

#### 【4】まとめ及び今後の課題

毒性評価ワーキンググループでは、疫学の知見で報告されているPM<sub>2.5</sub>曝露に対する高感受性群の健康影響に着目し、大気環境中に実在する微小粒子状物質の短期間曝露の実施による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ことを目的とし、呼吸器系及び循環器系の病態等を持つ動物又は類似する病態を誘発させた動物を用いて、第1期及び第2期の研究を実施した。

第1期の研究（平成11～15年度）においては、CAPs曝露システムを製作し、稼動させる前段階の予備的研究として、都市大気中微小粒子（PM<sub>2.5</sub>）及びディーゼル排気粒子（DEP）の有機抽出物を用いた細胞実験及び気管内投与実験が行われた。

その結果、赤外吸収スペクトル等のデータから、PM<sub>2.5</sub>有機抽出物には酸素等の官能基を持った物質がDEP有機抽出物に比較して多いこと、ラットの血管内皮細胞を用いた実験によりPM<sub>2.5</sub>有機抽出物とDEP有機抽出物がともにラットの血管内皮細胞に酸化ストレスを与え得ること、PM<sub>2.5</sub>抽出物の気管内投与実験より定性的ではあるがマウスの肺の炎症を増悪する作用、自然発症高血圧ラット（SHR）において心拍数の減少や副交感神経を介した影響などをもたらすことが確認された。

第1期の実験で得られた成果は、第2期に実施したCAPs曝露システムを用いた吸入曝露実験の実験計画に反映させる観点でも有用であったが、気管内投与と吸入曝露とでは気道内での分布等が異なる点も考慮する必要があり、第2期に実施したCAPs曝露システムを用いた吸入曝露実験で得られた成果に含めて評価することとした。

第2期の研究（平成15～18年度）においては、大気中PM<sub>2.5</sub>を効率良く濃縮し動物吸入曝露が可能なCAPs曝露システムを製作・設置し、第1期における成果を踏まえつつ、PM<sub>2.5</sub>曝露に対して高感受性と考えられる病態である肺の炎症・不整脈・高血圧や老齢に着目して、これらの病態等を持つ動物又は類似する病態を誘発させた動物を用いて、CAPs短期吸入曝露実験を実施した。

その結果、CAPs曝露が肺障害に及ぼす影響に関しては、マウスを用いた実験等よりCAPs曝露が細菌毒素による肺の炎症性の変化を増悪させる可能性があること等が確認された。また、循環器系に及ぼす影響に関しては、高血圧ラットの実験よりCAPs曝露中に副交感神経系が優位となり心拍数の減少が観察されたが、一方で老齢ラット及び高血圧ラットの実験においてCAPsの曝露終了後に心拍数が上昇する傾向が見られており、今回の実験結果から呼吸器に沈着したCAPsが心拍数変化に影響するかどうかを推測することは難しいもののCAPs曝露より循環器系に何らかの変化が生じることは否定できないと考えられた。

CAPs吸入曝露実験では、実験回数ごとに気象条件や汚染状況なども異なる上、使用した動物の種類や系統も異なるなど、統計的な差の検出力が弱く、各実験内でのデータの比較、各実験間のデータの比較を難しくしている。このように、野外における動物実験は、曝露条件をコントロールして行うことができる実験とは異なり様々な制約を受けるが、一般住民が実際呼吸している大気質をそのまま吸入曝露している点において大きな意義がある。欧米では、CAPsを6ヶ月ほど中期吸入曝露した結果も報告されている。同条件で曝露できる動物数を増やし、中長期間CAPsを吸入曝露させることにより、今回の実験で傾向ありとして報告した結果について統計的有意差として示すことが可能になるかもしれない。

第1期のPM<sub>2.5</sub>抽出物の気管内投与実験と第2期のCAPs吸入曝露実験ともに見られた変化は、細菌毒素による肺の炎症の増悪である。微小粒子状物質の曝露による肺の炎症の増悪が、循環器系に直接影響を及ぼす可能性は低いとしても、肺の炎症を介した間接的な影響は必ずしも否定できない。事実、肺の炎症時に見られる凝固因子であるフィブリノーゲンの上昇や抗凝固活性の低下をディーゼル排気微粒子の経気道曝露がさらに増悪するという報告もある[1,2]。また、SHRラットを用いた実験において、第1期と第2期ともに、CAPs曝露中に心拍数が低下する傾向が認められたものの、依然として微小粒子状物質が循環器系に及ぼす影響に関して明瞭な結果は得られなかった。

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や、呼吸器に沈着した微小粒子が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は、微小粒子状物質の吸入曝露によって

引き起こされる循環器系への影響メカニズムとして重要な役割を担っていると考えられる。これらの課題について、今回の実験で得られた成果や諸外国での研究動向を踏まえ、今後更に検討を進めることが必要と考えられる。

本調査研究では、疫学調査で報告されている  $PM_{2.5}$  曝露に対する高感受性群に着目して実験を行ったが、一部の実験では第1期及び第2期を通じて非高感受性群も用いて実施された。マウスの細菌毒素による肺傷害に及ぼす影響を調べた実験では、 $PM_{2.5}$  抽出物又は CAPs の曝露が、細菌毒素投与によって誘発された肺の炎症をより増悪させることが示唆された。また、高血圧ラットを用いた実験では、高血圧ラット (SHR) が対照群 (WKY) より  $PM_{2.5}$  抽出物又は CAPs の影響をより受けやすいことが示され、循環機能が異なる動物において影響の受け方が異なることが示唆された。このように、これらの研究結果は、 $PM_{2.5}$  曝露に対する高感受性群の存在の可能性を示唆するものであり、疫学研究の結果を否定するものではなかった。しかしながら、今回の実験が実験動物数や曝露条件等に関する制約がある中で実施されたものであり、高感受性群と非高感受性群の影響差が CAPs 曝露による影響をどの程度反映したものであるのかを明らかにすることは困難である。また、ヒトでの CAPs 曝露の場合、交感神経支配が高まる傾向があることが報告されている。ヒトと動物の実験での結果を比較する際には、心拍数の違いやサーカディアンリズムなどの種差を考慮する必要がある。この点について、毒性学研究により影響メカニズムを検討したうえでその結果を確認することは、 $PM_{2.5}$  による健康影響を明らかにするための重要なプロセスであり、 $PM_{2.5}$  曝露に対する高感受性群に着目した毒性学研究の更なる進展が望まれる。

また、微小粒子状物質に含まれる成分と循環器系及び呼吸器系への影響については、第1期に実施された  $PM_{2.5}$  有機抽出物を用いた実験で、 $PM_{2.5}$  有機抽出物がラットの血管内皮細胞に酸化的ストレスを与え得ること、 $PM_{2.5}$  有機抽出物の気管内投与によりマウスにおける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などをもたらすことが確認されたが、第2期の CAPs 吸入曝露実験では明らかな傾向は認められなかった。また、金属については、米国における ROFA (residual oil fly ash) の研究より、粒子成分中でも重金属が強い酸化的ストレスを起こすことが報告されている。一方、VOC (トルエンや植物由来のテルペン類等) とオゾンなどのガス状大気環境汚染物質とが光化学反応することにより、二次有機エアロゾル (二次有機粒子) (SOA : Secondary Organic Aerosol) が生成することが知られているが、 $PM_{2.5}$  の二次生成粒子成分としての SOA の健康影響に注目が集まり始めている。米国では、室内の光化学チャンバー内で SOA を生成させ、直接 SOA を細胞に曝露して影響を調べる方法も考えられている[3]。

このように、微小粒子状物質の各成分による影響については様々な研究が進められているが、細胞実験や気管内投与実験とともに CAPs のような現実大気における微小粒子状物質としての吸入曝露実験も進められ、微小粒子状物質の成分影響に関する知見が更に深められることが望まれる。

いわゆる環境ナノ粒子は組織透過性が高く、上皮細胞や内皮細胞を通過して循環器系に入りやすいことが指摘されている。第2期の実験で用いたハーバード型 CAPs 曝露システムはナノ粒子成分が濃縮されておらず、 $PM_{2.5}$  のうちナノ粒子を除いた影響を見ていることになり、ナノ粒子を含む  $PM_{2.5}$  全体の循環器系及び呼吸器系への評価を行うためには、ナノ粒子成分に着目した影響に関する知見も併せて集積する必要がある。

ナノ粒子の体内動態と影響については、現在国内においても鋭意進められてきているところであり、今後  $PM_{2.5}$  の影響に関しても粒径ごとに細分化して理解が深まるものと期待される。

今回の一連の研究も含め、これまでに、浮遊粒子状物質、ディーゼル排気粒子、 $PM_{2.5}$  の影響については比較的多くの知見が集積されてきているが、上述のとおり未だ不明な点も多く残されている。これらの分野について今後更に研究が深められるとともに、組織透過性が高いナノ粒子の呼吸器内動態と影響、 $PM_{2.5}$  の中でも生体との反応性が高いとされている SOA の健康影響等に関する研究が進展することにより、大気中粒子状物質の影響に関する全貌が明らかにされていくものと期待される。

引用文献

- 1 Inoue K, Takano H, Yanagisawa R, Hirano S, Ichinose T, Shimada A, Yoshikawa T. The role of toll-like receptor 4 in airway inflammation induced by diesel exhaust particles. *Archives of Toxicology* 2006;80(5):275-279.
- 2 Nemmar A, Nemery B, Hoet PHM, Vermeylen J, Hoylaerts MF. Pulmonary inflammation and thrombogenicity caused by diesel particles in hamsters - role of histamine. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2003;168(11):1366-1372.
- 3 Jang M, Ghio AJ, Cao G. Exposure of beas-2b cells to secondary organic aerosol coated on magnetic nanoparticles. *Chem Res Toxicol* 2006;19(8):1044-1050.