

第3章 毒性評価ワーキンググループ

資料編

【1】 緒言

これまでに、大気中粒子状物質による呼吸器への影響に関しては比較的に数多くの研究報告がなされていたが、米国等における大気汚染の健康影響に関する疫学研究において、微小粒子状物質が循環器系への影響に伴う過剰死亡と関連があることが示されてから、細胞や小動物等を用いた実験的研究においても微小粒子状物質の循環器系への影響に関する研究ニーズが高まってきた。粒径が $10\ \mu\text{m}$ 以下の粒子は喉頭より下部の気道に沈着し、 $2.5\ \mu\text{m}$ 以下の微小粒子状物質 ($\text{PM}_{2.5}$) は肺泡領域に沈着しやすいことが知られている。しかし、呼吸器に沈着した粒子状物質が、一次標的臓器とは異なる循環器系に及ぼす影響の機序については不明な点が多い。

国内外の文献的知見あるいは学術集会における議論等から、微小粒子状物質を吸入することによって引き起こされる循環器系への影響は、概ね以下に示す4つのメカニズムのいずれか、あるいはこれらの組み合わせによるものであると推測される。すなわち、(1) 呼吸器内に沈着した粒子により誘発される肺の炎症を介した作用、(2) 組織透過性が高い微小粒子、あるいは粒子成分が循環器系に浸出したことによる作用、(3) 生理活性の高い粒子成分によって起こる血液の凝固線溶系の変化、(4) 呼吸器に沈着した微小粒子が交感神経・副交感神経のバランスを変化させ自律神経系の変調を介して循環器系へ影響を及ぼす作用が、微小粒子状物質の作用機序として考えられる。

また、微小粒子状物質 ($\text{PM}_{2.5}$) の濃度が上昇すると、短期間のうちに死亡率や有症率等が上昇することや、心肺に疾患を持つ人や高齢者等が高感受性群であることが米国等での疫学調査の結果から報告されている。しかしながら、 $\text{PM}_{2.5}$ と死亡率や有症率の上昇との関連性に関するメカニズムの実験的証明はまだ充分なされておらず、また、 $\text{PM}_{2.5}$ の持つどのような物理・化学的性状が死亡率や有症率等の上昇と関連しているかについても充分解明されていない状況にあった。

このような状況を踏まえ、毒性評価ワーキンググループでは疫学調査で報告されている $\text{PM}_{2.5}$ 曝露に対する高感受性群に着目した。呼吸器系及び循環器系に与える影響に関する知見を得るため、高感受性群として、細菌毒素投与により肺炎を起こしたマウスや薬剤投与により不整脈を誘発したモルモット、高血圧ラット、老齢ラットなどの動物を用い、実際に大気環境中に存在する微小粒子状物質の短期間曝露実験を実施した。

実験はおおむね2期に分けて行われた。第1期は、平成11年度から平成15年度まで、埼玉大学内及び日本自動車研究所内でアンダーセンハイボリウムエアサンプラを用いて捕集された大気中微小粒子状物質の有機抽出物を用いて、動物を用いた気管内投与試験や培養細胞を用いた実験的研究が行われた。第2期は、平成15年度から平成18年度まで、横浜市内に設置された濃縮大気粒子 (Concentrated Air Particles : CAPs) 曝露システムを用いた $\text{PM}_{2.5}$ の高濃度短期吸入曝露実験が行われた。

現実大気における $\text{PM}_{2.5}$ 曝露による呼吸器系及び循環器系への影響やその機序を限られた数の動物を用いて検討するには、高い濃度の環境中の $\text{PM}_{2.5}$ を実験動物に吸入曝露させてその影響を検討することが必要となる。高濃度の $\text{PM}_{2.5}$ 吸入曝露を実現する手法として、大気中の粒子状物質の慣性を利用しガス状物質を減少させ粒子状物質の濃度を増加させ、それを動物に吸入曝露させる方法がある。現状では、この手法を利用した CAPs 曝露システムが欧米での研究で用いられており、大気中粒子状物質の高濃度での曝露を実現する最適な方法と考えられることから、本ワーキンググループにおいて CAPs 曝露システムを設計・作製・設置 (平成14年度完成) し、平成15年度から18年度にかけて同システムを用いた各種実験を実施した (第2期)。

吸入曝露による影響の解析を行う代替として、動物への気管内投与や細胞を用いて影響を解析する方法が用いられる。気管内投与は吸入曝露に比較し、高濃度の投与物質が気道に入ることや、気道内での分布も吸入曝露の場合と異なるため、吸入曝露の場合と異なる影響が出る可能性があるこ

とに留意する必要があるが、吸入曝露と比較して簡易であることや、同一の物質が気道内に投与されることから吸入曝露と類似の影響が観察されることも多い。そこで、CAPs 曝露システムが作製稼動される前段階において、予備的研究として、サンプラを用いて捕集された大気中微小粒子状物質の有機抽出物を用いた動物への気管内投与実験や肺を構成する細胞実験を行った（第1期）。

上述のとおり、これらの実験の大きな特徴は、人工的に発生・作成した粒子ではなく一般大気環境中に現実に存在する微小粒子を曝露実験に用いたことにあるが、実験に用いた粒子が PM_{2.5}とは異なる点がある。第1期目の実験では、フィルタに捕集された微小粒子を有機溶媒にて抽出したものをを用いているため、実験に用いる抽出物は微小粒子状物質の有機成分のみを含んでおり、イオンや金属成分、元素状炭素などが含まれておらず、また、捕集サンプラの分級特性の制約により粒径 2.0 μm 以下の微小粒子を用いている。また、第2期目の CAPs 吸入曝露実験においては、濃縮時にガスとともに 0.1 μm 以下の超微小粒子の多くが除去されている。しかし、第1期と第2期の研究結果を総合的に検討することにより、大気環境中に実際存在する微小粒子状物質が循環器系及び呼吸器系にどのような影響が与えうるのかについて有用な知見を得ることが可能であると考えられる。

本報告書は、第1期に行われた「都市大気中の粒子状物質抽出物（PM_{2.5}抽出物）を用いた PM_{2.5}による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究」と、第2期に行われた「CAPs 曝露システムを用いた PM_{2.5}による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究」に関する最終報告書であり、第1期と第2期にわたり同様の手法を用いて研究が進められた研究課題を中心にまとめたものである。

《参考》 各研究課題の研究担当者及び研究協力者（所属は平成 19 年 3 月時点）

- 【2】** 都市大気中の粒子状物質抽出物（PM_{2.5}抽出物）を用いた PM_{2.5}による循環器系及び呼吸器系への影響に関する調査研究
- (2) PM_{2.5}抽出物等の作成
研究担当者：鈴木 忠男（元 日本自動車研究所）
研究協力者：小林 隆弘（国立環境研究所）
- (3) PM_{2.5}抽出物がラットの血管内皮微小環境に及ぼす影響に関する研究
研究担当者：平野靖史郎、古山昭子、小林隆弘（以上 国立環境研究所）
研究協力者：小池英子（筑波大学大学院）
- (4) PM_{2.5}抽出物及び DEP 構成成分がマウスの細菌毒素に関連する肺障害に与える影響の相違とメカニズム解明に関する研究
研究担当者：高野裕久（国立環境研究所）
研究協力者：井上健一郎、柳澤利枝、桜井美穂、植木尚子、日吉孝子（以上 国立環境研究所）
- (5) PM_{2.5}抽出物が心不全ラットの心電図及び血圧変化に与える影響に関する研究
研究担当者：局 博一（東京大学）
研究協力者：桑原 正貴（東京大学）、小林 隆弘、鈴木 明（以上 国立環境研究所）
- (6) PM_{2.5}抽出物が若齢、老齢及び高血圧ラットの心肺機能及び肺組織・血管系に及ぼす影響に関する研究
研究担当者：石原 陽子（久留米大学）
研究協力者：京相 正樹（武蔵工業大学）、横山 卓郎（早稲田大学）、水田 博久、青木 康武（以上 法政大学）、西川 俊郎（東京女子医科大学）、石島 正之（武蔵工業大学）、八名 和男（法政大学）、萩原 啓美（横浜桐蔭大学）、富田 幸子、今野 結子、小池 由紀子、王 麗艷（以上 東京女子医科大学）、池村 貴広、長谷川 彰光、金 吉洪、内山 明彦（以上 早稲田大学）、伊藤 剛、田村 久美子（以上 自動車研究所）
- (7) PM_{2.5}抽出物が高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究
研究担当者：丸山 良子（東北大学）
研究協力者：樺島 麻理子（東京大学先端科学研究センター）、小林 隆弘（国立環境研究所）
- 【3】** CAPs 曝露システムを用いた PM_{2.5}による循環器系及び呼吸器系への影響に関する調査研究
- (2) CAPs 曝露システムの製作
研究担当者：鈴木 忠男（元 日本自動車研究所）
研究協力者：小林 隆弘（国立環境研究所）
- (3) CAPs 曝露と生体影響指標の関連性に関する統計解析方法の検討
研究担当者：山崎 新（京都大学）
- (4) CAPs 曝露がマウスの細菌毒素に関連する肺障害に与える影響とメカニズム解明に関する研究
研究担当者：高野 裕久（国立環境研究所）
研究協力者：井上 健一郎、柳澤 利枝、桜井 美穂、植木 尚子（以上 国立環境研究所）
- (5) CAPs 曝露がキニジン投与モルモットの心電図変化に与える影響に関する研究
研究担当者：局 博一（東京大学）
研究協力者：桑原 正貴（東京大学）、小林 隆弘、鈴木 明（以上 国立環境研究所）
- (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
研究担当者：石原 陽子（久留米大学）
研究協力者：柴田 美香（東京女子医科大学）、越智 眞理子（久留米大学）、西川 俊郎（東京女子医科大学）、京相 雅樹、石島 正之（以上 武蔵工業大学）、三國 敏勝（日本光電株式会社）、小林 隆弘（国立環境研究所）
- (7) CAPs 曝露が高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究
研究担当者：丸山 良子（東北大学）
研究協力者：佐藤 都也子（山梨大学）、菅野 恵美（東北大学）、樺島 麻理子（東京大学先端科学技術センター）、島 浩稔、尾村 誠一、小林 隆弘（以上 国立環境研究所）