血液性状の変化は、冠動脈閉塞や肺塞栓症を起こしやすくし、末梢血管抵抗を増大することで心臓への圧負荷を高める可能性がある。5) 心機能変化に呼吸器系の刺激が影響する仮説に関して、動物実験から、呼吸器刺激は心血管系へ少なからず影響を及ぼすものと思われる。6) 微小粒子（粒子中成分）は血液中に浸出し心血管系に影響を及ぼす仮説に関して、血液中に移行した超微小粒子状物質の一部は血管系や中枢神経系へと侵入する可能性が示唆されている。これらの微小粒子状物質が血流中に多量に存在する場合は、それらが血管内皮細胞を障害することで血栓形成を促進する可能性も考えられる。粒子状物質や DEPs は血液凝固系を促進しうることが示唆されているが、血液中の微小粒子状物質と血液凝固系および血管内皮障害との因果関係については機序を含めて直接的な証明を行った研究は乏しい。7) 疾患モデル動物は正常動物に比べて循環機能変化に差異が生じる仮説に関して、冠動脈の閉塞による心筋梗塞モデル動物およびモノクロタリン誘発肺高血圧症モデルにおいてとくに徐脈や不整脈といった心機能異常が現れやすいように見受けられる。心筋梗塞モデル動物では、虚血心筋部位と正常心筋部位との間で不整脈誘発の受感性が異なることや心不全による酸素供給能の低下などが感受性亢進の要因として考えられ、肺高血圧症モデル動物では右心負荷による心臓への負担の増大やそれに伴う心臓内

の各種の内因性物質（サイトカインやエンドセリンなど）の変化が関与する可能性が考えられる。8) 複合大気汚染物質により影響の増悪が生じる仮説に関して、微小粒子状物質以外の他の要因による複合影響に関する研究は少ないが、肺へのオゾンや寒冷ストレス（交感神経緊張亢進）がROFAなどの心血管系作用を高める可能性は否定できない。

### 8.3. 免疫系その他の影響

免疫系その他の影響について検証する仮説として、1) 呼吸器における感染抵抗性が低下する；2) アレルギー性疾患が増悪する；3) 生殖器への影響が生じる；4) 神経・行動への影響が生じる を挙げた。以上の仮説の確からしさに対する現状での評価は以下のようにまとめられるものと考えられる。1) 呼吸器における感染抵抗性が低下する仮説に関して、CAPsやDE曝露は、肺胞マクロファージの持つ殺菌能を低下させ、インターフェロン産生を抑制し、*Streptococcus pneumoniae*、*S. pyogenes*、緑膿菌、結核菌感染の感受性を高める可能性が示唆された。また、感染要因がTh2(T helper cells 2)応答性に関与する知見が得られた。全身性の影響として、血中の凝集抗体価の低下がみられている。しかし、肺からの細菌クリアランス能は6ヶ月間の低濃度DE曝露において影響がないことも報告されており、さらなる研究の実施が望まれる。2) アレルギー性疾患が増悪する仮説に関して、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。3) 生殖器への影響が生じる仮説に関して、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) 神経・行動への影響が生じる仮説に関して、動物実験は、DE、CAPsやME(Motorcycle Exhaust)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。

### 8.4. 変異原性・遺伝子傷害性及び発がん影響

発がん影響について検証する仮説として、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 を挙げた。

以上の仮説の確からしさに対する現状での評価は以下のようにまとめられるものと考えられる。1) 都市大気微小粒子は変異原性・遺伝子傷害性を有する仮説に関して、都市および工業地域の都市大気微小粒子が変異原性、遺伝子傷害性を有することは微生物、培養細胞あるいは実験動物を用いた検討から支持されている。2) 都市大気微小粒子は発がん性を有する仮説に関して、大気微小粒子を実験動物へ長期間曝露し肺腫瘍発生等を検討した例はほとんどなく、大気微小粒子に関する発がん性の実験的根拠は不足している。

都市大気微小粒子への寄与が大きいとされているDEPのヒト発がん性は遺伝子傷害性及

び各種職業集団を対象として疫学調査により強く示唆されている。ただ、実験動物における DE 吸入実験の成績は、ラットで肺腫瘍発生影響を認めているが、高濃度曝露でラットに特異的な過剰負荷による結果であり、ヒトへの外挿には不適切であると指摘されている。一方、メカニズムの面から見ると、DEP は沈着後に肺組織内で炎症あるいは貪食されたマクロファージを介して活性酸素を産生し 8-OHdG (8-hydroxy-deoxyguanosine) など変異の原因となる DNA 損傷を引き起こすことや、微量でも強力な変異原性を有するニトロ化 PAH(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)等が DNA と付加体を形成することによって発がんに関与する可能性のあることが示されている。

都市大気微小粒子の発がん性に関しては、都市大気微小粒子自体の発がん性の実験的根拠は不足しているものの、曝露情報から都市大気微小粒子を構成する成分として DEP や燃料燃焼由来粒子を含むことから、発がんに関与することが示唆される。しかしながら、都市大気微小粒子の質量濃度や成分組成は地域や時間によって変動し一様ではないことから、粒子が一様に発がん影響を有すると判定することは困難である。

#### 8.5. 粒子成分と健康影響の関係

粒子成分と健康影響の关系到注目し、異なる成分の粒子を用いて同一の実験条件で実施し、比較が可能な動物実験（吸入曝露、気管内投与）による知見を対象とし、粒子状物質に含まれる構成成分に関する健康影響から、構成成分による毒性発現の程度について検証するための仮説としては、「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。」を挙げた。

この仮説の確からしさに対する現状での評価は以下のようにまとめられるものと考えられる。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。

#### 8.6. 粒径と健康影響の関係

粒径と健康影響の关系到注目し、異なる粒径の粒子を用いて同一の実験条件で実施し、比較が可能な動物実験（吸入曝露、気管内投与）による知見を対象とし、微小粒子、粗大粒子、超微小粒子（環境ナノ粒子）の粒径の違いによる毒性発現の程度について考察するための仮説として、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 を挙げた。この仮説の確からしさに対する現状での評価は以下のようにまとめられるものと考えられる。

小さい粒子の毒性が強いことを示す知見は多いが、大きい粒子にも毒性を認める知見は存在す

る。現実の大気中では粒径が異なると粒子の化学的組成や生物学的組成が異なることが予想され、このため現実の大気中の粒子の場合においてはこれらの因子が毒性および影響機構に寄与するものと考えられる。このため、一概に粒径の大きさのみによって毒性が決定されるものではなく、こうした各種因子も考慮に入れて検討を行うことが妥当である。

#### 8.7. 健康影響に対する高感受性

粒子状物質の健康影響に対する高感受性についての現状は以下のようにまとめられるものと考えられる。粒子状物質の健康影響に対する感受性の影響は、年齢、遺伝性素因、既存疾患など種々の宿主要因に左右される可能性がある。これらの影響メカニズムを観察するため、毒性学に関する研究が行われているものの、倫理上の観点から、環境と宿主に関連した変数については、主に動物モデルを用いた検討が進められている。

複数の疫学研究で、粒子状物質の影響は高齢者や小児、あるいは、既存疾患を有する集団により顕著であることが確認されている。しかし、高齢あるいは若齢動物が粒子状物質に対し感受性が高いとする報告は、現在のところ、少数である。一方、既存疾患によって粒子状物質やその成分の曝露に対する病態生理学的応答が変わり得ることは広く認められている。疾患モデル動物を用いた研究の多くは未だ進行中の段階にあり、より綿密に検討、追跡される必要はあるが、易感染性宿主、アレルギー性喘息、肺高血圧、虚血性心疾患を持つ宿主では、吸入した粒子状物質に対する感受性が高まることを示唆する報告がある。遺伝的感受性に関しては、近年、グルタチオンSトランスフェラーゼ多型とDEPのアジュバント効果の間に関連があることが報告されている。

#### 8.8. 共存汚染物質との相互作用

共存汚染物質との相互作用についての現状は以下のようにまとめられるものと考えられる。大気は、粒径や組成が異なる様々な粒子状物質と、多くのガス状共存汚染物(O<sub>3</sub>、SO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、COなど)等の混合物で構成されている。粒子状物質とガス状共汚染物の毒性学的相互作用は拮抗的、相加的、または相乗的なものが存在する。また、相互作用は、混合物中の汚染物の化学的組成、大きさ、濃度、比率、曝露期間、さらに検討されるエンドポイントによって異なる可能性もある。これらの状況より、種々の相互作用を特定の汚染物の存在を手がかりに演繹的に予測することは困難である。

一方、粒子状物質とガスの相互作用が生じる機構は以下によるものと考えられている：

- (1) ガスと粒子の化学的相互作用による副産物の形成
- (2) 物質が粒子に接着し、その後、感受性部位へ運搬
- (3) 肺の局所的微小環境における汚染物誘発性の変化(例えばpH低下による)。

しかし、粒子状物質とガス状共汚染物に関するこれまでの研究からは、粒子状物質とガス状汚染物が、その組み合わせにより相加的または相互的な作用を及ぼすことを示す証拠は、比較的限られたものしか得られていない。