

5. 発がん影響及び遺伝子傷害性

5.1 吸入曝露

5.1.1 CAPs 都市大気の粒子状物質の曝露

都市大気粒子のがん・遺伝子傷害性に関する評価は、*in vitro* 実験で数多く検討されているのに対して、実験動物への吸入曝露で検討した例は少ない。Soares ら (2003)は、BALB/C マウス(雄、8~10 週齢)を交通量の多い地域(サンパウロ)と少ない地域(アチバイア(Atibaia))で、それぞれ終日、最長 120 日間の吸入曝露し、血液を用いた小核発生頻度の観察を行った。その結果、サンパウロで曝露されたマウスの小核頻度はアチバイアよりも高い傾向があり、採血前週平均の粒子濃度、CO 濃度および NO₂ 濃度と小核頻度に有意な相関関係を見いだした。以上の結果から都市のレベルの大気汚染は体細胞の遺伝子変異を誘導する原因となるとした。

Somers ら (2004)らは、オンタリオ州(カナダ)の製鋼所と高速道路に近い場所(ハミルトンハーバー(Hamilton Harbour))と 30km 離れた郊外の 2 カ所でマウス(系統不明)への 9 週間の吸入曝露(全浮遊微粒子濃度 16.2~115.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を実施し、交配させた仔について *ESTR* loci の変異を検出した。また、それぞれの箇所では HEPA フィルターによる除じん曝露、雄マウスのみ曝露して交配した仔での同様の観察も行った結果、都市工業地域での粒子状成分曝露が遺伝的な変異と強く関連し、母系よりも父系の影響であることが示された。大気浮遊粒子によりマウスの DNA 変異が起こることが示された。

5.1.2 DEP やガソリン排気による影響

DE の実験動物への長期曝露による発がん影響は、「ディーゼル排気微小粒子リスク評価検討会 平成 13 年度報告書」にまとめられている。それによると、経気道的な曝露を想定した多くの検討が実施され、DE の吸入によってラットでは明らかな肺腫瘍の増加が観察されているが、他のマウス、ハムスター等では肺腫瘍との関連を示唆する一致した知見がないとしている。これについては、過剰曝露(Overload exposure)に対するラットに特異的な反応であろうとする見解を紹介している。また、DE 吸入曝露ラットでの DNA の酸化的損傷や付加体形成などの観察結果が総括されており、炭粉など吸入粒子自体が DNA 傷害性を持つこと、DEP に付着した PAH やニトロ PAH などの変異原成分が付加体を介して遺伝子傷害性を示すことが証明されている。

DE を実験動物に長期間にわたって吸入曝露し、その影響を検討した最初の報告は、Karagianes ら (1981)によるもので、Wistar ラット(雄)に粒子濃度 8.3mg/m³、6 時間/日、5 日/週の条件で 20 ヶ月の吸入曝露を行った。生存した 6 例中 1 例に肺腫瘍(腺腫)を認めたが、DE の影響とは結論づけられない例数であった。

Orthofer ら (1981)は、A 系マウスに粒子濃度 6.4mg/m³、20 時間/日、7 日/週、7 週間

吸入曝露し肺腫瘍発生を観察した。肺腺腫発生率は、対照群に比べて曝露群で高くなかった。

ウレタンを投与して肺腫瘍発生を促進したマウスでは、曝露群の肺腺腫発生率が高くなったものの、DE 曝露の影響は対照群に比較して極めて小さかった(Kaplan ら (1982)、Pepelko と Peirano (1983))。

Heinrich ら (1982)は、Syrian ハムスター(雌、8 週齢)に DE または除粒子排気を吸入させ、毒性と発がん性を検討した(粒子濃度 3.9mg/m³、8 時間/日、5 日/週、2 年間)。Dibenzo(a,h)anthracene(DbahA)経気道肺内投与あるいは Diethylnitrosamine(DEN)皮下投与の併用により観察した結果、肺組織の増殖性変化や腫瘍発生率は全排気群が除粒子排気群より高くなったと報告した。

Heinrich ら (1985)は、NMRI マウスに Dibenzo(a,h)anthracene(DbahA)を皮下投与後、DE を曝露し(粒子濃度 4.0 mg/m³、19 時間/日、5 日/週、30 ヶ月)、肺腫瘍発生率に差はないが、個体あたりの肺腺腫数は曝露群で有意に高かったとした。また、同様の曝露のみで観察した結果、対照群に比べ高い肺腺腫、腺がん発生を認めたものの、除粒子群でも高く、全排気群との差はなかった(Heinrich ら (1986a))。

Brightwell ら (1986)、Brightwell ら (1989)は、ラット、ハムスターに 16 時間/日、5 日/週で 2 年間の DE 曝露を行った。肺腫瘍発生には量反応関係がみられ、雄の高濃度で 71 例中 16 例(23%)、中濃度 72 例中 3 例(4%)、低濃度 72 例中 1 例(1%)、雌の高濃度で 72 例中 39 例(54%)、中濃度で 72 例中 11 例(15%)、低濃度で 72 例中 0 例(0%)、対照群の雄では 140 例中 3 例、雌では 142 例中 1 例の肺腫瘍を観察した。除粒子排気曝露では、肺腫瘍の有意な増加はなかった。ハムスターに Diethylnitrosamine (DEN)を皮下投与後に曝露を行い、気管に乳頭腫の発生を認めたが曝露群と対照群に有意差はなかった。以上の結果から、量反応関係があり、ろ過排ガスで腫瘍がみられないことから、DE による腫瘍発生は疑いなく、粒子の沈着に伴うものであると報告している。

Stöber (1986)は、DE または除粒子排気をハムスター、マウス、ラットに長期間曝露(19 時間/日、5 日/週、140 週)し、腫瘍の発生を観察した。全排気群、除粒子群は対照群に比べて腺がんを発生した動物の割合が高く、除粒子排気群と対照群には過形成、化生、腺腫、扁平上皮腫瘍の発生が認められなかったが、全排気群には観察された。

Mauderly ら (1986)は、F344 ラットに DE を 0.35、3.5、7.1 mg/m³ の粒子濃度で 7 時間/日、週 5 日、30 ヶ月曝露し、肺腫瘍発生率は、それぞれ 1.3、3.6、12.8%で明確な量反

応関係を観察した。ラットにおいて明らかな量反応関係が認められ、DEの人に対する発がん性は無視できないと報告している。

Ishinishi ら (1986)は、F344 ラットに重量級ディーゼルエンジンまたは軽量級ディーゼルエンジンからの DE を 30 ヶ月吸入させた。肺腫瘍は、腺がん、扁平上皮がん、腺扁平上皮がん、軽量級ディーゼルエンジンからの DE では濃度に関わらず発生し、重量級では濃度に依存して発生し、 3.7 mg/m^3 でのみ対照に対し有意な差であった。ガス成分による気管や気管支上皮の繊毛の短縮や欠損がみられ、濃度や期間に伴い増加した。 0.4 mg/m^3 以下では肺胞の変化はなく、それ以上の濃度でも肺胞の変化はわずかであると報告している。

Takemoto ら (1986)は、DE を F344 ラット、ICR マウスおよび C57Bl マウスに長期間曝露し(粒子濃度 $0, 2\sim 4 \text{ mg/m}^3$, 4 時間/日、4 日/週、 $18\sim 28$ ヶ月または $19\sim 28$ ヶ月)、肺腫瘍発生を観察した。ラットでは、DE 単独群に肺腫瘍の発生が観察されなかったが、diisopropanol nitrosamine(DIPN)の投与と DE 曝露を併用した群で、DIPN 単独群と比べ高い肺腫瘍発生率を観察した。また、出生 24 時間以内からのマウス(C57Bl および B6C3F1)新生仔期から曝露を開始し、28 ヶ月までの継続曝露および 9 ヶ月までの曝露から清浄空気中で 30 ヶ月まで飼育し、対照群に比べ肺腫瘍発生率が高くなることを観察した。

Takaki ら (1989)は、F344 ラットに軽量級ディーゼルエンジンからの DE を $0.1, 0.4, 1.1, 2.3 \text{ mg/m}^3$ の粒子濃度で 16 時間/日、5 日/週、30 ヶ月の曝露を行い肺腫瘍を観察した。曝露群の肺に腺腫、腺がん、腺扁平上皮がん、扁平上皮がんの発生を認めたが、対照群との明らかな差はなく、量反応関係もみられなかった。しかし、肺の過形成は曝露濃度に依存して病変の存在が高くなった。

Heinrich ら (1989)は、ハムスターへの DE(3.75 mg/m^3)、除粒子曝露、 $\text{NO}_2 + \text{SO}_2$ の曝露、Diethylnitrosamine (DEN、3 または 6 mg/kg (体重))との併用群を設定し、19 時間/日、5 日/週、6 週間、10.5 週間、18 週間の曝露をおこなった。DEN 高用量、排気曝露群で上部気道腫瘍の増加を認めたものの、他の群では排気曝露の影響はみられなかった。この実験結果および他の研究結果から、DE は発がん補助物質(cocarcinogen)あるいは、この実験系での増強因子であると不十分ながら結論付けたいとしていた。

Brightwell ら (1989)は、ラット、ハムスターに粒子濃度 $0, 0.7, 2.2, 6.6 \text{ mg/m}^3$ 、16 時間/日、5 日/週で 2 年間 DE を曝露し、肺腫瘍発生を観察した。ラットでは腫瘍発生率に量反応関係がみられ、特に雄よりも雌で顕著に増加した。除粒子群には有意な肺腫瘍の増加はなかった。ハムスターでは明らかな腫瘍増加はなく、DEN 投与後に曝露を行ったが対照群との有意差はなかった。ラットで肺腫瘍発生を見るには、少なくとも $2,200 \mu \text{g/m}^3$ 以

上の粒子濃度が必要であるとした。

Heinrich ら (1992)、Heinrich ら (1995)は、Wistar ラット(雌)に、CB、二酸化チタン (TiO₂)を 11.6 mg/m³、10.0 mg/m³で 18 時間/日、5 日/週、24 ヶ月間曝露し、肺腫瘍発生を観察した。その結果、DE の 7 mg/m³曝露によるもの以上の肺腫瘍発生を認めた。

Kawabata ら (1994)は、F344 ラット(雌)の 4 週齢時から DE を粒子濃度 4.7 mg/m³、15 時間/日、3 日/週で、6、12、18 ヶ月曝露し、その後 30 ヶ月までに発生した肺腫瘍を観察し、曝露群に肺腫瘍の発生を認めたが、曝露期間の延長と発生率に関連の低いことが示唆され、早期の曝露もしくは曝露後の期間が影響していることを示した。

Heinrich ら (1995)は、Wistar ラットと NMRI マウスに DEP(粒子濃度、ラット：0.8、2.5、7 mg/m³、マウス 4.5 mg/m³)、TiO₂(粒子濃度 10.0 mg/m³)、CB (11.6 mg/m³)を 18 時間/日、5 日/週の条件で、マウス：13.5 ヶ月、ラット：24 ヶ月の期間で吸入曝露し、肺腫瘍発生を観察した。高濃度の DE、TiO₂、CB 曝露によってラットに肺腫瘍発生がみられた一方、マウスでは腫瘍発生率に曝露の影響はみられなかった。

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/m³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/m³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。

Mauderly ら (1996)は、F344 ラットで肺腫瘍についての量反応関係を見いだした吸入実験と同じ条件で CD-1 マウスへの 0.35~7 mg/m³の粒子濃度で、7 時間/日、5 日/週の曝露を 24 ヶ月間実施した。肺の腺腫、腺がんの発生率は全群で有意な差がなく、量反応関係も観察されず、マウスに対して DE の発がん性は示されなかった。げっ歯類の吸入実験は人の発がん性を考慮する上で有用な情報を提供するが、げっ歯類の肺腫瘍発生の反応が人で定量的なリスク評価に役立つかは不明であるとしていた。

Iwai ら (1997)は、DE を F344 ラットに粒子濃度 3.2~9.4 mg/m³、48~56 時間/週の条件で吸入曝露し、6 ヶ月後から II 型上皮や気管支上皮の増殖性病変が出現し、この病変は曝露期間の延長にしたがい拡大したと報告した。2 年間の曝露により肺の悪性腫瘍発生率を

高めた。また、除粒子排気曝露群での主な死因は全排気曝露と同様に、白血病の合併を高頻度に伴う悪性リンパ腫で対照群の頻度よりも有意に高かった。乳腺腫瘍、皮膚の線維腫、線維肉腫も曝露群で高く、重複がんの発生は曝露群でのみ観察された。リンパ腫が除粒子群で多いのはガス成分の作用であり、肺腫瘍は排気粒子の作用と異なる発がん機構の存在について考察している。

Iwai ら (2000)は、F344 ラットに若齢時から、粒子濃度 3.5 mg/m^3 、17 時間/日、3 日/週で 3、6、9、12 ヶ月の DE 曝露を行い、30 ヶ月までの肺腫瘍発生を観察した。腫瘍発生率は、9 ヶ月曝露で最も高く 40.4%、ついで 12 ヶ月 22.7%、6 ヶ月 14.0%、3 ヶ月 0%、対照群 2%となった。これは、曝露期間の延長は肺腫瘍の発生率上昇に反映せず、曝露時期の影響が大きい、あるいは、曝露期間延長に伴う障害の修復あるいは腫瘍発生を抑制する反応の存在について言及している。また、同様の曝露条件で F344 ラットに 1、3、6、9、12 ヶ月間曝露し、肺組織の 8-ヒドロキシグアニンを測定した。その結果、曝露期間の延長にしたがって 8-ヒドロキシグアニン量は増加すると報告している。同時に分析した PAH によって形成される DNA 付加体の変化は対照的に、前述の如く曝露期間の延長に伴い減少した。この結果は、ラットにおける粒子過剰負荷と肺発がんとの関係を示すものであると言及している。

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。

Heinrich ら (1994)、Nikula ら (1994)は、BaP $50 \mu\text{g/m}^3$ とその他の PAH を含み、炭素核のないタールピッチの濃縮物エアロゾル 2.6mg/m^3 を 10 ヶ月間曝露されたラットにおいて、肺腫瘍発生率は 39%であった。また、同量のタールピッチ蒸気を粒子表面に濃縮させた CB の 2 および 6 mg/m^3 では、約 2 倍の腫瘍発生率(89 および 72%)を示した。抽出可能な有機物質をほとんど除いた CB 6mg/m^3 への曝露は 18%の肺腫瘍を発生し、タールピッチと CB 粒子の組み合わせ曝露後では 72%の腫瘍発生率を示した。これは、PAH と CB との相乗効果を示していると考えられる。タールピッチ中の BaP のレベルは DE 中より約 3 桁以上高く、発がんにおける DEP 中の PAH の役割は無視し得る程度であろうと報告している。しかし、DEP 中の PAH は、強い変異原性や発がん性を持つニトロ PAH や、タールピッチには存在しない特性解明の不十分な変異原物質を含むため、その作用特性はタールピッチ中の PAH とは全く異なると報告している。

Heinrich ら (1991)は、PAH 含有の空気に曝露されたラットにおける肺腫瘍発生率は、排気ガスの PAH 濃度のみでなく、担体の粒子の組成(有機物吸着層に対する炭素核の質量

比)、粒子付着の有機化合物の溶解、滞留半減期、肺内での担体粒子の細胞毒性影響のようなパラメーターにも依存すると報告している。

Wong ら (1986)は、F344 ラットに粒子濃度 $7.1\text{mg}/\text{m}^3$ で DE の曝露を 31 ヶ月続け、肺内の DNA 付加体が増加すると報告している。

Bond ら (1988)は、呼吸器内の DNA 付加体の位置を決定するため、F344 ラットに DEP を粒子濃度 $10\text{mg}/\text{m}^3$ で 7 時間/日、5 日/週、12 週間曝露し、呼吸器の部位別に DNA 付加体を分析した。DNA 付加体は、末梢の肺組織と鼻部組織で検出され、その量は 18/109 NN であった。DNA 付加体のレベルは発がん物質の効果量を測る上でよい指標であると述べている。

Bond ら (1989)、Bond ら (1990)は、B6C3F1 マウス、ハムスター、F344 ラット、カンキタイザルに DEP と CB を曝露した。曝露濃度は DE($0.35\sim 10\text{mg}/\text{m}^3$)、CB(3.5 あるいは $10\text{mg}/\text{m}^3$)であり、6~7 時間/日、5 日/週で、12 週間曝露した。ラットでは、DEP 曝露によって気道及び肺組織の DNA 付加体生成が示されたが、他の動物種について、ラットやサルで DNA 付加体が検出される条件で、B6C3F1 マウス、ハムスターに曝露を行い同様に分析しても増加は認められなかった。

Bond ら (1990)は、F344 ラットに、 0.35 、 7.0 、 $10\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子濃度で、16 時間/日、5 日/週、12 週間の曝露を行い、それらの DNA 付加体量には大きな差のないことを報告した。肺の DNA 付加体生成は、低濃度で飽和状態に達している可能性が考えられる。また、Bond らは、同じく F344 ラットに粒子濃度 $7\text{mg}/\text{m}^3$ で 12 週間まで曝露させ、開始から 2、4、8、12、14、16 週目の DNA 付加体量を測定したところ、曝露期間の延長にしたがい付加体量が増えた。そして曝露終了後には、速やかに減少し 4 週間には対照群との間に有意の差がみられなくなった。さらに Bond らは、炭素粒子曝露による DNA 付加体形成について、CB の 0 、 3.5 、 $10\text{mg}/\text{m}^3$ で 12 週間ラットを曝露し、炭素粒子への高度曝露によっても DNA 付加体が増加するとした。

Wolff ら (1989)は、BaP を CB に吸着させ($20\text{mg}/\text{g}$)、これをラットに吸入させた。4 時間/日、1 日/週で 12 週間曝露した。この肺組織から抽出した DNA から、Deoxyguanosine の BaP diol epoxide 付加体を検出した。

Gallagher ら (1993)、Gallagher ら (1994)は、Wistar ラット(雌)に粒子濃度 $7.5\text{mg}/\text{m}^3$ の DE および $11.3\text{mg}/\text{m}^3$ の CB を 18 時間/日、5 日/週で 24 ヶ月間曝露し、肺内の DNA 付加体を測定した。これらの 2 群の平均付加体量に大きな差はなく、対照群との間にも有意

な差はみられなかった。DE 曝露によるラットの肺内 DNA 付加体量は、曝露 24 ヶ月後では同じく 2 または 6 ヶ月後よりも低い量であった。

Sato ら (2000)は、Big Blue ラット(λ /lacI 遺伝子導入)を使って DE 曝露後の肺組織について変異頻度と変異スペクトルを調べた。1 または 6 mg/m³ の DE に 4 週間曝露した。6 mg/m³ DE への曝露後では、肺における変異頻度は、対照群より 4.8 倍高かったが、1 mg/m³ DE 曝露では増加がみられなかった。6 mg/m³ DE 曝露では 69 の変異が同定された。主な変異は、A:T 塩基対→G:C 塩基対もしくは G:C 塩基対→A:T 塩基対への転移であった。また、G→T への転換については、DNA の変異がおきやすい場所において起こり、重複変異もみられた。DE によって形成された DNA 付加体の量は、32P-ポストラベル TLC (thin layer chromatography) 法と、8-OHdG は HPLC(High performance liquid chromatography)法で測定し、対照群のそれぞれ 3 倍および 2.2 倍増加した。ノーザンブロットによるシトクロム P-4501A1 mRNA のレベルは、6 mg/m³ DE 曝露で 5.5 倍増加した。これらの結果から、DE がラット肺においてゲノム DNA に対する変異原として作用すると結論づけている。

Heinrich ら (1986b)は、マウス、ラット、ハムスターへの DE、除粒子 DE、または石炭炉煙道ガス(coal oven flue gas)長期曝露実験を実施した。ラットへの DE 曝露(ディーゼル排ガス、除粒子ディーゼル排ガス：19 時間/日、5 日/週、2.5 年、濃度：4 mg/m³)は、肺腫瘍生成を 0 から 16%に上昇させ DE、除粒子 DE とともに腫瘍形成を増加させるとともに、マウスへの石炭炉煙道ガス暴露(清浄空気：16 時間/日、5 日/週、22 ヶ月、濃度：3~7 mg/m³)は、ハムスターでは有意な変化はなかった。ラットの肺腫瘍を 0 から 18%に上昇させ、マウスでも腫瘍形成が増加した。ハムスターでは、肺の扁平上皮化生、喉頭および気管の乳頭腫が増加していた。

Finch ら (2002)は、大豆油を燃料としたバイオディーゼル排気をラット(CDF(F344)/CrIBR)に低濃度(0.04±0.03 mg/m³)、中濃度(0.2±0.1 mg/m³)および高濃度(0.5±0.1 mg/m³)で曝露(6 時間/日、5 日/週、14 週間)し、骨髄小核および末梢リンパ球 SCE を観察したが有意な変化は認められなかった。

5.2 気管内投与

5.2.1 CAPs 都市大気の子状物質の曝露

都市大気粒子を実験動物へ気管内投与してがん・遺伝子傷害性を検討した報告はみられない。DEP については数多くの検討例があり、吸入曝露と同様に「ディーゼル排気微小粒子リスク評価検討会 平成 13 年度報告書」にまとめられている。すなわち、肺腫瘍誘発における肺粒子負荷の重要性は、ラットの経気道肺内投与によっても立証されている。PAH

を含まない CB の肺内投与後に肺腫瘍を誘発し、CB と、生体内における吸着有機化合物の溶出後の DEP の極めて広い表面積は、腫瘍発生のメカニズムに関わっていると考えられる。ラットにおける腫瘍誘発は、PAH 含有量に関係なく、粒子質量、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。

5.2.2 DEP やガソリン排気による影響

Shefner ら (1982) は、1.25 mg、2.5 mg あるいは 5.0 mg の DEP を 1 回/週で 15 週間、ハムスターに気管内投与したところ、ハムスターに腺様化生増殖や腺腫を観察した。過形成、化生性病変が正常組織に戻るのか、あるいは腫瘍になるのか明らかにできなかった。

Kawabata ら (1986)、岩井ら(1991)、河端ら(1993)は、F344 ラット(雌)に 1 mg/0.2ml の DEP または活性炭を 1 回/週で 1、4、10 週間、経気道投与し、時間の経過とともに増殖性病変が増加することを確認した。肺の悪性腫瘍は、DEP 群で 42 例中 20 例、活性炭群で 23 例中 11 例認めた。肺内に滞留した粒子はイニシエーターやプロモーターとして作用すると述べている。また、F344 ラット(雌)に DEP を 4 段階(0.125、0.5、2.0、8.0 mg/個体)、の用量で経気道肺内投与(1 回/2 週、8 週間)し、投与量と肺腫瘍発生率に量反応関係を見いだした。投与量の少ない群では、肺に粒子の存在をわずかに認めたが肺病変は認められなかった。投与量の中程度の群では、肺間質に粒子、軽度の肺炎を認めた。投与量の多い群では、43%に肺腫瘍を認め、組織型は主に腺腫と腺がんであった。また、投与量の多い群を実験開始から 2 年経過後に、肺腫瘍の発生割合を観察したところ先に観察したときよりも 55%と高かった。これは、粒子の肺に対する影響の量反応関係を示すものと述べている。

Dasenbrock ら (1996) は、ラットに 1 回/週で 16~17 週間、DEP(総投与量 15mg)と CB(総投与量 15mg)、およびそれらのトルエンによる抽出粒子(※toluene extracted particles)(総投与量 15mg、30mg)や BaP 処理粒子(総投与量 15mg、30mg)を経気道投与し、腫瘍発生の観察を行った。DEP による腫瘍発生は 48 例中 8 例であったのに対し、その抽出粒子で 48 例中 2 例であった。抽出 CB の発がん性はその粒径や表面積に依存した。BaP 処理した DEP による腫瘍発生(8%)は、BaP 含量は少ないものの様々な PAH を含む本来の DEP(17%)よりも低かった。ラットの肺腫瘍発生における PAH の影響は除外できず、DEP や CB の発がん機序は不明としていた。

Ichinose ら (1997c) は、ICR マウスへの DEP、洗浄 DEP、TiO₂ の経気道肺内投与を実施し(毎回 0.1mg/回を週 1 回/週、10 週間投与)、肺腫瘍は DEP 投与群に最も高い発生率であったが、洗浄 DEP および TiO₂ の投与でも肺腫瘍が発生し、対照群よりも高かったと報告している。また、Ichinose ら (1997b) は、1 回/週で 10 週間に亘り、0.05mg/回、0.1mg/

回あるいは 0.2mg/回の DEP をマウスに経気道肺内投与し、発がん過程での活性酸素種の関与を明らかにするため、脂肪量の異なる餌を与え、検討した。その結果、餌の脂肪量は肺腫瘍数に促進的な影響を与え、肺組織の 8-ヒドロキシグアニン量と肺腫瘍数との間に高い相関性を観察した。

岩井(1998)は、イオウ含量の異なる軽油を燃料とした DE から粒子を回収し、それをラットに 2mg/回、2 週間毎に 1、2、4 回、経気道肺内投与して 30 ヶ月後まで病理組織学的観察を行った。その結果、通常軽油群と低イオウ軽油群との肺腫瘍発生率は、2mg 投与群で 4.1%と 2.1%、4mg 群で 8.0%と 22.4%、8mg 群で 25.0%と 42.9%となった。低イオウ軽油群での肺腫瘍発生率は通常軽油に比べて高いが、低イオウ軽油の DEP は粒径が小さいために肺内への貯留粒子量も多いことが影響していると考察している。

Kunitake ら (1986)は、ハムスターに DEP タール(DET) : タバコ煙濃縮物(CSC) : BaP = 3 : 5 : 6 の混合物を 1 回/週、15 週間の経気道投与、また、ハムスターに、1 回/週、15 週間、総投与量 DET 15、7.5、1.5mg、BaP 7.5mg+DET 1.5mg、BaP 7.5mg、BaP 0.03 μ g、CSC 15mg を経気道投与し観察した。腫瘍発生は認めたが明らかな傾向はなく、各群間に有意差はみられなかった。DET はマウス皮膚腫瘍イニシエーターであるが、ハムスターの経気道投与による影響は確認できなかった。

Kawabata ら (1986)、河端(1988)は、F344 ラットに 1 mg/0.2ml の活性炭または DEP を 1 回/週、10 週間、経気道投与した結果、肺腫瘍は、活性炭投与群で 11 腫瘍/23 匹、DEP 投与群で 31 腫瘍/42 匹を観察した。活性炭のみでラットに肺腫瘍が発生することを初めて報告し、ラットにおける粒子過剰負荷と腫瘍発生に関連について示唆した。

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 NO₂ および 4 ppm の SO₂ を 10 カ月間曝露し、実験開始から 18 カ月後に肺病変を組織学的および DNA 付加物について検討した。それによると、DEcCBP 単独投与群では肺胞道における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 NO₂ および SO₂ 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、NO₂およびSO₂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。

Tsurudomeら(1999)は、F344ラットへのDEP経気道投与後(2mg, 4mg)に肺組織の8-ヒドロキシグアニン量と修復酵素である8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1)の変化を調べた。8-ヒドロキシグアニンは投与後速やかに上昇し、1週間以内に対照と同程度に低下した。OGG1のmRNAは、投与後、徐々に活性が低下するものの5日目には対照のレベルとなった。これは、DEPによる8-ヒドロキシグアニンの変化には、活性酸素種の生成だけでなく、修復酵素の低下が関わっていると報告している。

5.3 その他の曝露経路

5.3.1 DEPやガソリン排気による影響

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ヵ月後に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。

Nesnowら(1983)は、DEP、ガソリンエンジン排気、石炭オーブン、屋根用タールをSencarマウスの皮膚に塗布し、腫瘍イニシエーター、完全発がん物質(complete carcinogen)、腫瘍プロモーターの作用について検討した。試験物質の投与条件は、腫瘍イニシエーターについて、0.1mg、0.5mg、2mg、10mgを単回投与、完全発がん物質について、1回/週で、0.1mg、0.5mg、1mg、2mg、4mgを50~52週間、腫瘍プロモーターについて、1回/週で、0.1mg、0.5mg、1mg、2mg、4mgを34週間投与とした。その結果、石炭オーブンと屋根用タールは腫瘍プロモーター、イニシエーター、完全発がん物質としての作用を、DEPとガソリンエンジンの排気は腫瘍イニシエーターとしての作用を有していた。マウスあたりの乳頭腫数を非直線ポアソンモデルに当てはめると、乳頭腫発生に対する作用は、石炭オーブン>A社製ディーゼルエンジン>屋根用タール>C社製ディーゼルエンジン=F社製ガソリンエンジンとされている。

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。

Kunitake ら (1986)は、マウス(ICR 及び C57Bl)、ハムスターに DEP タール(DET)を皮膚塗布や皮下投与後、皮膚腫瘍が有意に発生して発生率や時期に量反応関係を認めた。イニシエーターとして ICR マウスに DET および DET+BaP:45、15、5mg、タバコ煙濃縮物(CSC) : 45mg、BaP : 1.8 μ g 皮膚塗布後、3回/週で 25週 TPA 塗布、C57Bl マウスに DET と CSC : 10、25、50、100、200、500mg/kg(体重) 4回/週で 5週皮下投与し、18ヵ月観察した。ICR マウスでは、皮膚乳頭腫の発生率は低いが量反応関係を認め、C57Bl マウスでは、DET は最高用量で有意差を認めた。CSC は全群で有意差がみられた。発生時期は用量に依存していた。ICR マウスと C57Bl マウス新生仔には、2.5、5、10mg DET と 0.5mg CSC を皮膚塗布し、24ヵ月観察したが、ICR マウスと C57Bl マウス新生仔では、雄で対照群より肝腫、リンパ腫、肺腫瘍が高い傾向だが有意差はなかった。皮膚腫瘍は発生しなかった。

Grimmer ら (1987)、Grimmer ら (1991)は、DEP 中に含まれる種々の燃焼生成物について芳香族炭化水素(PAH)と極性成分ほかで発がん性を比較しそれぞれの関与の程度を見積もった。Osborne Mendel ラット(雌)の胸腔に 2~3 環持つ PAH と非芳香族炭化水素(19.2mg)、4環以上持つ PAH(0.2mg)、極性 PAH(0.3mg)、ニトロ PAH(0.2mg)のサブ画分に分けた被験物質をビーズワックス法(溶媒として蜜蝋、beeswax を用いた投与方法)で埋込み、肺腫瘍発生を観察した。4環以上持つ PAH は 35 例中 6 例に、ニトロ PAH は 35 例中 1 例に、扁平上皮がんの発生を認めた。DEP 抽出物のうち、疎水成分、さらに PAH の発がん性への関与はおよそ 80%と見積もられ、ニトロ PAH の影響はあるが大きくはないが、総抽出物のわずか 1%(重量)を構成する PAH 含有成分が DEP の発がん性の原因であることが示されたと報告している。

6. 粒子成分と健康影響の関係

6.1 吸入曝露

6.1.1 CAPs 都市大気の粒子状物質の曝露

Kodavanti ら (2000a)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 (正常 5 匹、気管支炎 4 匹)で全身吸入曝露させた。CAPs の基本的構成要素は S、Zn、Mn、および Fe であった。曝露濃度は、265~990 μg/m³ で、曝露時間を 6 時間/日として 3 日もしくは 2 日連続で曝露し、その後肺の損傷を調べた。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。

Clarke ら (2000b)は、CAPs(ボストン由来; 200~360 μg/m³) 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。血液学的な検索では、CAPs またはろ過空気 6 時間/日、3 日間連続曝露を行った後、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可変性がかなり強く示唆されたため、統計学的に、CAPs の成分と生物学的な反応の間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 因子 の増加と関連していた。血中の好中球と BALF 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 因子と 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 の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と考えられる。

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(63.3~1,568.6 μg/m³)と低用量(1.6~133.1 μg/m³)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、①CAPs 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 μg/m³ につき 0.86%上昇)。②300~500 μg/m³ CAPs と O₃ 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+O₃ 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。

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 μ g/m³(73.5~733 μ g/m³))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 SO₂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、H₂SO₄、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、H₂SO₄ 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。

Gurgueira ら (2002)は、ラットに CAPs(300 \pm 60 μ g/m³)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/m³、30 分)の曝露において認められたが CB(300 μ g/m³、5 時間)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。

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 SO₂ を吸入させることにより惹起した。CAPs の曝露濃度は、126.1~481.0 μ g/m³ (3 日平均)、73.5~733.0 μ g/m³(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、H₂SO₄、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、H₂SO₄、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。

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。

Harkema ら (2004)は OVA で感作してアレルギー炎症を誘導しておいた Brown Norway(BN)ラットへの CAPs($81 \sim 755 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、10 時間/日、5 日間曝露(9 月実施)において、気道粘液産生と気管支炎の増加を認めた。7 月の曝露($16 \sim 895 \mu\text{g}/\text{m}^3$)では OVA 感作したラットへの影響は少なかった。9 月の曝露による影響には、人間活動起源の La、V、S などを曝露したラットで多かったことから、これらの組成による影響が疑われた。次に、CAPs 中の原因物質を探るため、9 月の曝露で集めた粒子を可溶性、難溶性画分にわけ、OVA 感作した BN ラットに気管内投与して炎症増悪と物質との関連について調べたが、全身曝露でみられた結果が再現できず、同定はできなかった。以上の結果から、9 月に曝露した CAPs では正常ラットへの悪影響はみられなかったと報告している。しかし、喘息モデルのラットでは気道粘液産生や気管支炎の増悪がみられていることから、デトロイトの南西部の粒子中に重量濃度に依存しない喘息の悪化にかかわる粒子の存在、及び沈着が明らか

にされたものと考えられる。

Morishita ら (2004)は、4 群を設定し、正常ラット(1、2 群)と抗原感作ラット(3、4 群)に、清浄空気(1、3 群)もしくは CAPs(2、4 群)を吸入曝露した(2000 年 7 月と 9 月)。抗原は、生理食塩水に溶解した OVA(0.5%)を鼻腔内に 2 回にわけて投与した。最終抗原投与の 4 日後(第 20 日)から CAPs の曝露を開始した。7 月は $437\sim 1,123 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (日平均: 676 ± 288) で 10 時間/日、4 日間曝露、9 月は $90\sim 555 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (日平均: 313 ± 119) で、10 時間/日、5 日間曝露を行った。成分では表 6-1 に示すように 9 月の方が高かった。9 月の 5 日間曝露では、肺における La の元素濃度は、抗原投与の有無にかかわらず、CAPs 曝露群で清浄空気曝露群に比較し高かった。肺における V の元素濃度も、CAPs 曝露群で清浄空気曝露群に比較し高かった。特に、抗原投与群において V の濃度はより高かった。リンや Fe には有意な差を認めなかった。7 月の 4 日間曝露では、これらの元素は検出限界以下であった。BALF 中の好酸球数は、7 月の 4 日間曝露では 4 群の間に有意な差は見られなかったが、9 月の 5 日間曝露では、抗原により上昇傾向を示した好酸球は、CAPs 曝露により有意な増加を示した。BALF 中のタンパク質濃度も同様の結果であった。CAPs 成分と喘息病態の増悪については検討されていない。以上の結果から、浮遊粒子状物質が抗原に関連する気道炎症を増悪する可能性が示唆された。

表 6-1

TABLE 3
Mass and elemental composition of CAPs during 10-h exposure periods

	Mass ^a ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	La (ng/m^3)	S (ng/m^3)	V (ng/m^3)	Mn (ng/m^3)
July 2000, 4-day exposure (Brown Norway)					
7/25	437 ± 138	1.5 ± 0.1	49,873 ± 5077	15 ± 1	421 ± 11
7/26	456 ± 145	0.7 ± 0.1	68,031 ± 4354	17 ± 1	146 ± 2
7/27	730 ± 253	1.6 ± 0.2	108,142 ± 8424	23 ± 3	125 ± 4
7/28	1123 ± 655	0.8 ± 0.1	85,606 ± 6035	13 ± 1	125 ± 5
TWA	676 ± 288	1.2 ± 0.1	77,716 ± 5971	17 ± 1	206 ± 6
September 2000, 5-day exposure (Brown Norway)					
9/26	90 ± 68	0.5 ± 0.0	4563 ± 245	3 ± 0	109 ± 4
9/27	334 ± 202	44.2 ± 3.8	13,925 ± 844	43 ± 2	562 ± 19
9/28	175 ± 55	2.9 ± 0.3	9227 ± 532	80 ± 4	148 ± 3
9/29	352 ± 165	12.5 ± 0.8	14,341 ± 612	63 ± 4	330 ± 10
9/30	555 ± 93	11.4 ± 0.9	50,628 ± 3114	30 ± 2	344 ± 15
TWA	313 ± 119	15.0 ± 1.3	19,272 ± 1113	46 ± 2	309 ± 10

Note. Values given as concentration ± SD (in ng/m^3 , mass in $\mu\text{g}/\text{m}^3$). TWA, time-weighted average.
^aMeasured by tapered element oscillating microbalance (TEOM).

Nadziejko ら (2004)は老齢ラットにテレメーターを埋め込み、CAPs(ニューヨーク州タキシード(Tuxedo)由来)の影響を調べた。曝露濃度を $161, 200 \text{g}/\text{m}^3$ とし、4 時間/日の曝露を行った。18 ヶ月齢を超えた老齢ラットは、若いラットに比べ不整脈が頻発するようにな

るためである。曝露前に心電図をとり、曝露終了後 24 時間の心電図と比較することにより曝露した物質の直接的影響を調べた。CAPs を曝露したラットに於いて遅延あるいは不規則性拍動が有意に認められた。しかし、超微小カーボン粒子や SO₂ の曝露ではこのような変化は見られなかった。一方、心室性の不完全拍動はどの曝露群においても変化は見られなかった。本研究では超微小カーボン粒子で変化が認められなかったことから、fine particles が原因の一部であると帰結しているが、原因物質については直接言及していない。

Rhoden ら (2004)は、ラットに CAPs(ボストン由来)を曝露濃度 1,060±300 μg/m³ 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、軽度の気管支炎像が認められた。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。

Kodavanti ら (2005)は、SHR 及び WKY ラットを各 2 群に分け 4 時間/日、2 日間、清浄空気もしくは CAPs を吸入させる実験を 7 回繰り返した(2001 年 8 月～10 月)。CAPs 濃度は、144～2,758 μg/m³ であり、H₂SO₄、有機炭素、Zn 濃度との間に有意な相関を認めたが、生体影響との間に相関はみられなかった。7 回の実験の初回以外は CAPs 濃度が低かったが、Zn、Cu、Al 量には数倍の違いがあった。CAPs 濃度ではなく化学物質構成に依存した種特異的な肺(WKY ラット)及び全身(SHR)影響を認めた。特に、CAPs 中の Zn 濃度と血漿フィブリノゲンとの間に正の相関関係を認めている。

Vincent ら (2001)は、オタワ標準粉じん(EHC-93)(48 mg/m³)とそれを水ろ過した EHC-93L (49 mg/m³)、Diesel soot(DS)(4.2 mg/m³)、CBP(4.6 mg/m³)を 4 時間吸入(鼻部)曝露した。EHC-93 曝露後 2 日で血圧が、32 時間でエンドセリン(ET)-1 が、2、32、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。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。水ろ過により極性有機化合物や可溶性成分を取り除く(EHC-93L)と、血行力学的影響が認められなかった。大気浮遊粒子の曝露による血漿 ET-1、ET-3 量の上昇について、血圧上昇との明確な相関関係は得られていないものの、ラットで EHC-93 曝露による血清エンドセリン

量の上昇と血圧上昇が併行して起こることが示された。

6.1.2 ROFA・燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響

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/m^3 、 $1,000\ \mu\text{g/m}^3$ 、 $3,000\ \mu\text{g/m}^3$ 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($3,000\ \mu\text{g/m}^3$)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、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (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 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 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。

Zhou ら (2003)は、SD ラット(雄)に 6 時間/日、3 日間にわたって soot(すす)($250\ \mu\text{g/m}^3$) 単独、Fe 粒子($57\ \mu\text{g/m}^3$; 粒径 $10\sim 50\text{nm}$)単独、soot と Fe の併用(soot $250\ \mu\text{g/m}^3$ と Fe 粒子 $45\ \mu\text{g/m}^3$)の 3 条件で曝露した。soot あるいは Fe 単独条件では効果がほとんど見られなかったのに対し、soot と Fe の併用曝露群では、肺組織のフェリチンの有意な誘導、抗酸化力の有意な減少、IL-1 β の上昇とシトクロム P-450 の上昇および NF- κ B の活性化がみられた。

6.1.3 DEP やガソリン排気による影響

Heinrich ら (1986b)は、DE(4mg/m^3 ; $0.3\ \mu\text{m}$)および除粒子 DE を Wistar ラット、NMRI マウス、Syrian golden ハムスターに 19 時間/日、5 日/週、2.5 年間曝露した。ラットへの DE 曝露は、肺腫瘍生成を 0%から 16%に上昇させた。マウスでは、DE、除粒子 DE ともに腫瘍形成を増加させた。ハムスターでは有意な変化はなかった。

Vincent ら (2001)は、オタワ標準粉じん(EHC-93、 $48\ \text{mg/m}^3$)とそれを水ろ過した EHC-93L ($49\ \text{mg/m}^3$)、Diesel soot (DS $4.2\ \text{mg/m}^3$)、CB ($4.6\ \text{mg/m}^3$) を 4 時間吸入(鼻部)曝露した。EHC-93 曝露後 2 日で血圧が、32 時間で ET-1 が、2、32、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。CB 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。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。水ろ過により極性有機

化合物や可溶性成分を取り除く(EHC-93L)と、血行力学的影響が認められなかった。

6.1.4 金属成分による影響

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。

6.2 気管内投与

6.2.1 CAPs 都市大気の子状物質の曝露

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 μg of Fe₂(SO₄)₃、263 μg of NiSO₄、245 μg 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。

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PM_{2.5}を10 μg/50 μl salineで投与(感作)、あるいは②初回OVA処理14日後に上記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、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 PM(coarse、fine の 2 サイズ) 0.32mg/個体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 PM が、さらに、工業地帯よりも郊外の PM 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。

6. 2. 2 ROFA・燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響

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 2.5 mg を 0.3 mL 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。R1s、R2s の成分を表 6-2 に示す。SD ラット(雄)に R2、R2s、R1s または生理食塩水 0.3 mL 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。

表 6-2

TABLE 1
Metal and Sulfate Concentrations in Residual Oil Fly
Ash Particle-Free Supernatants^a

	R1s ^b		R2s	
Be	1.3 ± 0.1	(3)	0.24 ± 0.0	(3)
Cd	0.20 ± 0.09	(3)	1.55 ± 0.07	(3)
Co	4.4	(1)	5.3	(1)
Cr	5.3	(1)	5.3	(1)
Cu	1.07 ± 0.36	(4)	10.3 ± 0.6	(5)
Fe	125.4 ± 1.7	(7)	3.1 ± 0.5	(8)
Hg	0.88 ± 0.10	(3)	0.45 ± 0.05	(3)
Mn	2.6	(1)	0.9 ± 0.9	(2)
Ni	226.1 ± 5.5	(7)	121.8 ± 3.7	(9)
V	261.1 ± 6.6	(7)	168.4 ± 10.1	(5)
Zn	6.7 ± 0.9	(6)	209.7 ± 4.6	(7)
SO ₄ ²⁻	4476.0 ± 78.0	(4)	2527.0 ± 68.0	(4)

^a Samples of ROFA were mixed with saline (8.33 mg/ml) and sonicated, and particle-free supernatants (R1s and R2s, as defined under Materials and Methods) were analyzed for metal and sulfate concentrations by ICP-AES.

^b All values are in µg/ml and given as mean ± SE; number of replicates is shown in parentheses.

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 mg/個体)、Fe ($0.54 \mu\text{M}$ /個体)、V($1.66 \mu\text{M}$ /個体)、Ni($1.0 \mu\text{M}$ /個体)であった。いずれも0.3 mlの生理食塩水(pH 2.5)に溶解した。投与1時間後から気道・肺胞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に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。

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。

Lambertら(2000)は、ハウスダストの抗原となるダニをアレルゲンとして使用し、これによる呼吸器・免疫影響にROFAやそれに含まれる金属が及ぼす影響を検討した。Brown Norwayラットへ、生理食塩水(0.3ml)、ROFA(1mg)、NiSO₄(105.12 μg)、FeSO₄(58.49 μg)、VSO₄(98.2 μg)、金属混合(Ni+Fe+V)、アレルゲン:ダニ(5~10 μg)を気管内投与した。ROFAや金属は単回投与し、アレルゲンは反復投与した。抗原特異的IgE産生は、ROFA、Ni、V、金属混合の気管内投与により増悪した。気道反応性はNiにより増悪した。BALF所見では、好酸球浸潤はROFAとFeにより増悪した。肺における遺伝子発現に関しては、好酸球の活性化に関わるIL-5はROFA、Ni、Vで増加が認められた。ROFAやそれに含まれる金属成分(V、Ni、Fe、それらの混合)の水溶液は、ダニ抗原によるアレルギー性喘息を悪化しうる可能性がある。

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の順であった。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 μg of Fe₂(SO₄)₃、263 μg of NiSO₄、245 μg of VSO₄ in 0.3 ml acidified

salilne (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。

Kodavanti ら (2002b)は、ラットを用いて、oil combustion emission particulate matter (EPM)の吸入曝露および気管内投与実験を行った。粒径は $1.2 \mu\text{m}$ (MMAD、GSD=2.6)であった。吸入曝露実験では①EPM $10\text{mg}/\text{m}^3$ またはろ過空気、6 時間/日×1 日/週×16 週、② $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、6 時間/日×1 日/週×4 週、③ $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、6 時間/日×1 日/週×1 週、④ $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、6 時間/日×4 日/週×1 週、⑤ $5\text{mg}/\text{m}^3$ 、6 時間/日×4 日/週×1 週、⑥ $2\text{mg}/\text{m}^3$ 、6 時間/日×4 日/週×1 週の 6 通りについて曝露を実施した。

EPM の気管内投与は、濃度依存性に、BALF 中へのタンパク質漏出や炎症細胞浸潤を増悪した。また、炎症反応は 96 時間後にはほぼ消失していた。

EPM 全体と EPM 水溶性成分の成分、 ZnSO_4 水溶液の気管内投与により、BALF 中へのタンパク質漏出や炎症細胞(好中球)浸潤が誘導された。

吸入曝露実験では、 $10\text{mg}/\text{m}^3 \times 6$ 時間/日×1 日/週×1 週の曝露によってのみ、BALF 中へのタンパク質漏出が軽度に見られたが、系統差が存在していた。EPM 曝露により、曝露の濃度と期間に依存して BALF 中のマクロファージ数が増えていたが、好中球の浸潤は見られなかった。EPM の潜在的毒性と、それにおける水溶性の Zn 含有成分の重要性を示唆している。

Kodavanti ら (2003)は、金属組成が都市部の大気中 PM と類似した oil combustion emission particulate matter (EPM)を曝露し、重油燃焼排気による大気汚染の健康影響を調べるため、急性および慢性実験を行った。SD ラット、WKY ラット、SHR に対し、重油燃焼排気中の粒子状物質(EPM、粒径 $1.2 \mu\text{m}$ 、幾何標準偏差 2.6)を吸入曝露した。連続曝露群では、曝露濃度を 2、5、 $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、6 時間/日として 4 日間の曝露を行った。間欠曝露群では、曝露濃度を $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、1 回の曝露を 6 時間/日とし、1 回/週×4 週間又は 16 週間の曝露を行った。この EPM で主要な水溶性の生物活性を持つ金属は Zn のみであった。3 系統ともに肺組織中に粒子を貪食した肺胞マクロファージが認められた。WKY ラットの間欠 16 週曝露群では、清浄空気曝露群と比較して、6 匹中 5 匹で顆粒肥満細胞の減少及び心筋組織に多発性の変性、慢性活動性炎症、および線維化を認めた。SD ラット及び SHR では、清浄空気と EPM 曝露間での心臓病変に明確な違いは認めなかった。本研究では、Zn を含む PM に長期曝露することにより高感受性ラットで心筋障害が生じる可能性を示唆した。但し、SHR では、心筋組織の変化が曝露群と対照群で明確な差を認めなかったが、その理由としては遺伝的素因によるものと思われたと述べている。

Nurkiewicz ら (2004)はラットへの ROFA 気管内投与 24 時間後の、細動脈への影響を検討した。SD ラットに ROFA(0.1、0.25、1.2mg/個体)、TiO₂(0.25mg/個体) および生理食塩水を気管内投与した結果、ROFA 投与群で BALF 中の多核白血球数とアルブミン・LDH 濃度の上昇(ROFA=1、2mg)、肺胞マクロファージによる活性酸素産生量の増加(ROFA=2mg)が認められた。また、気管内 ROFA 投与量の増大とともに血管内皮依存性の血管拡張阻害が認められた。同濃度の ROFA と TiO₂ では血管拡張阻害効果は同程度であった。また、一酸化窒素(NO)合成酵素阻害剤である L-NMMA を加えたときの血管拡張阻害効果に比べて、ROFA 投与群ではより大きな阻害がみられたことから、ROFA は NO 依存性と非依存性の血管拡張作用を示した。NO ドナーであるニトロプルシドナトリウムを電氣的に僧帽筋にイオン導入したところ、ROFA 投与群と生理食塩水投与群で平滑筋の NO に対する感受性に差は認めなかった。Intravital microscopy の結果、ROFA 投与群では細静脈内皮での白血球の接着およびローリングが顕著に認められた。以上の結果は、肺炎症が認められない濃度の ROFA 曝露 24 時間後でも、血管内皮依存性の細動脈拡張阻害が起こることを示していた。これにより、全身性の微小血管機能の阻害が引き起こされている可能性が示唆された。

6.2.3 DEP やガソリン排気による影響

van Zijverden と Granum (2000)は、粒子成分の違いによる免疫応答の誘導の違いを明らかにするために BALB/c マウス(雌)と NIH/Ola マウス(雌)に DEP、CBP、あるいはシリカ粒子(SIP)を抗原 TNP-OVA と共に皮下に投与し、ポリスチレン粒子(PSP、粒径 0.2 μm)は抗原 OVA と共に気管内、あるいは腹腔内投与を行い、抗原特異的抗体価を比較した。その結果、SIPはTh1タイプの誘導を、DEPはTh2タイプの誘導を、またCBPとPSPはTh1/Th2タイプの混合反応を誘導した。したがって、粒子の大きさや化学成分組成の違いがアジュバント効果に関与していると報告している。

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、AM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。

Rengasamy ら (2003)は、DEP と CB を SD ラットに気管内投与し、肺組織における酵

素タンパク質および活性を調べた。シトクロム P-450 1A1 は DEP(5、15、35 mg/kg)投与後 1 日目にタンパク質の誘導、活性上昇が起こり、5 日目には減少した。CB 投与では変化は見られなかった。シトクロム P-450 2B1 は DEP、CB(5、15、35 mg/kg)投与後 1 日目にタンパク質の誘導と酵素活性が減少し、7 日目まで回復しなかった。glutathione S-transferase (GST)- π タンパク質は DEP、CB (35mg/kg(体重))投与後 1 日目に減少し、投与後 1、7 日目において活性も減少していた。カタラーゼ活性も DEP、CB (35mg/kg(体重))投与後 1、7 日目まで減少した。キノン還元酵素活性は DEP(35mg/kg(体重))投与後 7 日目で誘導された。以上から、DEP 中の化学物質によりシトクロム P-450 1A1 とキノン還元酵素が誘導されるが、一方 DEP 中の炭素核がシトクロム P-450 2B1、GST、カタラーゼタンパク質と酵素活性を阻害することが示唆されたと報告している。

Singh ら (2004)は異なる 2 種の DEP(automobile DEP、標準試料 2975)を、 $25 \mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ saline、または $100 \mu\text{g}/50 \mu\text{l}$ saline の投与量で、マウスの咽頭内に単回投与し、BALF 中の急性炎症マーカーを解析した。いずれの DEP も急性炎症を引き起こした。化学、物理学的性状の異なる 2 種類の DEP により、それぞれ異なる肺毒性結果が得られた。本研究では、DEP の生体への影響についての一定の結論は得られなかった。本研究では、用いた DEP の組成および生体影響についての多数の指標を詳細に比較検討する必要がある、限られた指標の単純な比較では結論は導くことはできないとしている。

6.2.4 金属成分による影響

Duffin ら (2001)は Wistar ラットに DQ12(結晶性石英)および乳酸 Al 処理石英を $250 \mu\text{g}$ 気管内投与した。結晶性石英は一般に肺に急性毒性および発がん性を有するが、結晶型石英の表面を乳酸 Al 処理することで、活性酸素種産生および炎症の分子レベルでのカスケード(一連の反応)が抑制された。その結果、DQ12(結晶性石英)の毒性が著しく減弱した。

Campen ら (2002) は、①モノクロタリン非処置 SD ラットに生理食塩水、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (0.105 mg)、 NiSO_4 (0.263 mg)、 VSO_4 (0.245 mg)、②モノクロタリン処置ラットに生理食塩水、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 NiSO_4 、 VSO_4 、③モノクロタリン処置ラットに $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{VSO}_4$ 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4$ 、 $\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ (n=6)、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ 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 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。

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に比較して増加した。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。

鷹屋ら((2005)は、希土類酸化物(Y_2O_3 、 La_2O_2 、 NdO_2 、 CeO_2 、 CeO_2 の微粒子)の呼吸器への影響について 4 年間のプロジェクト研究を行い、気管内投与実験をここにまとめた。粒子の投与量は 10mg/個体(約 34.0mg/kg(体重))であり、単回投与を行った。その後、急性から亜慢性として 3、7、14、30、90、180 日に観察し、慢性として 1 年、1.5 年に観察を行った。急性、亜慢性の期間では、 CeO_2 以外は BALF 総細胞、マクロファージ、好中球の増加がみられ、LDH 活性値も同様の傾向を示した。病理組織所見でも、 CeO_2 以外は肺病変が類似していた。慢性影響としては、 Y_2O_2 群で肺胞道から肺胞にかけ中等度の線維化がみられ、他の群でも軽度の線維化傾向が観察された。希土類酸化物の肺病変誘導における違いを明らかにした。

Yokohira ら (2007)は、F344 ラット(雄)に、石英、Hydrotalcite、Potassium octatitanate fibers、Palladium oxide、CB を 4mg 気管内投与した。気管内投与 1 日後、肺重量は石英、Hydrotalcite、Potassium octatitanate 群で増加した。28 日後ではすべての微小粒子状物質の群は増加した。Potassium octatitanate、Palladium oxide、CB で投与後 1 日目、さらに 28 日後の石英投与群の肺胞でマクロファージに顆粒様変化が見られた。他の群の変化は大きくなかった。石英投与群は、1 日後好中球の浸潤の程度が強く、Potassium octatitanate、Palladium oxide が類似した結果を示した。BrdU 陽性細胞の数とエリアは石英投与群で高かった。Potassium octatitanate 投与群では 1 日後は高かったが、28 日後には全ての群で低下した。iNOS は、石英投与群が 1 日後、28 日後とも他の群より高い値を示した。分析には長所や短所がそれぞれあるが、気管内投与による微小粒子状物質吸入により急性あるいは亜急性の肺毒性効果を短期間で検討するためには BrdU や iNOS のような組織病理学的な評価やマーカーを使用することが有効であることが示されたと考えられる。

6.3 その他の曝露経路

6.3.1 CAPs 都市大気の粒子状物質の曝露

Steerenberg ら (2005)は、BALB/cByJ マウス(雄、6~8 週齢)の OVA 感作モデルを用い、ヨーロッパ各都市で採集した PM のアジュバント効果を調べた。生後 0、14 日に、各 PM(450 μg)を OVA ととも鼻腔投与し、35、38、41 日にも OVA のみを鼻腔投与した。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、その効果は fine PMの方が coarse PMより強く、PMの採集季節ごとに効果が異なった。さらに、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。

6.3.2 DEP やガソリン排気による影響

van Zijverden ら (2000)は、粒子状物質成分の一次免疫応答、二次免疫応答への影響について BALB/c マウス(雌)を用いて検討した。一次応答では、DEP(粒径 $<0.5\ \mu\text{m}$)、CBP(粒径 $<0.5\ \mu\text{m}$)、シリカ粒子(SIP、粒径 $1\sim5\ \mu\text{m}$)の 1mg を抗原 TNP-OVA と共に皮下に投与してリンパ節でのサイトカイン産生細胞数や産生能について測定すると、DEP と CBP を抗原と共に投与した群で IL-4 産生の増加がみられた。二次免疫応答は一次免疫の 4 週後に抗原を点鼻投与して誘導し、抗体産生細胞数や血清中の抗体価を調べた。その結果、DEP 投与は IgG1 と IgE レベルを上昇させ、CBP は IgG1、IgE、IgG2a の抗体価を上昇させた。ところが、SIP は IgG2a のみを上昇させ、粒子成分の違いにより Th1 と Th2 タイプの反応誘導に差のあることが明らかとなった。

van Zijverden と Granum (2000)は、粒子成分の違いによる免疫応答の誘導の違いを明らかにするために BALB/c マウス(雌)と NIH/Ola マウス(雌)に DEP、CBP、あるいはシリカ粒子(SIP)を抗原 TNP-OVA と共に皮下に投与し、ポリスチレン粒子(PSP、粒径 $0.2\ \mu\text{m}$)は抗原 OVA と共に気管内、あるいは腹腔内投与を行い抗体価を比較した。その結果、SIP は Th1 タイプの誘導を、DEP は Th2 タイプの誘導を、また CBP と PSP は Th1/Th2 タイプの混合反応を誘導した。したがって、粒子の大きさや化学成分組成の違いがアジュバント効果に関与していると考えられる。

7. 粒径と健康影響の関係

対象が CB のように化学組成はほぼ一定と考えられるが粒径が違うものの影響を比較している場合と、対象が大気中の粒子のように粒径により化学組成が異なるものの影響を比較している場合がある。前者の化学組成はほぼ一定と考えられるが粒径が違うものの影響比較においても、吸入曝露の場合、曝露濃度が異なるために結果として粒径が異なったものがあり、影響の違いが粒径あるいは曝露濃度の違いによるものかが区別できない報告がある(Moss ら(2001)、Nadziejko ら(2002)、Dormans ら(1999)、Finch ら(2002)、Ishihara と Kagawa (2002)、Ishihara と Kagawa(2003)、Kleinman と Phalen (2006)、Casseo ら (1998))。これらについては、曝露濃度の影響の寄与が大きいものと推察されるため本比較からは除外した。後者の粒径により化学組成が異なるものの影響を比較している場合、影響の違いが粒径あるいは化学組成の違いによるものかが区別できない報告(吸入曝露 Steerenberg ら (2005)、Kleinman ら(2005)、Schins ら (2004)、気管内投与 Schins ら(2004)、Steerenberg ら (2006))であるが、参考のため粒径による影響の比較レビューの対象として取り上げた。

7.1 吸入曝露

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。

7.2 気管内投与

7.2.1 化学組成はほぼ同じだが粒径が異なる粒子での比較

① カーボンブラックなどによる影響

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、肺泡マクロファージ数、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 β 、IL-6、TNF- α 、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- α 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 両方で濃度に依存して増加し、その程度は 95nm に比較して 14nm で大であった。⑤125 μ g 粒子最終投与 4 時間後の肺組織ケモカイン CCL-2 と CCL-3 mRNA 量は 14nm、95nm で増加したが、リンパ節では 14nm が CCL-2、CCL-3 mRNA 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、PM₁₀ 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 PM₁₀(50~125 μ 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。PM₁₀ 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 PM₁₀ 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、PM₁₀ 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- α の産生が高まっていた。

著者らは PM₁₀ 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、PM₁₀ 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 TiO₂ 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- α の増加は PM₁₀ そのものによるとしながらも PM₁₀ 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。

7. 2. 2 粒径により化学組成が異なると考えられる粒子

① ROFA・燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響

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 μ m(モンタナ産石炭由来)、fine 2.5 μ m、coarse >2.5 μ m(西ケンタッキー産由来)で、投与量は 2mg/ml 原液から 50 μ l を投与(100 μ g/50 μ 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 μ m 以下の ultrafine >2.5 μ m 以下の fine >2.5 μ 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。

② 大気中粒子状物質による影響

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 coarse2.5~10 μm 、fine<2.5 μm)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(O₃、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。

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 (coarse2.5~10 μm 、fine<2.5 μm)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 μm 、fine0.12~2.35 μm)をラット(気管内投与 1.0、2.5mgPM;呼吸器の炎症への影響の研究)、マウス(足蹠皮下投与 100、200 μg /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 finePM 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 finePM ;63~74%<1 μm ; 26~37%>1 μm)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 coarsePM 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 coarsePM 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

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。

8. まとめ

8.1 呼吸器系への影響

8.1.1 吸入曝露に関するまとめ

正常犬、正常ヤギ、肺高血圧ラット、慢性気管支炎ラット、感染症ラット、アレルギー感作マウス、老齢ラットを用いて CAPs(濃縮大気浮遊粒子状物質)、ROFA(燃焼に伴って発生する粒子状物質)、ディーゼル排気(DE)等の吸入曝露実験や大気中粒子状物質と O₃ の複合曝露実験が行われている。

CAPs、ROFA の正常動物への吸入曝露時の血液、気管支肺胞洗浄液(BALF)の細胞及び生化学検査では、炎症細胞や酸化ストレス指標の増加を含む肺障害が認められた。このような CAPs に対する反応性は、老齢ラットに比較して若齢ラットの方が高いと示している報告もある。CAPs 含有金属成分との関連では、酸化ストレス物質や炎症細胞などの変動と Ca、Mn、Cu、Fe、Zn、Al、Si、Br、Pb、S 成分の関連性が示唆されているが、報告により関連が見られる成分は異なっていた。正常ラットへの EHC-93(オタワ標準粉じん)と O₃ の複合曝露は、粒子単独曝露による肺障害が複合曝露でさらに増強されていた。正常ラットやマウスへの石油燃焼由来粒子、石炭燃焼由来粒子等の吸入曝露でも、肺病理、BALF 細胞・生化学指標に炎症所見が認められた。

モノクロタリン誘導肺高血圧ラットへの CAPs 曝露では、気流抵抗の上昇など肺機能への影響とともに BALF 中炎症細胞数や炎症関連生化学指標の上昇が認められた。ROFA 曝露でも、BALF 中炎症細胞やサイトカインの増加に加えて肺の浮腫、炎症細胞浸潤、肺胞壁肥厚の病理所見が観察された。一方、自然発症高血圧ラット(SHR)では、CAPs 吸入曝露に対して正常ラットと異なる曝露濃度非依存性の反応が認められた。SHR の ROFA 吸入曝露では、肺病理、BALF 中細胞及び生化学的検査で、肺炎症所見と血中抗酸化物の増加を認めたが、その程度は正常ラットと比較して曝露期間に依存して増大していた。

亜硫酸誘導慢性気管支炎ラットへの CAPs 曝露では、肺機能や BALF 細胞及び生化学検査に炎症所見が認められたが、その程度は正常ラットと比較して差を認めないとする報告や相乗効果を認めたとする報告が混在していた。肺病理、細胞及び生化学的指標と曝露成分との関連性については、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si と相関を認めたとする報告が見られるのに対して、正常ラットで認めた V、Br、Pb、Cl、元素状炭素、有機炭素との関連性が、慢性気管支炎ラットでは低いという報告も見られた。細菌感染との関係については、CAPs 吸入前の肺炎球菌投与や DE 吸入後のリステリア菌や結核菌の気管内投与で、感染症の増悪への粒子の関与が認められていた。

アレルギー疾患モデルとしてのアレルギー感作マウスやラットへの CAPs 吸入曝露では、肺気流抵抗の上昇や気道炎症の増悪を認め、曝露成分の Al、Si、La、V、S の間に関連性を示すと述べていた。アレルギー感作マウスを用いた PM のアジュバント効果は、PM の採取地域や採取時期で差が認められ、coarse PM (粒径 2.5 μm 以上)よりも finePM(粒径 2.5 μm 未満)でその効果は高く、不溶成分及び溶解性成分にも活性が認められていると報告さ

れている。アレルギー感作マウスへの DEP、EHC-93 吸入曝露でも、IgE 生産や気道過敏性の亢進が認められていた。アレルギー性炎症モデルマウスに ROFA 溶出液をネブライザーによって投与すると、気道過敏性と炎症を認めた。

DEP のラット及びサルへの亜急性曝露及び長期曝露実験では、ラットにおいては肺機能に明確な影響が認められなかったが、同一条件でサルに曝露した場合には、努力性呼気流量 (\dot{V}_{25} 、 \dot{V}_{40}) の減少が認められた。DEP の気道炎症の機序としては、気道上皮細胞、肺胞上皮細胞、肺胞マクロファージの粒子取り込みなどにより、細胞内での炎症性サイトカイン、活性酸素などの産生・放出が促進され、その結果肺組織で炎症が引き起こされるという報告がある。正常ラットやマウスへの DE 吸入曝露実験で観察される気道での好酸球浸潤、生理活性物質の誘導、粘液産生細胞の増生などの程度には、種差や系統差が認められた。

肺胞マクロファージ集合体の形成や形態学的な無影響レベルには動物種ごとに異なる閾値があると示唆されていた。

喘息及び鼻炎モデルモットでは、DE 曝露中の抗原点鼻で、曝露濃度依存性の抗原特異的抗体産生、鼻過敏症、好酸球浸潤の亢進が認められ、鼻過敏症を引き起こさない程度の DE 曝露であっても、ヒスタミン誘発の咳、鼻汁分泌、鼻腔内圧の曝露濃度依存的な変化が認められていた。

超微小粒子のカーボンブラックの影響については、若齢・老齢ラット、起炎物質(LPS)処置マウス、早老肺気腫マウスを用いた研究報告が見られた。疾患マウスや老齢ラットでは、 O_3 との複合曝露で肺炎症の増悪が認められ、アレルギー性気道炎マウスではカーボン粒子がアジュバント効果を示すとされていた。金属粒子の影響では、正常ラットへの超微小粒子 Cd、Ni、V、Fe などの曝露実験が見られるが、これらの金属粒子はいずれも肺障害を引き起こしており、単独よりも V と Ni、Fe と soot の複合曝露によりその影響はさらに増大していると報告されている。

一方、硫酸エアロゾルの影響については、モルモット、マウス、ラット、カニクイザル、ロバ、イヌで短期あるいは長期吸入実験の報告が示されている。低濃度短期曝露では、モルモットで肺気流抵抗の上昇や肺コンプライアンスの低下が認められるが、ロバやラットでは影響はほとんど認められず、ラットへの高濃度曝露において肺気流抵抗と呼吸数の増加が観察されていた。一方、低濃度長期曝露では、モルモット、イヌでは肺機能への明確な影響を認めず、カニクイザルへの長期高濃度曝露で呼吸数増加や肺換気分布の悪化が報告されている。また、ラットへの硫酸エアロゾルと O_3 との複合曝露では、肺への急性効果が出ていない報告もある。

硫酸塩に関して、硫酸亜鉛アンモニウム、硫酸アルミニウムエアロゾルの曝露実験では、モルモットおよびラットで肺気流抵抗の上昇が報告されているが、マウスへの硫酸アンモニウム粒子、イヌへの亜硫酸水素ナトリウムまたは硫酸水素ナトリウム粒子の曝露では、

肺への急性影響が出ていない報告もある。

8.1.2 気管内投与に関するまとめ

正常ラット、正常マウス、正常ウサギ、SHR、モノクロタリン誘導肺高血圧ラットなどを用いて、CAPs、TSP、ROFA、金属成分、CFA、Si、DEP、EPM、CB、超微小CB粒子、ナノ粒子などを気管内投与した実験が行われている。

CAPs および都市大気の子状物質による影響に関しては、ラットの気管内に CAPs(PM)を投与した実験では、肺の炎症細胞浸潤、上皮透過性の亢進、活性酸素の増加、肺動脈壁の肥厚と内腔の狭小化が観察された。PM サイズによる比較検討では、fine サイズに比べて coarse サイズの粒子に高度の肺炎誘導が認められた。このメカニズムとして、エンドトキシンや他の汚染物質(O₃、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。ラットの気管内に TSP 抽出物を投与した実験においても肺の好中球浸潤および BALF 中のタンパク質および LDH の増加がみられた。金属成分を除去した TSP 抽出物では BALF 成分への影響が減少したことから、水溶性の金属成分が肺障害の成因に関与する可能性が示された。PM とアレルギー性炎症との関連については、アレルギー体質の小児が多い都市から採取された PM_{2.5} は、対照都市からの PM_{2.5} に比べて気道過敏性や肺の炎症反応を増悪させることが明らかにされた。その理由として PM_{2.5} を構成する金属組成の差異による影響が考えられると述べている。アレルギー性炎症モデルマウスにおいて、アレルギー体質の子供がより多い都市で採取した PM_{2.5} の気管内投与で、抗原チャレンジ後の気道反応性と肺の炎症所見がより強く観察された。

ROFA や燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響に関しては、ラットの気管内に ROFA を投与した実験では、肺の炎症細胞浸潤や浮腫性・出血性変化とともに、心筋伝導障害(AV ブロック)や深部体温の低下などの自律神経反応の障害が観察された。ROFA の含有金属成分について検討した成績では、肺の炎症細胞浸潤や炎症性遺伝子の誘導作用については Fe や V に比べて Ni の効果が大きいことが知られた。一方、ROFA による BAL 液中のタンパク質、ヘモグロビン、LDH の増加作用は Ni や Fe 量と関連し、好中球数とマクロファージの増加は V 量、肺の障害作用は Ni 量と関連するという成績も報告された。さらに ROFA の気管内投与により肺のアセトアルデヒド量が増加し、ERK1/2、p38-MAPK、JNK のリン酸化が生じることも見出された。また ROFA の気管内投与により BAL 液中のトランスフェリン、フェリチン、ラクトフェリンが増加したが、トランスフェリン欠乏マウスでは肺の炎症性変化が軽減されていた。さらに BAL 液中の PGE₂ も増加したが、COX2 阻害薬を投与しても ROFA による肺の炎症は抑制されなかった。また TLR4 欠損マウスと野生型マウスにおいても ROFA による肺の炎症の程度に差は見出されなかった。一方、ROFA を投与された SHR では対照ラット(WKY)と同程度以上の肺の炎症や血液粘度の亢進が生じること、さらに ROFA を投与されたモノクロタリン誘導肺高血圧ラットでは死亡率が増加することが報告された。アレルギー性炎症に対する ROFA の影響については、ROFA、Ni、

V、Ni+Fe+V の気管内投与により抗原特異的 IgE の産生や IL-5 遺伝子発現が増強し、Ni 投与により気道過敏性が亢進し、好酸球浸潤は ROFA と Fe により増悪した。EPM の影響に関し、ラットの気管内に EPM を投与した実験では、BAL 液中のタンパク質濃度や炎症細胞数が増加したが、その機序として含有 Zn 成分の重要性が示された。CFA の影響に関し、マウスの気管内に CFA を気管内投与した実験では、より微小なサイズの粒子の毒性が強く、含有 S 成分や微量元素と毒性の間に関連性が示された。

DEP やガソリン排気による影響に関しては、次のような報告がある。

① 一般毒性

マウスに対する DEP 気管内投与の LD₅₀ は 0.6mg/匹(20mg/kg 体重)との推定値が記載されている。DEP の毒性成分は主にメタノールで抽出される有機化合物成分であり、毒性機序としてスーパーオキシドラジカルの関与が指摘されている。

マウスやラットの気管内に DEP を投与するとシトクロム P-450 1A1 の発現が増加し、GST およびカタラーゼ活性が減少することが明らかにされている。

② 気道炎症への影響

DEP による気道炎症の機序については、活性酸素種による細胞障害作用が考えられている。すなわちラジカルスカベンジャーの投与により、DEP の気管内投与により生じる粘液細胞の過形成、気道・肺組織の好酸球の浸潤、気道過敏性の亢進が抑制されることが報告されている。一方、ラットの気管内に DEP、CB、シリカを投与した後に肺胞マクロファージの活性を調べた実験では、DEP 投与ラットの肺胞マクロファージでは IL-1 が産生されたが、TNF- α の産生はみられなかった。一方、CB とシリカを投与されたラットでは TNF- α が産生されたが IL-1 は産生されなかった。また DEP 投与ラットの肺胞マクロファージでは LPS 刺激に対する TNF- α の産生は抑制されていたが、CB やシリカ投与ラットの肺胞マクロファージでは抑制反応はみられなかった。

③ 非アレルギー性気道炎症への影響

マウスの気管内に DEP を反復投与すると気道壁の好酸球浸潤や粘液細胞の増生、気道過敏性の亢進がみられた。これらの病態形成には O₂、NO、ONOO⁻ の関与が示唆された。また、DEP 投与によるリモデリングには血小板由来増殖因子の関与も示唆された。

NC/Nga マウスに対する DEP の気管内投与後に生じた気道の炎症細胞浸潤と IL-4、KC、MIP-1 の産生についても報告されていた。

④ アレルギー性気道炎症(喘息)への影響

DEP のアレルギー性気道炎症(喘息)への影響については、DEP を気管内に反復投与しながら卵白アルブミンに曝露すると気道壁への好酸球浸潤や粘液細胞の増生、リンパ球浸潤が短期間に発現すると報告された。

また、DEP の気管内投与によるダニ抗原特異的 IgG1 に対するアジュバント効果が明らかにされた。

⑤ 気道・肺組織への影響

ラットの気管内に DEP、CB、結晶質シリカ、非結晶質シリカを投与した比較実験においては、結晶質シリカは持続的な上皮障害をもたらすこと、非結晶シリカの上皮障害作用は一時的であること、一方シリカに比べて超微粒子 CB や DEP による上皮障害は軽度であることが示された。

⑥ 感染モデルへの影響

ラットの気管内に DEP を投与した実験では、リステリア菌に対する肺のクリアランス機能が低下することが確認された。その機序として DEP 曝露によりマクロファージからの NO や TNF の産生が抑制される可能性が示された。

酸性物質・炭素などによる影響について、マウスの気管内に超微小 CB 粒子(径 14 nm)を投与した実験では、BAL 液中のマクロファージ、リンパ球、好中球および炎症性ケモカイン・サイトカインの増加、縦隔リンパ節における粒子貪食細胞の増加が見出された。径 95 nm CB 粒子の気管内投与ではこれらの変化は軽度であった。Respiratory Syncytial Virus を接種したマウスに超微 CB 粒子を気管内投与した実験では、気道・肺の炎症の増悪、気道過敏性の亢進、RANTES、MIP-1 α 、MCP-1 発現の増加がみられた。この成績から超微小粒子の曝露がウイルス感染による肺の炎症や組織障害を増悪させる可能性が示された。

金属成分による影響について、ラット気管内に酸化イットリウム(Y_2O_3)、酸化ランタン(La_2O_3)、酸化ネオジム(Nd_2O_3)、酸化セリウム(CeO_2)、 CeO_2 などの金属微粒子を投与した実験が行われた。急性影響に関する実験においては、 CeO_2 投与群以外の動物で BAL 液中のマクロファージ、好中球、LDH が増加した。慢性影響に関する実験の動物では Y_2O_3 群において高度の肺の線維化がみられた。ラットに Fe、Ni、V の微粒子を気管内投与した実験では、不整脈や深部体温の低下などの自律神経障害が生じることが確認された。

その他の粒子による影響に関し、ウサギの気管内にナノ粒子(polystyrene carboxylate-modified microspheres)を投与した実験では、カプサイシンなどの刺激による substance P やヒスタミンの遊離が亢進した。一方、タキキニンやヒスタミンの拮抗剤投与により肺の好中球性炎症や水分量増加が抑制された。またナノ粒子の投与により肺上皮細胞や血管内皮細胞に障害が生じることが確認された。

以上のように、CAPs、ROFA など各種粒子状物質及びその成分の短期、長期吸入曝露は、実験的に正常動物及び呼吸器疾患モデル動物で、肺の炎症など種々の影響が報告されている。特に、気管支炎モデル、喘息モデル、感染症モデル、肺高血圧モデルや O_3 等、他の汚染物質の影響を増幅しうることは注目に値する。ただし、一般環境中の濃度に比較して、高濃度の曝露濃度を適用した研究が多いこと、成分や濃度に関して同一条件で行った研究ではないことに関し留意する必要がある。また、動物を用いた CAPs、都市大気微粒子、ROFA、EPM (石油燃焼由来粒子)、CFA (石炭燃焼由来粒子)、DEP、カーボンおよび金属微粒子の気管内投与実験により、気道や肺の炎症細胞浸潤と透過性亢進、炎症性ケモカ

イン・サイトカインの誘導、酸化ストレスの増大、細胞内シグナル物質の活性化、気道過敏性亢進等がもたらされうると報告されている。さらにこれら微粒子の投与により喘息や感染症の動物モデルの病態が悪化することも報告されている。

微粒子による影響の違いについては、主に粒子径や含有金属成分の特性の観点から研究が進められている。しかしながら動物実験においては、一般環境中に比べ、高濃度に相当すると考えられる量の粒子を用いた研究が多いことに留意する必要がある。

8.2 循環器系への影響

8.2.1 吸入曝露に関するまとめ

正常ラット、正常マウス、正常犬、虚血性心疾患モデル犬、心筋梗塞モデルラット、肺高血圧ラット、動脈硬化モデルマウス、SHR、高脂血症モデルラット、老齢ラットを用いて CAPs(都市大気等の粒子状物質)、ROFA の吸入曝露実験が行われている。

虚血性心疾患モデル犬では、CAPs 曝露により、正常犬に比べて心拍変動解析の高周波成分の上昇がより顕著であり、ST 上昇もより早期に出現した。この心電図 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。心筋梗塞モデルラットでは、心室期外収縮の発現増加傾向が CAPs 曝露により認められたが、統計的に有意ではなかった。肺高血圧ラットでは、CAPs 曝露によって、脈拍と血圧が早期に低下したが、粒子濃度との有意な相関は得られなかった。肺高血圧ラットで CAPs 曝露により心拍の不規則性が有意に高まったが、心室期外収縮は曝露群で有意に増えることはなかった。動脈硬化(高脂血症)モデルマウスでは、CAPs 曝露によって CAPs 濃度の日間変動と関連した心拍変動がみられ、心拍、体温、および身体的活動の有意な減少も観察された。SHR では、エンドトキシン処理を行い、道路上大気を吸入曝露すると、心拍数の減少が認められた。副交感神経の活動も道路上大気処理により高くなっており、エンドトキシン併用処理群でその影響は大きかった。老齢ラットは、若齢ラットに比べ不整脈が頻発した。一方、老齢ビーグル犬に ROFA を吸入曝露した実験では、心電図の ST 分節の高さ、T 波の形状や高さに変化はなく不整脈もみられなかった。

正常ラットに、オタワの粉塵、ROFA、ヘレナ山の火山灰、金属成分を曝露した実験では、不整脈、低体温、肺の炎症に伴う徐脈が量依存性に認められた。なお、カーボンナノ粒子(37.6 nm)を吸入曝露したラットでは心拍数の増加が認められた。バナジウムの吸入では心拍数と深部体温の変化はなく、徐脈及び体温の低下もわずかであった。ニッケルでは体温の低下と不整脈を認めた。バナジウムとニッケルの複合曝露がそれぞれの単独曝露と比較して、心機能と肺障害に相乗的に影響を及ぼすことも示唆された。

8.2.2 気管内投与に関するまとめ

正常ラットおよび各種の循環器疾患モデル動物を用いて、CAPs、ROFA の気管内投与実験が行われている。循環器疾患モデル動物としては、心筋梗塞モデルラット、SHR、遺伝

性高脂血症ウサギ(WHHL ラビット)、肺高血圧ラットが用いられている。

心筋梗塞モデルラットでは CAPs(PM_{2.5})、老齢 SHR ではオタワの粉じん、ROFA、ヘレナ山の火山灰の気管内投与によって心拍数の減少、心室期外収縮、不整脈、左室弛緩期圧の低下(心筋梗塞モデルラット)などの出現が認められていた。モノクロタリン誘発肺高血圧ラットでは、ROFA の投与によって、これらの心機能変化が正常ラットより強く出現し、致死率も上昇した。正常ラットおよびモノクロタリン処置ラットでは ROFA 中のバナジウムは徐脈、不整脈、体温低下を招き、ニッケルは遅発性に頻脈・低体温・不整脈、心拍数減少、深部体温の低下をもたらした報告もある。ニッケルとバナジウムの同時投与により、致死率は上昇した報告もある。なお、正常ラットへの CAPs 気管内投与によって心臓の酸化物の増加、心拍数の増加が生じるといった報告もある。

以上のように、CAPs や都市大気微粒子、及びその成分の吸入曝露は、各種の循環器疾患モデルにおいて心血管系の機能に様々な影響を及ぼしうると報告されている。特に、虚血性心疾患モデルや動脈硬化性病変における変化を増幅しうるとは注目に値する。自律神経系を介すると考えられる脈拍や血圧の変動に関する多様な影響も観察されている。

種々の微小粒子の気管内投与が心血管系に不整脈をはじめとする種々の影響を及ぼしうることが実験的に示唆されている。また、一部の報告では、正常動物に比較して、各種の循環器系疾患モデル動物でその影響がより強く観察されている。

しかしながら動物実験においては、一般環境中に比べ、高濃度の粒子を用いた研究が多いことに留意する必要がある。

8.3 免疫系、血液への影響

8.3.1 吸入曝露に関するまとめ

正常ラット、正常マウス、新生児マウス、感染モデルマウス、アレルギー性炎症モデルマウスなどを用いて、CAPs、PM_{2.5}、Fe 粒子、Ni 粒子、CFA、DE、CB などの吸入曝露実験が行われている。

CAPs や都市大気粒子状物質の影響に関して、感染モデルでは PM_{2.5} 曝露は感染ラット肺からの菌排出を遅らせ、Fe や Ni 粒子曝露でもクリアランス機能低下がみられた。アレルギー性炎症モデルに関しては、マウスに沿道で集めた CAPs を曝露したところ、アレルギー反応への影響(IL-5、IgE、好酸球)は道路からの距離が近いほど強いことが示唆された。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検討では、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唆されていた。また、アレルギー感作状態のマウスにロサンゼルス CAPs を曝露したところ、曝露群では炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 α)および転写因子(NF- κ B)の有意な増加が認められた。

ROFA・燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響に関しては、ラットに CFA の高濃度曝

露後、肺への遊離粒子の沈着、肺胞マクロファージによる粒子の貪食が観察された。単核細胞の浸潤、II型上皮細胞の増殖、軽度の線維化による肺胞隔壁の細胞数増加も認められ、肺リンパ節ではTおよびBリンパ球の増加が観察された。血液白血球、BALF中の総好中球数が増加した。肺組織におけるIL-1 β や総酸化防止能もまた、CFAを曝露させたラットで上昇した。

また、新生児マウスにROFA-アレルゲンを曝露すると、メサコリンに対する気道反応性の亢進がみられ、抗原特異的なIgEとIgG産生も増強した。

DEPやガソリン排気による影響に関しては、ラットとマウスへの長期曝露でリンパ節細胞数の増加がみられラットでは抗体産生細胞数の増加がみられた。BALF所見では、濃度と曝露期間に依存し、好中球の増加が観察された。マウスにDEを曝露すると、BALF中のMac-1陽性細胞が高濃度曝露群で有意な増加が認められた。モルモットにDEを長期吸入曝露したところ、BALF中の好酸球数は濃度依存的に増加した。感染モデルに関しては、マウスにDE曝露を行い、*Streptococcus pyogenes*感染に対して致死率の増加が、インフルエンザウイルス感染に対しては肺のインターフェロンレベルの抑制がみられた。マウスにDEを曝露し、結核菌を感染させたところ、肺組織中の結核菌によるコロニー生成が増加した。さらに、DEをマウスに吸入曝露すると、短期間では緑膿菌のクリアランスは低下し、その低下は低濃度領域では濃度依存的であった。アレルギー性炎症モデルに関しては、DE曝露とアレルゲン感作を行ったところ、脾臓重量の増加が高濃度曝露でみられた。血清中のアレルゲン特異的IgE抗体価は高濃度曝露群で高かった。脾臓細胞のサイトカイン産生も高濃度曝露群でIL-4、IL-10は高く、IFN- γ は低い結果であった。

酸性物質、炭素などによる影響に関しては、マウスへSO₂とCBを鼻部曝露すると、硫酸塩濃度に依存した肺胞マクロファージのFc受容体を介した貪食能の低下がみられ、系統差も観察された。また、ラットにO₃と微小粒子の混合曝露での強毒性が示唆されていた。アレルギー性炎症モデルに関しては、超微小カーボン粒子をマウスに曝露しアレルゲン感作とのタイミングを検討したところ、最終のアレルゲン感作より1日及び4日間前にカーボン粒子を曝露した群で、炎症反応やサイトカイン産生がより増強していた。

8.3.2 気管内投与に関するまとめ

正常ラット、正常マウス、アレルギー性炎症モデルマウスなどを用いて、都市大気の小粒子、金属成分、CB、DEPなどの気管内投与実験が行われている。

CAPs 都市大気の子状物質の影響に関しては、ラットにサンパウロ市由来PM_{2.5}を気管内投与し、ヘマトクリット値の増加、好中球やフィブリノゲンの減少、リンパ球の増加、肺胞内肺細動脈の内腔/壁比の投与量依存的減少が観察されていた。

ROFA・燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響に関しては、ラットへROFAを気管内投与すると、BALF中の多核白血球数とアルブミン・LDH濃度の上昇、肺胞マクロファージの活性酸素産生の増加が認められた。また、ROFA投与群では細静脈内皮での白血球の

接着およびローリングが顕著に認められ、微小血管機能の阻害が引き起こされている可能性が示唆されていた。

DEP やガソリン排気による影響に関しては、マウスに DEP を気管内投与すると、T 細胞とマクロファージを介した免疫抑制反応が示唆されていた。ラットに DEP を気管内投与すると、好中球の誘導が観察され、BALF 由来好中球の TPA 刺激下の活性酸素産生量はまず増加し、その後に低下した。アレルギー性炎症モデルとしては、マウスにアレルゲンとともに DEP を気管内投与し、縦隔リンパ節細胞での細胞増殖の亢進と IL-4 の産生上昇が観察された。

酸性物質、炭素などによる影響に関しては、マウスに 14nm と 95nm の超微小 CB 粒子を気管内投与すると、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。BALF 中炎症性サイトカインは、濃度依存性に増加し、95nm では IL-6、TNF- α の変動は少なかった。縦隔リンパ節で粒子を貪食している細胞は、14nm、95nm 両方で濃度に依存して増加し、その程度は 95nm に比較して 14nm で大きかったとの報告があった。アレルギー性炎症に関しては、マウスに CB を気管内投与後 Respiratory syncytial virus(RSV)を感染し炎症反応への影響を検討したところ、CB 処理により BALF 中炎症細胞誘導が認められた。Th2 タイプのサイトカイン・ケモカイン産生量は CB 処理により誘導されたが、Th1 タイプのサイトカイン・ケモカイン産生量は抑制され、感染前の微粒子投与はその後の免疫応答をアレルギー増強に導く可能性が示唆されていた。

以上のように、実験的には、CAPs や都市大気微粒子、及びその成分の吸入曝露や気管内投与により、免疫・血液系への種々の影響を示唆する報告がなされている。特に、感染症やアレルギー疾患モデルに影響を及ぼしうることは注目に値する。ただし、一般環境中に比較し高濃度の曝露濃度を適用した研究であること、成分や濃度に関しては同一条件で行った研究ではないことに関し、留意する必要がある。

8.4 その他(非発がん)の影響

8.4.1 生殖器への影響

ラットやマウスに DE、DEP を曝露し、生殖器官の形態、生殖器機能、性ホルモンなどへの影響をみる研究が行われている。

ラットに DE を曝露すると、肝および前立腺の aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) 活性に増加がみられた。DE をマウスに曝露したが、精子の頭部異常、次世代への影響、全体の繁殖能力と生存率にも著しい変化はなかったが、唯一、卵巣黄体数の顕著な減少を認めたと報告もある。一方、DEP をマウスの腹腔内に注射すると、第 1 代 F₁ マウスで精子数の減少と睾丸重量の減少、精子奇形等を認め、成長期のラットに総 DE 排気ガス、除粒子 DE 排気ガスを曝露すると、血清中の男性ホルモン(テストステロン)と女性ホルモン(エ

ストラジオール)濃度は曝露により増加し、卵胞刺激ホルモン(FSH)濃度は逆に低下したと報告されている。また、DE をマウスに曝露すると、ライディッヒ細胞の形態異常が観察され、黄体形成ホルモン受容体の mRNA の発現量も濃度に依存して低下した。さらに、妊娠ラットを DE、除粒子 DE および清浄空気に曝露すると、性器-肛門間距離は DE および除粒子 DE 群で長かったという報告もある。

以上のように、実験的には、DE やその成分による生殖機能への種々の影響を示唆する報告がなされている。

8.4.2 神経・行動への影響

ラット、マウス、サルに CAPs、ガソリン二輪車排気ガス、メタルアークステンレス鋼蒸気などを曝露し、その行動や神経系への影響をみる研究が行われている。

ラットに DE を曝露すると自発的な運動の減少が見られたという報告がある。また、新生仔期に DE に曝露され、その後清浄空気下で飼育された動物では、バーを押して食餌を取る行動の習得率が対照よりも有意に遅くなることが見いだされた。ラットにガソリン二輪車排気ガス(ME)を吸入させ、あるいはガソリン二輪車排気ガス中微粒子(MEP)を気管内投与したところ、運動機能が低下した。また、運動神経伝導速度の低下、神経におけるナトリウムカリウム ATPase 活性の低下が認められた。Apo E^{-/-}マウスにニューヨークの CAPs を曝露すると、黒質緻密核からのニューロンが減少し、星状細胞は増加した。サルにメタルアークステンレス鋼溶接蒸気を曝露すると、大脳基底核の MRI T1 relaxation time が減少していくことが示され、溶接蒸気を長期に吸入すると血中 Mn が高値となり脳 MRI T1 signal が増強されることが示唆された。

以上のように、実験的には、CAPs や ME などによる動物の行動や神経系への影響を示唆する報告がなされている。ただし、一般環境中に比較し高濃度の曝露濃度を適用した研究であること、成分や濃度に関しては同一条件で行った研究ではないことに関し、留意する必要がある。

8.5 発がん影響及び遺伝子傷害性

8.5.1 吸入曝露に関するまとめ

CAPs・都市大気の子状物質の曝露に関し、遺伝子傷害性に関する評価は、in vitro 実験で数多く検討されているのに対して、実験動物への吸入曝露で検討した例は 2 つと少ないが、いずれも遺伝子の変異を誘発するという結果を得ている。

一つはマウスを交通量の多い地域と少ない地域で、終日、120 日間までの吸入曝露後、小核発生頻度が高い傾向となり、採血前週の大气汚染指標と小核頻度に有意な相関関係を見いだしていた。

もう一つでは、製鋼所と高速道路に近い場所と郊外の 2 カ所でマウスへの 9 週間の吸入曝露を実施し、交配させた仔について ESTR loci の変異を検出したところ、都市工業地域

での粒子状成分曝露が遺伝的な変異と強く関連し、大気浮遊粒子によりマウスの DNA 変異が起こることが示された。

DEP やガソリン排気による影響に関し、ディーゼル排気(DE)の実験動物への長期曝露による発がん影響に関して、経気道的な曝露を想定した多くの検討が実施され、ラットでは DE の吸入によって明らかな肺腫瘍の増加が観察されている。しかし、他のマウス、ハムスター等では肺腫瘍との関連を示唆する一致した知見がない。この種差については、過剰曝露(Overload exposure)に対するラットに特異的な反応であろうとする見解がある。また、DE 吸入曝露ラットでの DNA の酸化的損傷や付加体形成などの観察結果が総括されており、炭粉など吸入粒子自体が DNA 傷害性を持つこと、DEP に付着した PAH やニトロ PAH などの変異原成分が付加体を介して遺伝子傷害性を示すことが証明されている。

マウスやハムスターへの曝露では、DE 単独での肺腫瘍発生の促進を認めた報告はほとんどなく、Urethane、Dibenzo(a,h)anthracene(DbahA)あるいは Diethylenitrosamine(DEN)などの発がん物質と DE 曝露の併用により、肺組織の増殖性変化や腫瘍発生率の増加を認めている。

一方、ラットへの曝露では、数多くの報告に共通して曝露濃度・期間と肺腫瘍発生率に量反応関係を認めている。この量反応関係は、1~2 mg/m³以上の濃度での長期曝露実験で観察されたとしているが、この濃度以下で検討した例では有意な腫瘍発生の増加や量反応関係を認めなかった。

この様に、DEP を曝露したときに、腫瘍発生の増加について動物種特異性がみられていることから、DEP 以外の微粒子について吸入曝露を行い腫瘍発生を検討した報告では、ラットへの CB あるいは二酸化チタン (TiO₂)を長期間曝露すると、DE 曝露で観察されたのと同程度あるいはそれ以上の肺腫瘍発生が認められた。

また、曝露時期と肺腫瘍発生の関係について、幼若期や成長期の曝露が肺腫瘍発生に結びついていて、必ずしも曝露期間が腫瘍発生率に反映しないことも報告されている。

発がん影響の指標として、DE 吸入曝露後の肺組織について DNA 付加体を分析して検討した報告によると、活性酸素種により生じる DNA 付加体の一つである 8-ヒドロキシグアニンは DE 曝露によって増加することが明らかになっている。同様に、PAH やニトロ PAH の DNA 付加体量も、DE 曝露による増加を認めているが、曝露期間の延長に従って増えるとする報告と対称的に減少するという報告もある。また、動物種で比較した結果では、ラットとカニクイザルで DNA 付加体が検出される条件で、マウス(B6C3F1)、ハムスターに曝露を行ったが増加を認めなかったとする報告がある。DNA 付加体生成と変異スペクトルを同時に検討した結果では、4 週間の 6 mg/m³ DE 曝露では、肺の変異頻度は、対照群より 4.8 倍高かったが、同じく 1 mg/m³ DE 曝露では増加がみられず、主な変異は、A:T 塩基対→G:C 塩基対もしくは G:C 塩基対→A:T 塩基対への転移であった。また、G→T への転換については、DNA の変異がおきやすい場所において起こり、重複変異もみられた。

バイオディーゼル排気についての曝露例は一例だけであるが、ラットへの 0.04~0.5

mg/m³、14 週間曝露で骨髄小核および末梢リンパ球 SCE の有意な変化は認められなかった。

8.5.2 気管内投与に関するまとめ

CAPs 都市大気の子状物質の曝露に関し、都市大気粒子を実験動物に気管内投与し、がん・遺伝子傷害性を検討した報告はみられない。

DEP やガソリン排気による影響に関し、DEP については数多くの検討例があった。肺腫瘍誘発における肺粒子負荷の重要性は、ラットの経気道肺内投与によっても立証されていた。PAH を含まない CB は、肺内投与後に肺腫瘍を誘発しており、このことから CB と、生体内における吸着有機化合物を溶出した後の DEP の極めて広い表面積が、腫瘍発生のメカニズムに関わっていると考えられた。ラットにおける腫瘍誘発は、PAH 含有量に関係なく、粒子質量、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。

低イオウ軽油を燃料とした DEP と通常軽油による DEP をラットに投与して検討した報告では、低イオウ軽油群での肺腫瘍発生率が通常軽油に比べて高くなったが、低イオウ軽油の DEP は粒径が小さいために肺内への貯留粒子量も多いことが影響していると考えられている。

また、ハムスターに DEP 抽出タールを投与して観察した結果では、マウスにおいては皮膚腫瘍イニシエーターとなる DEP 抽出タールが、ハムスターの経気道投与においては、肺腫瘍の発生率に有意な影響がみられなかった。

DEP の気管内投与でも DE 曝露と同様に、肺組織の 8-ヒドロキシグアニンの増加を認めているが、8-ヒドロキシグアニンの修復酵素であるオキソグアニングリコシレース(OGG1)の変化を調べたところ、投与後、徐々に活性が低下することから、DEP による 8-ヒドロキシグアニンの変化には、活性酸素種の生成だけでなく、修復酵素の低下が関わっていることを示唆した。

8.5.3 その他の曝露経路

DEP やガソリン排気による影響に関し、マウス等を用いた DEP 抽出成分の皮膚塗布による腫瘍発生の観察結果では、ほとんどの検討例で DEP 抽出物の発がん性を示唆する結果を得ている。DEP、ガソリンエンジン排気、石炭オープン、屋根用タールについて皮膚腫瘍発生に対する影響の差を比較した結果では、石炭オープンと屋根用タールは腫瘍プロモーター、イニシエーター、完全発がん物質としての作用を、DEP は腫瘍イニシエーターとしての作用を示し、皮膚乳頭腫発生に対する作用は、石炭オープン DEP(A 社製)>屋根用タール>DEP(C 社製)=ガソリンエンジン排気(F 社製)の順であった。また、タバコ煙濃縮物(CSC)と比較した結果では、DEP 抽出タール(DET)は、PAH 低感受性の C57Bl マウスで、CSC で低濃度から用量依存的に腫瘍発生を認めたのに対して、DET では最高用量でのみ有意な腫瘍発生となった。

以上のように、DEP やそれ以外の粒子についても、実験的には、ラットで肺腫瘍の増加を認める知見もあり、発がん性を示唆するものがある。遺伝子傷害性の検討結果は、DEP、CAPs などいずれも DNA 付加体生成や遺伝子の変異につながる DNA 変異を観察しており、粒子を構成する成分との詳細な検討がないものの、発がん機構を説明できる所見が報告されている。しかし、これらの成果には、実験動物の種差が大きいこと、高濃度曝露であることなどから、ヒトへの外挿にあたっては十分に留意する必要がある。

8.6 粒子成分と健康影響の関係

8.6.1 吸入曝露に関するまとめ

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を用いて、微小粒子状物質を吸入曝露し、粒子成分による影響を比較した研究が行われている。粒子成分としては、CAPs、CBP、CAPs に含まれる金属成分、元素状炭素や有機炭素、硫酸塩、Si、TiO₂、DEP、PAH などの DEP 抽出物などが検討されている。

CAPs を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、血中の好中球と肺胞洗浄のマクロファージの増加は V や Ni と関連していた。肺胞洗浄液の好中球の増加は、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イオウ濃度との間に負の相関がみられた。ラットに CAPs を曝露すると、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。また、ラットに CAPs を吸入曝露した他の研究では、肺と心臓の化学発光量(酸化ストレスの指標)が上昇し、肺の化学発光量は 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。

オタワ標準粉じん EHC-93 とそれを水ろ過した EHC-93L、Diesel soot(DS)、CBP をラットに吸入(鼻部)曝露すると、EHC-93 曝露後、血圧、エンドセリン(ET)-1、ET-3 が上昇した。EHC-93L では血圧に明確な影響はなかったが、ET-1 及び ET-2 では増加した。DS 曝露では ET-3 が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ず、都市大気や自動車に由来する粒子成分の強い影響が示唆されていた。

犬の冠動脈閉塞(虚血性心疾患)モデルを用いた検討では、冠動脈閉塞による V4、V5 誘導における ST 上昇は、粒子濃度には相関はなく、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 濃度との間のみ相関を認めた。

正常ラットと SO₂ による慢性気管支炎ラットに CAPs を吸入曝露すると、BALF 中の好中球が増加し、V、Br、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関したが、塩素濃度とは相関しなかった。この結果は慢性気管支炎動物において顕著であった。BALF 中

のタンパク質濃度も、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、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、元素状炭素、有機炭素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。一方、慢性気管支炎ラットに CAPs を吸入曝露したところ、BALF 中タンパク質、アルブミン、NAG 活性、好中球数が増加したが、CAPs 濃度、硫酸塩または基本的構成要素(S、Zn、Mn、および Fe)には関連が見られなかったという報告もある。Al や Cu と生体影響との影響が示唆されていた。また、慢性気管支炎ラットおよび正常ラットの小肺動脈の形態変化を検討した報告では、全てのラットの解析で、粒子の質量、Si、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素が多いほど、管腔/壁の割合(L/W 比)が減少した。単変量解析では、H₂SO₄ との関連は正常ラットにのみ有意であり、Si は慢性気管支炎、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。

アレルギー性喘息モデルマウスへ CAPs と O₃ を曝露した検討では、CAPs 単独曝露によりメサコリン応答性 Penh の濃度依存的な上昇が見られ、Al、Si 含有率と Penh の上昇の間に相関が認められた。

DEP やガソリン排気成分の影響については、DEP の成分として、固形成分の炭粉と有機溶媒可溶成分の各々について検討されている。炭粉または有機溶媒で洗浄した DEP の吸入または経気道投与によってラットに肺腫瘍の発生が確認されているが、DE または DEP 曝露による肺腫瘍発生率との差はなく、生物学的には不活性である TiO₂ 粒子曝露によっても同様の肺腫瘍発生状況であった。さらに、生物学的には不活性である二酸化チタン (TiO₂) 粒子曝露によっても同様の肺腫瘍発生状況であったことなどから、粉じんの過剰曝露 (overload exposure) によるラットに特異的な反応であるとの指摘もある。

一方、有機溶媒可溶成分は、マウスへの皮膚塗布などにより発がん性が認められ、また、DE あるいは DEP 曝露によって、PAH 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、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。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、DEP 直接変異原性はより強い変異原活性を有している。細菌や哺乳類の培養細胞の研究から、DEP の直接変異原物質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ことは明らかである (「5.発がん影響および遺伝子傷害性」を参照)。

DEP によるアジュバント効果はそれを構成するカーボンのみでも、PAH 類のみでもみられている。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が報告されている (「3.免疫系、血液への影響」を参照)。

8.6.2 気管内投与に関するまとめ

正常ラット、正常マウス、アレルギー性喘息モデルマウスなどを用いて、粒子成分による影響の差異を比較する研究が行われている。粒子成分としては、TSP、ROFA、DEP や、

それら微小粒子状物質に含まれている金属成分、硫酸塩、エンドトキシンなどに着目されている。

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。また、アレルギー性炎症モデルとしては、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ていた。一方、都市部工業地帯と郊外より採集した PM(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 PM 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、窒素酸化物やイオウ酸化物など)の関与を示唆する報告もある。

ROFA など燃焼に伴って発生する粒子状物質成分の影響に関しては、2 種類の ROFA の上清をラットに気管内投与した試験の結果から、ROFA 中の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影響を与えることが想定されている。火力発電所の異なる部位から採集された ROFA をラットの気管内に投与した検討では、BALF 中のタンパク質、ヘモグロビン、LDH 量は Ni や Fe の含量と関連し、好中球数と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、ROFA による肺の炎症作用、マクロファージの活性化と V の関連と ROFA による障害作用と Ni の関連が示唆されている。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投与すると、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、金属に関しては、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という。ROFA 投与後、MIP-2、IL-1β、IL-5、IL-6、VCAM-1、E-selectin の遺伝子発現が増加し、特に Ni の影響が長期間にわたってみられ、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唆されている。

アレルギー性炎症モデルとしては、アレルゲン特異的 IgE 産生が、ROFA、Ni、V、金属混合の気管内投与により増悪した。気道反応性は Ni により増悪し、好酸球浸潤は ROFA と Fe により増悪した。肺における IL-5 は ROFA、Ni、V で増加が認められた。

ラットに EPM 全体と EPM 水溶性成分の成分、ZnSO₄水溶液の気管内投与をした検討では、BALF 中へのタンパク質漏出や炎症細胞(好中球)浸潤が誘導され、水溶性 Zn 成分の重要性が示唆されていた。

DEP あるいは CB を感染モデル動物へ気管内投与した検討では、リステリア菌のクリアランスが CB 投与では影響がみられなかったが、DEP 投与では、クリアランスに遅延がみられた。DEP と CB の反応性の違いは有機成分の違いにあり、DEP はマクロファージの異物に対する反応性を減弱させ、呼吸器感染症のリスクを増加させる可能性があることが示唆されていた。

以上、粒子(粒子量)、また、その成分として元素炭素、有機炭素、 H_2SO_4 、Br、Cl、 NH_3 、ピレン、金属(Al、V、Ni、Fe、Si、Pb、Ca、Mn、Cu、Zn、Mg、Ti、La、Cd、In、Co等)、あるいは、エンドトキシンの重要性を示唆する論文や、都市、工業地域、交通に由来する汚染物質の強影響性、 O_3 、 NO_2 、 SO_2 等の他の大気汚染物質と粒子成分の相加、相乗影響の存在を示唆する論文もある。しかし、結果は必ずしも一様ではない。

8.7 粒径と健康影響との関係

8.7.1 吸入曝露に関するまとめ

大気中粒子状物質の吸入曝露による影響に関しては、OVA感作したマウスを用い自動車排気粒子を含む濃縮 fine ($<2.5\mu\text{m}$) 及び濃縮 ultrafine ($<0.15\mu\text{m}$) PM に曝露し、アレルギー反応への影響を検討した結果からは、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が認められ、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が示唆された。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。

8.7.2 気管内投与に関するまとめ

① 化学組成はおなじだが粒径が異なる粒子

超微小 CB 粒子の気管内投与による反復投与は、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や、超微小 CB 粒子の気管内投与は、CB 粒子では認められない強い炎症を誘導することが示唆された。

② 粒径により化学組成が異なると考えられる粒子

ROFA の気管内投与による影響に関しては、マウスに石炭燃焼粒子を気管内投与したところ、毒性はより小さいサイズの粒子の方が大きいとの結果が示されていたが、用いた石炭の産地により、成分が異なる可能性が有ることに留意する必要があると、毒性に S 成分と微量元素成分の違いも関連することが示唆された。

大気中粒子状物質による気管内投与の影響に関しては、都市部工業地帯と郊外より採集した CAPs(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 PM が肺に強く炎症を誘導し、メカニズムとして、エンドトキシンや他の汚染物質(O_3 、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。また、アレルギー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検討した結果では、CAPs の効果は、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く、fine PM の方が coarse PM より増強効果が高いこと、PM を採取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もつことが示唆された。このヨーロッパ 4 都市で採取した PM の生

体影響の解析を化学成分などにより分類し、検討した結果からは、PM は多方面の生物学的反応と関連し PM の健康影響には多くの機構が関与している可能性があること、fine PM に多くみられる燃焼由来の PM は気道のアレルギーと、また、coarse PM に多く見られる地殻に含まれる成分を含む PM は肺の炎症や毒性と関係している可能性があることが示唆された。

以上のことから、より微小な粒子がより強い生体影響を発揮しうることを示唆する報告が複数みられた。しかし、逆に、粗大な粒子の影響が強いという報告も存在した。特に、現実の大気中粒子に関しては、その粒径が異なる場合には、化学的組成や生物学的組成が同時に異なることもありうるため、粒径と共にその組成が生体影響および影響機構に寄与している可能性があることを考慮する必要がある。

9. 引用文献

- Abraham, W.M., Kim, C.S., Januszkiewicz, A.J., Welker, M., Mingle, M. & Schreck, R. (1980) Effects of a brief low-level exposure to the particulate fraction of diesel exhaust on pulmonary function of conscious sheep. *Archives of Environmental Health*, 35, 77-80.
- Adamson, I.Y. & Bowden, D.H. (1981) Dose response of the pulmonary macrophagic system to various particulates and its relationship to transepithelial passage of free particles. *Experimental Lung Research*, 2, 165-175.
- Alarie, Y., Busey, W.M., Krumm, A.A. & Ulrich, C.E. (1973) Long-term continuous exposure to sulfuric acid mist in cynomolgus monkeys and guinea pigs. *Archives of Environmental Health*, 27, 16-24.
- Alessandrini, F., Schulz, H., Takenaka, S., Lentner, B., Karg, E., Behrendt, H. & Jakob, T. (2006) Effects of ultrafine carbon particle inhalation on allergic inflammation of the lung. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 824-830.
- Amdur, M.O. (1958) The respiratory response of guinea pigs to sulfuric acid mist. *AMA Arch Ind Health*, 18, 407-414.
- Amdur, M.O. & Corn, M. (1963) The Irritant Potency of Zinc Ammonium Sulfate of Different Particle Sizes. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 24, 326-333.
- Amdur, M.O., Dubriel, M. & Creasia, D.A. (1978) Respiratory response of guinea pigs to low levels of sulfuric acid. *Environmental Research*, 15, 418-423.
- Bagate, K., Meiring, J.J., Gerlofs-Nijland, M.E., Cassee, F.R., Wiegand, H., Osornio-Vargas, Á.R. & Borm, P.J. (2006) Ambient particulate matter affects cardiac recovery in a Langendorff ischemia model. *Inhalation Toxicology*, 18, 633-643.
- Bagate, K., Meiring, J.J., Gerlofs-Nijland, M.E., Vincent, R., Cassee, F.R. & Borm, P.J. (2004) Vascular effects of ambient particulate matter instillation in spontaneous hypertensive rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 197, 29-39.
- Barnhart, M.I., Chen, S.T., Salley, S.O. & Puro, H. (1981) Ultrastructure and morphometry of the alveolar lung of guinea pigs chronically exposed to diesel engine exhaust: six month's experience. *Journal of Applied Toxicology*, 1, 88-103.
- Barnhart, M.I., Salley, S.O., Chen, S.T. & Puro, H. (1982) Morphometric ultrastructural analysis of alveolar lungs of guinea pigs chronically exposed by inhalation to diesel exhaust (DE). *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 10, 183-200.
- 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.
- Bice, D.E., Mauderly, J.L., Jones, R.K. & McClellan, R.O. (1985) Effects of inhaled diesel exhaust on immune responses after lung immunization. *Fundamental and Applied Toxicology*, 5, 1075-1086.
- Bond, J.A., J.R., H., R.F., H., J.L., M., R.O., M. & Wolff, R.K. (1989) Molecular dosimetry of inhaled diesel exhaust. In *Assessment of inhalation hazards*, Mohr, U. (ed) pp. 315-324. Springer-Verlag: New York.
- Bond, J.A., Johnson, N.F., Snipes, M.B. & Mauderly, J.L. (1990) DNA adduct formation in rat alveolar type II cells: cells potentially at risk for inhaled diesel exhaust. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16, 64-69.
- Bond, J.A., Wolff, R.K., Harkema, J.R., Mauderly, J.L., Henderson, R.F., Griffith, W.C. & McClellan, R.O. (1988) Distribution of DNA adducts in the respiratory tract of rats

- exposed to diesel exhaust. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 96, 336-346.
- Borm, P.J. & Driscoll, K. (1996) Particles, inflammation and respiratory tract carcinogenesis. *Toxicology Letters*, 88, 109-113.
- Bouthillier, L., Vincent, R., Goegan, P., Adamson, I.Y., Bjarnason, S., Stewart, M., Guénette, J., Potvin, M. & Kumarathasan, P. (1998) Acute effects of inhaled urban particles and ozone: lung morphology, macrophage activity, and plasma endothelin-1. *American Journal of Pathology*, 153, 1873-1884.
- Brightwell, J., Fouillet, X., Cassano-Zoppi, A.L., Bernstein, D., Crawley, F., Duchosal, F., Gatz, R., Perczel, S. & Pfeifer, H. (1989) Tumours of the respiratory tract in rats and hamsters following chronic inhalation of engine exhaust emissions. *Journal of Applied Toxicology*, 9, 23-31.
- Brightwell, J., Fouillet, X., Cassano-Zoppi, A.L., Gatz, R. & Duchosal, F. (1986) Neoplastic and functional changes in rodents after chronic inhalation of engine exhaust emissions. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 13, 471-485.
- Burchiel, S.W., Lauer, F.T., McDonald, J.D. & Reed, M.D. (2004) Systemic immunotoxicity in AJ mice following 6-month whole body inhalation exposure to diesel exhaust. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 196, 337-345.
- Campbell, A., Oldham, M., Becaria, A., Bondy, S.C., Meacher, D., Sioutas, C., Misra, C., Mendez, L.B. & Kleinman, M. (2005) Particulate matter in polluted air may increase biomarkers of inflammation in mouse brain. *Neurotoxicology*, 26, 133-140.
- Campbell, K.I., George, E.L. & Washington, I.S. (1981) Enhanced susceptibility to infection in mice after exposure to diluted exhaust from light duty diesel engines. *Environment International*, 5, 377-382.
- Campan, M.J., Costa, D.L. & Watkinson, W.P. (2000) Cardiac and thermoregulatory toxicity of residual oil fly ash in cardiopulmonary-compromised rats. *Inhalation Toxicology*, 12, 7-22.
- Campan, M.J., McDonald, J.D., Gigliotti, A.P., Seilkop, S.K., Reed, M.D. & Benson, J.M. (2003) Cardiovascular effects of inhaled diesel exhaust in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Toxicol*, 3, 353-361.
- Campan, M.J., Nolan, J.P., Schladweiler, 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.
- Campan, M.J., Nolan, J.P., Schladweiler, M.C., Kodavanti, U.P., Evansky, P.A., Costa, D.L. & Watkinson, W.P. (2001) Cardiovascular and thermoregulatory effects of inhaled PM-associated transition metals: a potential interaction between nickel and vanadium sulfate. *Toxicological Sciences*, 64, 243-252.
- Cassee, F.R., Dormans, J.A.M.A., Van Loveren, H., Van Bree, L. & Rombout, P.J.A. (1997) 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. (1998a) 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. (1998b) 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.
- Chaudhari, A., Farrer, R.G. & Dutta, S. (1981) Effect of exposure to diesel exhaust on

- pulmonary prostaglandin dehydrogenase (PGDH) activity. *Journal of Applied Toxicology*, 1, 132-134.
- Chen, L.C. & Hwang, J.S. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. IV. Characterization of acute and chronic effects of ambient air fine particulate matter exposures on heart-rate variability. *Inhalation Toxicology*, 17, 209-216.
- Chen, L.C. & Nadziejko, C. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. V. CAPs exacerbate aortic plaque development in hyperlipidemic mice. *Inhalation Toxicology*, 17, 217-224.
- Cheng, T.J., Hwang, J.S., Wang, P.Y., Tsai, C.F., Chen, C.Y., Lin, S.H. & Chan, C.C. (2003) Effects of concentrated ambient particles on heart rate and blood pressure in pulmonary hypertensive rats. *Environmental Health Perspectives*, 111, 147-150.
- Clarke, R.W., Catalano, P., Coull, B., Koutrakis, P., Krishna Murthy, G., Rice, T. & Godleski, J.J. (2000a) Age-related responses in rats to concentrated urban air particles (CAPs). *Inhalation Toxicology*, 12, 73-84.
- Clarke, R.W., Catalano, P.J., Koutrakis, P., Murthy, G.G., Sioutas, C., Paulauskis, J., Coull, B., Ferguson, S. & Godleski, J.J. (1999) Urban air particulate inhalation alters pulmonary function and induces pulmonary inflammation in a rodent model of chronic bronchitis. *Inhalation Toxicology*, 11, 637-656.
- 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. (2000b) Inhaled concentrated ambient particles are associated with hematologic and bronchoalveolar lavage changes in canines. *Environmental Health Perspectives*, 108, 1179-1187.
- Dasenbrock, C., Peters, L., Creutzenberg, O. & Heinrich, U. (1996) The carcinogenic potency of carbon particles with and without PAH after repeated intratracheal administration in the rat. *Toxicology Letters*, 88, 15-21.
- de Haar, C., Hassing, I., Bol, M., Bleumink, R. & Pieters, R. (2005) Ultrafine carbon black particles cause early airway inflammation and have adjuvant activity in a mouse allergic airway disease model. *Toxicological Sciences*, 87, 409-418.
- 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.
- Dorman, D.C., McManus, B.E., Parkinson, C.U., Manuel, C.A., McElveen, A.M. & Everitt, J.I. (2004) Nasal toxicity of manganese sulfate and manganese phosphate in young male rats following subchronic (13-week) inhalation exposure. *Inhalation Toxicology*, 16, 481-488.
- Dormans, J.A., Steerenberg, P.A., Arts, J.H., van Bree, L., de Klerk, A., Verlaan, A.P., Bruijntjes, J.P., Beekhof, P., van Soolingen, D. & van Loveren, H. (1999) Pathological and immunological effects of respirable coal fly ash in male Wistar rats. *Inhalation Toxicology*, 11, 51-69.
- Dreher, K.L., Jaskot, R.H., Lehmann, J.R., Richards, J.H., McGee, J.K., Ghio, A.J. & Costa, D.L. (1997) Soluble transition metals mediate residual oil fly ash induced acute lung injury. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 50, 285-305.
- Duffin, R., Gilmour, P.S., Schins, R.P., Clouter, A., Guy, K., Brown, D.M., MacNee, W., Borm, P.J., Donaldson, K. & Stone, V. (2001) Aluminium lactate treatment of DQ12 quartz inhibits its ability to cause inflammation, chemokine expression, and nuclear factor-kappaB activation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 176, 10-17.
- Dybing, E., Lovdal, T., Hetland, R.B., Lovik, M. & Schwarze, P.E. (2004) Respiratory allergy adjuvant and inflammatory effects of urban ambient particles. *Toxicology*, 198,

307-314.

- Dye, J.A., Lehmann, J.R., McGee, J.K., Winsett, D.W., Ledbetter, A.D., Everitt, J.I., Ghio, A.J. & Costa, D.L. (2001) Acute pulmonary toxicity of particulate matter filter extracts in rats: coherence with epidemiologic studies in Utah Valley residents. *Environmental Health Perspectives*, 109 Suppl 3, 395-403.
- Dziedzic, D. (1981) Differential counts of B and T lymphocytes in the lymph nodes, circulating blood and spleen after inhalation of high concentrations of diesel exhaust. *Journal of Applied Toxicology*, 1, 111-115.
- Elder, A., Couderc, J.P., Gelein, R., Eberly, S., Cox, C., Xia, X., Zareba, W., Hopke, P., Watts, W., Kittelson, D., Frampton, M., Utell, M. & Oberdorster, G. (2007) Effects of on-road highway aerosol exposures on autonomic responses in aged, spontaneously hypertensive rats. *Inhalation Toxicology*, 19, 1-12.
- Elder, A., Gelein, R., Finkelstein, J., Phipps, R., Frampton, M., Utell, M., Kittelson, D.B., Watts, W.F., Hopke, P., Jeong, C.H., Kim, E., Liu, W., Zhao, W., Zhuo, L., Vincent, R., Kumarathasan, P. & Oberdorster, G. (2004a) On-road exposure to highway aerosols. 2. Exposures of aged, compromised rats. *Inhalation Toxicology*, 16 Suppl 1, 41-53.
- Elder, A.C., Gelein, R., Azadniv, M., Frampton, M., Finkelstein, J. & Oberdorster, G. (2004b) Systemic effects of inhaled ultrafine particles in two compromised, aged rat strains. *Inhalation Toxicology*, 16, 461-471.
- Elder, A.C.P., Gelein, R., Finkelstein, J.N., Cox, C. & Oberdorster, G. (2000a) Endotoxin priming affects the lung response to ultrafine particles and ozone in young and old rats. *Inhalation Toxicology*, 12, 85-98.
- Elder, A.C.P., Gelein, R., Finkelstein, J.N., Cox, C. & Oberdorster, G. (2000b) Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin. *Inhalation Toxicology*, 12, 227-246.
- 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.
- Fernandez, A., Wendt, J.O., Wolski, N., Hein, K.R., Wang, S. & Witten, M.L. (2003) Inhalation health effects of fine particles from the co-combustion of coal and refuse derived fuel. *Chemosphere*, 51, 1129-1137.
- Finch, G.L., Hobbs, C.H., Blair, L.F., Barr, E.B., Hahn, F.F., Jaramillo, R.J., Kubatko, J.E., March, T.H., White, R.K., Krone, J.R., Ménache, M.G., Nikula, K.J., Mauderly, J.L., Van Gerpen, J., Merceica, M.D., Zielinska, B., Stankowski, L., Burling, K. & Howell, S. (2002) Effects of subchronic inhalation exposure of rats to emissions from a diesel engine burning soybean oil-derived biodiesel fuel. *Inhalation Toxicology*, 14, 1017-1048.
- Fujimaki, H., Nohara, O., Ichinose, T., Watanabe, N. & Saito, S. (1994) IL-4 production in mediastinal lymph node cells in mice intratracheally instilled with diesel exhaust particulates and antigen. *Toxicology*, 92, 261-268.
- Fujimaki, H., Saneyoshi, K., Nohara, O., Shiraishi, F. & Imai, T. (1995) Intranasal instillation of diesel exhaust particulates and antigen in mice modulated cytokine productions in cervical lymph node cells. *International Archives of Allergy and Immunology*, 108, 268-273.
- Fujimaki, H., Saneyoshi, K., Shiraishi, F., Imai, T. & Endo, T. (1997) Inhalation of diesel exhaust enhances antigen-specific IgE antibody production in mice. *Toxicology*, 116, 227-233.
- Fujimaki, H., Yamamoto, S. & Kurokawa, Y. (2005) Effect of diesel exhaust on immune responses in C57BL/6 mice intranasally immunized with pollen antigen. *J Uoeh*, 27, 11-24.

- Gallagher, J., George, M., Kohan, M., Thompson, C., Shank, T. & Lewtas, J. (1993) Detection and comparison of DNA adducts after in vitro and in vivo diesel emission exposures. *Environmental Health Perspectives*, 99, 225-228.
- Gallagher, J., Heinrich, U., George, M., Hendee, L., Phillips, D.H. & Lewtas, J. (1994) Formation of DNA adducts in rat lung following chronic inhalation of diesel emissions, carbon black and titanium dioxide particles. *Carcinogenesis*, 15, 1291-1299.
- 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.
- Gerlofs-Nijland, M.E., Boere, A.J., Leseman, D.L., Dormans, J.A., Sandström, T., Salonen, R.O., van Bree, L. & Cassee, F.R. (2005) Effects of particulate matter on the pulmonary and vascular system: time course in spontaneously hypertensive rats. *Part Fibre Toxicol*, 2, 2.
- Ghio, A.J., Carter, J.D., Richards, J.H., Crissman, K.M., Bobb, H.H. & Yang, F. (2000) Diminished injury in hypotransferrinemic mice after exposure to a metal-rich particle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 278, L1051-1061.
- Ghio, A.J., Richards, J.H., Dittrich, K.L. & Samet, J.M. (1998) Metal storage and transport proteins increase after exposure of the rat lung to an air pollution particle. *Toxicologic Pathology*, 26, 388-394.
- Ghio, A.J., Stonehuerner, J., Dailey, L.A. & Carter, J.D. (1999) Metals associated with both the water-soluble and insoluble fractions of an ambient air pollution particle catalyze an oxidative stress. *Inhalation Toxicology*, 11, 37-49.
- 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.
- Gilmour, M.I., Taylor, F.G., Baskerville, A. & Wathes, C.M. (1989) The effect of titanium dioxide inhalation on the pulmonary clearance of *Pasteurella haemolytica* in the mouse. *Environmental Research*, 50, 157-172.
- Godleski, J.J., Verrier, R.L., Koutrakis, P., Catalano, P., Coull, B., Reinisch, U., Lovett, E.G., Lawrence, J., Murthy, G.G., Wolfson, J.M., Clarke, R.W., Nearing, B.D. & Killingsworth, C. (2000) Mechanisms of morbidity and mortality from exposure to ambient air particles. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-88; discussion 89-103.
- Goldsmith, C.A., Ning, Y., Qin, G., Imrich, A., Lawrence, J., Murthy, G.G., Catalano, P.J. & Kobzik, L. (2002) Combined air pollution particle and ozone exposure increases airway responsiveness in mice. *Inhalation Toxicology*, 14, 325-347.
- Gordon, T., Nadziejko, C., Chen, L.C. & Schlesinger, R. (2000) Effects of concentrated ambient particles in rats and hamsters: an exploratory study. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-34; discussion 35-42.
- Gordon, T., Nadziejko, C., Schlesinger, R. & Chen, L.C. (1998) Pulmonary and cardiovascular effects of acute exposure to concentrated ambient particulate matter in rats. *Toxicology Letters*, 96-97, 285-288.
- Goto, Y., Ishii, H., Hogg, J.C., Shih, C.H., Yatera, K., Vincent, R. & van Eeden, S.F. (2004) Particulate matter air pollution stimulates monocyte release from the bone marrow. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 170, 891-897.

- Granum, B., Gaarder, P.I., Groeng, E., Leikvold, R., Namork, E. & Lovik, M. (2001a) Fine particles of widely different composition have an adjuvant effect on the production of allergen-specific antibodies. *Toxicology Letters*, 118, 171-181.
- Granum, B., Gaarder, P.I. & Løvik, M. (2001b) IgE adjuvant effect caused by particles - immediate and delayed effects. *Toxicology*, 156, 149-159.
- Green, F.H., Boyd, R.L., Danner-Rabovsky, J., Fisher, M.J., Moorman, W.J., Ong, T.M., Tucker, J., Vallyathan, V., Whong, W.Z., Zoldak, J. & et al. (1983) Inhalation studies of diesel exhaust and coal dust in rats. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 9, 181-188.
- Grimmer, G., Brune, H., Dettbarn, G., Jacob, J., Misfeld, J., Mohr, U., Naujack, K.-W., Timm, J. & Wenzel-Hartung, R. (1991) Relevance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 339, 792-795.
- Grimmer, G., Brune, H., Deutsch-Wenzel, R., Dettbarn, G., Jacob, J., Naujack, K.W., Mohr, U. & Ernst, H. (1987) Contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitro-derivatives to the carcinogenic impact of diesel engine exhaust condensate evaluated by implantation into the lungs of rats. *Cancer Letters*, 37, 173-180.
- Gross, K.B. (1981) Pulmonary function testing of animals chronically exposed to diluted diesel exhaust. *Journal of Applied Toxicology*, 1, 116-123.
- Gunnison, A. & Chen, L.C. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. VI. Gene expression in heart and lung tissue. *Inhalation Toxicology*, 17, 225-233.
- 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.
- Hahon, N., Booth, J.A., Green, F. & Lewis, T.R. (1985) Influenza virus infection in mice after exposure to coal dust and diesel engine emissions. *Environmental Research*, 37, 44-60.
- Hamada, K., Goldsmith, C.A., Goldman, A. & Kobzik, L. (2000) Resistance of very young mice to inhaled allergen sensitization is overcome by coexposure to an air-pollutant aerosol. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 1285-1293.
- Hamada, K., Goldsmith, C.A. & Kobzik, L. (1999) Increased airway hyperresponsiveness and inflammation in a juvenile mouse model of asthma exposed to air-pollutant aerosol. *J Toxicol Environ Health A*, 58, 129-143.
- Harder, V., Gilmour, P., Lentner, B., Karg, E., Takenaka, S., Ziesenis, A., Stampfl, A., Kodavanti, U., Heyder, J. & Schulz, H. (2005) Cardiovascular responses in unrestrained WKY rats to inhaled ultrafine carbon particles. *Inhalation Toxicology*, 17, 29-42.
- Harkema, J.R., Keeler, G., Wagner, J., Morishita, M., Timm, E., Hotchkiss, J., Marsik, F., Dvonch, T., Kaminski, N. & Barr, E. (2004) Effects of concentrated ambient particles on normal and hypersecretory airways in rats. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-68; discussion 69-79.
- Harrod, K.S., Jaramillo, R.J., Berger, J.A., Gigliotti, A.P., Seilkop, S.K. & Reed, M.D. (2005) Inhaled diesel engine emissions reduce bacterial clearance and exacerbate lung disease to *Pseudomonas aeruginosa* infection in vivo. *Toxicological Sciences*, 83, 155-165.
- Hashimoto, K., Ishii, Y., Uchida, Y., Kimura, T., Masuyama, K., Morishima, Y., Hirano, K., Nomura, A., Sakamoto, T., Takano, H., Sagai, M. & Sekizawa, K. (2001) Exposure to diesel exhaust exacerbates allergen-induced airway responses in guinea pigs.

- American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 164, 1957-1963.
- 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.
- Heinrich, U., Fuhst, R., Dasenbrock, C. & et al. (1992) Long term inhalation exposure of rats and mice to diesel exhaust, carbon black and titanium dioxide. In *The Ninth Health Effects Institute Annual Conference Program Monterey, C.A. (ed): Cambridge*.
- Heinrich, U., Mohr, U., Fuhst, R. & Brockmeyer, C. (1989) Investigation of a potential cotumorogenic effect of the dioxides of nitrogen and sulfur, and of diesel-engine exhaust, on the respiratory tract of Syrian golden hamsters. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-27.
- Heinrich, U., Muhle, H., Takenaka, S., Ernst, H., Fuhst, R., Mohr, U., Pott, F. & Stöber, W. (1986a) Chronic effects on the respiratory tract of hamsters, mice and rats after long-term inhalation of high concentrations of filtered and unfiltered diesel engine emissions. *Journal of Applied Toxicology*, 6, 383-395.
- Heinrich, U., Peters, L., Funcke, W., Pott, F., Mohr, U. & Stöber, W. (1982) Investigation of toxic and carcinogenic effects of diesel exhaust in long-term inhalation exposure of rodents. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 10, 225-242.
- Heinrich, U., Pott, F., Mohr, U. & Stöber, W. (1985) Experimental methods for the detection of the carcinogenicity and/or cocarcinogenicity of inhaled polycyclic-aromatic-hydrocarbon-containing emissions. *Carcinogenesis: A Comprehensive Survey*, 8, 131-146.
- 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., Pott, F. & Roller, M. (1991) Polycyclic aromatic hydrocarbons-Animal results and epidemiological findings relevant to risk assessment, In: *Carcinogenic substances in the environment: Origin, measurement, risk, minimization*. In Meeting of the Commission for Clean Air of the Society of German Engineers (VDI) and the German Standards Institute (DIN) pp. 71-92. Dusseldorf, Society of German Engineers Press: Mannheim, 23-25 April.
- 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.
- Henderson, R.F., Pickrell, J.A., Jones, R.K., Sun, J.D., Benson, J.M., Mauderly, J.L. & McClellan, R.O. (1988) Response of rodents to inhaled diluted diesel exhaust: Biochemical and cytological changes in bronchoalveolar lavage fluid and in lung tissue. *Fundamental and Applied Toxicology*, 11, 546-567.
- Heyder, J., Beck-Speier, I., Busch, B., Dirscherl, P., Heilmann, P., Ferron, G.A., Josten, M., Karg, E., Kreyling, W.G., Lenz, A.G., Maier, K.L., Miaskowski, U., Platz, S., Reitmeir, P., Schulz, H., Takenaka, S. & Ziesenis, A. (1999) Health effects of sulfur-related environmental air pollution. I. Executive summary. *Inhalation Toxicology*, 11, 343-359.
- Hiramatsu, K., Azuma, A., Kudoh, S., Desaki, M., Takizawa, H. & Sugawara, I. (2003) Inhalation of diesel exhaust for three months affects major cytokine expression and induces bronchus-associated lymphoid tissue formation in murine lungs. *Experimental Lung Research*, 29, 607-622.
- Hiramatsu, K., Saito, Y., Sakakibara, K., Azuma, A., Takizawa, H. & Sugawara, I. (2005)

- The effects of inhalation of diesel exhaust on murine mycobacterial infection. *Experimental Lung Research*, 31, 405-415.
- Hiruma, K., Terada, N., Hanazawa, T., Nomoto, M., Maesako, K., Konno, A. & Kobayashi, T. (1999) Effect of diesel exhaust on guinea pig nasal mucosa. *Annals of Otolaryngology and Laryngology*, 108, 582-588.
- Hollingsworth, J.W., 2nd, Cook, D.N., Brass, D.M., Walker, J.K., Morgan, D.L., Foster, W.M. & Schwartz, D.A. (2004) The role of Toll-like receptor 4 in environmental airway injury in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 170, 126-132.
- Hwang, J.S., Nadziejko, C. & Chen, L.C. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. III. Acute and chronic effects of CAPs on heart rate, heart-rate fluctuation, and body temperature. *Inhalation Toxicology*, 17, 199-207.
- Ichinose, T., Furuyama, A. & Sagai, M. (1995) Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). II. Acute toxicity of DEP introduced into lung by intratracheal instillation. *Toxicology*, 99, 153-167.
- Ichinose, T., Takano, H., Miyabara, Y. & Sagai, M. (1998) Long-term exposure to diesel exhaust enhances antigen-induced eosinophilic inflammation and epithelial damage in the murine airway. *Toxicological Sciences*, 44, 70-79.
- Ichinose, T., Takano, H., Miyabara, Y., Yanagisawa, R. & Sagai, M. (1997a) Murine strain differences in allergic airway inflammation and immunoglobulin production by a combination of antigen and diesel exhaust particles. *Toxicology*, 122, 183-192.
- Ichinose, T., Takano, H., Sadakane, K., Yanagisawa, R., Kawazato, H., Sagai, M. & Shibamoto, T. (2003) Differences in airway-inflammation development by house dust mite and diesel exhaust inhalation among mouse strains. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 187, 29-37.
- Ichinose, T., Takano, H., Sadakane, K., Yanagisawa, R., Yoshikawa, T., Sagai, M. & Shibamoto, T. (2004) Mouse strain differences in eosinophilic airway inflammation caused by intratracheal instillation of mite allergen and diesel exhaust particles. *Journal of Applied Toxicology*, 24, 69-76.
- Ichinose, T., Yajima, Y., Nagashima, M., Takenoshita, S., Nagamachi, Y. & Sagai, M. (1997b) 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. (1997c) Oxygen radicals in lung carcinogenesis accompanying phagocytosis of diesel exhaust particles. *International Journal of Oncology*, 11, 571-575.
- Inoue, K., Takano, H., Yanagisawa, R., Ichinose, T., Shimada, A. & Yoshikawa, T. (2005) Pulmonary exposure to diesel exhaust particles induces airway inflammation and cytokine expression in NC/Nga mice. *Archives of Toxicology*, 79, 595-599.
- Inoue, K., Takano, H., Yanagisawa, R., Sakurai, M., Ueki, N. & Yoshikawa, T. (2006) Effects of diesel exhaust on lung inflammation related to bacterial endotoxin in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 99, 346-352.
- Ishihara, Y. & Kagawa, J. (2002) Dose-response assessment and effect of particles in guinea pigs exposed chronically to diesel exhaust: analysis of various biological markers in pulmonary alveolar lavage fluid and circulating blood. *Inhalation Toxicology*, 14, 1049-1067.
- Ishihara, Y. & Kagawa, J. (2003) Chronic diesel exhaust exposures of rats demonstrate concentration and time-dependent effects on pulmonary inflammation. *Inhalation Toxicology*, 15, 473-492.
- 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.
- 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.
- Jakab, G.J., Clarke, R.W., Hemenway, D.R., Longphre, M.V., Kleeberger, S.R. & Frank, R. (1996) Inhalation of acid coated carbon black particles impairs alveolar macrophage phagocytosis. *Toxicology Letters*, 88, 243-248.
- Kang, Y.J., Li, Y., Zhou, Z., Roberts, A.M., Cai, L., Myers, S.R., Wang, L. & Schuchke, D.A. (2002) Elevation of serum endothelins and cardiotoxicity induced by particulate matter (PM_{2.5}) in rats with acute myocardial infarction. *Cardiovasc Toxicol*, 2, 253-261.
- 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.
- Kato, A., Nagai, A. & Kagawa, J. (2000) Morphological changes in rat lung after long-term exposure to diesel emissions. *Inhalation Toxicology*, 12, 469-490.
- 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.
- Killingsworth, C.R., Alessandrini, F., Krishna Murthy, G.G., Catalano, P.J., Paulauskis, J.D. & Godleski, J.J. (1997) Inflammation, chemokine expression, and death in monocrotaline-treated rats following fuel oil fly ash inhalation. *Inhalation Toxicology*, 9, 541-565.
- Kleinman, M. & Phalen, R. (2006) Toxicological interactions in the respiratory system after inhalation of ozone and sulfuric acid aerosol mixtures. *Inhalation Toxicology*, 18, 295-303.
- 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.
- Kleinman, M.T., Hyde, D.M., Bufalino, C., Basbaum, C., Bhalla, D.K. & Mautz, W.J. (2003) Toxicity of chemical components of fine particles inhaled by aged rats: effects of concentration. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 53, 1080-1087.
- Kobayashi, T. (2000) Exposure to diesel exhaust aggravates nasal allergic reaction in guinea pigs. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162, 352-356.
- Kobayashi, T., Ikeue, T. & Ikeda, A. (1998) Four-week exposure to diesel exhaust induces nasal mucosal hyperresponsiveness to histamine in guinea pigs. *Toxicological Sciences*, 45, 106-112.

- Kobayashi, T., Ikeue, T., Ito, T., Ikeda, A., Murakami, M., Kato, A., Maejima, K., Nakajima, T. & Suzuki, T. (1997) Short-term exposure to diesel exhaust induces nasal mucosal hyperresponsiveness to histamine in guinea pigs. *Fundamental and Applied Toxicology*, 38, 166-172.
- Kobayashi, T. & Ito, T. (1995) Diesel exhaust particulates induce nasal mucosal hyperresponsiveness to inhaled histamine aerosol. *Fundamental and Applied Toxicology*, 27, 195-202.
- Kobayashi, T. & Shinozaki, Y. (1993) Effects of exposure to sulfuric acid-aerosol on airway responsiveness in guinea pigs: concentration and time dependency. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 39, 261-272.
- 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., Jackson, M.C., Ledbetter, A.D., Richards, J.R., Gardner, S.Y., Watkinson, W.P., Campen, M.J. & Costa, D.L. (1999) Lung injury from intratracheal and inhalation exposures to residual oil fly ash in a rat model of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Toxicol Environ Health A*, 57, 543-563.
- Kodavanti, U.P., Jaskot, R.H., Bonner, J., Badgett, A. & Dreher, K.L. (1996) Eosinophilic lung inflammation in particulate-induced lung injury: technical consideration in isolating RNA for gene expression studies. *Experimental Lung Research*, 22, 541-554.
- 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. (2000a) Variable pulmonary responses from exposure to concentrated ambient air particles in a rat model of bronchitis. *Toxicological Sciences*, 54, 441-451.
- Kodavanti, U.P., Moyer, C.F., Ledbetter, A.D., Schladweiler, M.C., Costa, D.L., Hauser, R., Christiani, D.C. & Nyska, A. (2003) Inhaled environmental combustion particles cause myocardial injury in the Wistar Kyoto rat. *Toxicological Sciences*, 71, 237-245.
- Kodavanti, U.P., Schladweiler, M.C., Ledbetter, A.D., Hauser, R., Christiani, D.C., McGee, J., Richards, J.R. & Costa, D.L. (2002a) Temporal association between pulmonary and systemic effects of particulate matter in healthy and cardiovascular compromised rats. *J Toxicol Environ Health A*, 65, 1545-1569.
- Kodavanti, U.P., Schladweiler, M.C., Ledbetter, A.D., Hauser, R., Christiani, D.C., Samet, J.M., McGee, J., Richards, J.H. & Costa, D.L. (2002b) Pulmonary and systemic effects of zinc-containing emission particles in three rat strains: multiple exposure scenarios. *Toxicological Sciences*, 70, 73-85.
- Kodavanti, U.P., Schladweiler, M.C., Ledbetter, A.D., McGee, J.K., Walsh, L., Gilmour, P.S., Highfill, J.W., Davies, D., Pinkerton, K.E., Richards, J.H., Crissman, K., Andrews, D. & Costa, D.L. (2005) Consistent pulmonary and systemic responses from inhalation of fine concentrated ambient particles: roles of rat strains used and physicochemical properties. *Environmental Health Perspectives*, 113, 1561-1568.
- Kodavanti, U.P., Schladweiler, M.C., Ledbetter, A.D., Watkinson, W.P., Campen, M.J., Winsett, D.W., Richards, J.R., Crissman, K.M., Hatch, G.E. & Costa, D.L. (2000b)

- The spontaneously hypertensive rat as a model of human cardiovascular disease: evidence of exacerbated cardiopulmonary injury and oxidative stress from inhaled emission particulate matter. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 164, 250-263.
- 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.
- 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.
- Lambert, A.L., Dong, W., Selgrade, M.K. & Gilmour, M.I. (2000) Enhanced allergic sensitization by residual oil fly ash particles is mediated by soluble metal constituents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 165, 84-93.
- Lambert, A.L., Mangum, J.B., DeLorme, M.P. & Everitt, J.I. (2003a) Ultrafine carbon black particles enhance respiratory syncytial virus-induced airway reactivity, pulmonary inflammation, and chemokine expression. *Toxicological Sciences*, 72, 339-346.
- Lambert, A.L., Selgrade, M.K., Winsett, D.W. & Gilmour, M.I. (2001) TNF-alpha enhanced allergic sensitization to house dust mite in brown Norway rats. *Experimental Lung Research*, 27, 617-635.
- Lambert, A.L., Trasti, F.S., Mangum, J.B. & Everitt, J.I. (2003b) Effect of preexposure to ultrafine carbon black on respiratory syncytial virus infection in mice. *Toxicological Sciences*, 72, 331-338.
- Laurie, R.D. & Boyes, W.K. (1980) Neurophysiological alterations due to diesel exhaust exposure during the neonatal life of the rat. In *Health effects of diesel engine emissions : proceedings of International Symposium on the Health Effects of Diesel Engine Emissions, December 1979*, E.Pepelko, W., M.Danner, R. & A.Clarke, N. (eds). U.S. Environmental Protection Agency, Health Effects Research Laboratory: Cincinnati, Ohio.
- Laurie, R.D., Lewkowski, J.P., Cooper, G.P. & et al. (1978) Effects of diesel exhaust on behavior of the rat. In *71st annual meeting of the Air Pollution Control Association*. Air Pollution Control Association, Pittsburgh, PA: Houston, TX.
- Lee, I.P., Suzuki, K., Lee, S.D. & Dixon, R.L. (1980) Aryl hydrocarbon hydroxylase induction in rat lung, liver, and male reproductive organs following inhalation exposure to diesel emission. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 52, 181-184.
- Lee, M.M., Green, F.H., Roth, S.H., Karkhanis, A., Bjarnason, S.G. & Schürch, S. (1999) Sulfuric acid aerosol induces changes in alveolar surface tension in the guinea pig but not in the rat. *Experimental Lung Research*, 25, 229-244.
- Lei, Y.C., Chan, C.C., Wang, P.Y., Lee, C.T. & Cheng, T.J. (2004a) Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats. *Environmental Research*, 95, 71-76.
- Lei, Y.C., Chen, M.C., Chan, C.C., Wang, P.Y., Lee, C.T. & Cheng, T.J. (2004b) Effects of concentrated ambient particles on airway responsiveness and pulmonary inflammation in pulmonary hypertensive rats. *Inhalation Toxicology*, 16, 785-792.
- Lewis, D.A., Campbell, M.J. & Morrison, J.H. (1986) An immunohistochemical characterization of somatostatin-28 and somatostatin-281-12 in monkey prefrontal cortex. *Journal of Comparative Neurology*, 248, 1-18.

- Lewis, T.R., Green, F.H.Y., Moorman, W.J., Burg, J.R. & Lynch, D.W. (1989) A chronic inhalation toxicity study of diesel engine emissions and coal dust, alone and combined. *J Am Coll Toxicol* 8, 345-375.
- Lewkowski, J.P., Hastings, L., Vinegar, A., Leng, J. & Cooper, G.P. (1978) Inhalation of sulfate particulates. 1: Effects on growth, pulmonary function, and locomotor activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 45, 246.
- Li, X.Y., Gilmour, P.S., Donaldson, K. & MacNee, W. (1996) Free radical activity and pro-inflammatory effects of particulate air pollution (PM10) in vivo and in vitro. *Thorax*, 51, 1216-1222.
- 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.
- Lim, H.B., Ichinose, T., Miyabara, Y., Takano, H., Kumagai, Y., Shimojyo, N., Devalia, J.L. & Sagai, M. (1998) Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 25, 635-644.
- Lippmann, M., Gordon, T. & Chen, L.C. (2005a) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. I. Introduction, objectives, and experimental plan. *Inhalation Toxicology*, 17, 177-187.
- Lippmann, M., Gordon, T. & Chen, L.C. (2005b) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles in mice. IX. Integral assessment and human health implications of subchronic exposures of mice to CAPs. *Inhalation Toxicology*, 17, 255-261.
- Lippmann, M., Hwang, J.S., Maciejczyk, P. & Chen, L.C. (2005c) PM source apportionment for short-term cardiac function changes in ApoE^{-/-} mice. *Environmental Health Perspectives*, 113, 1575-1579.
- Liu, S.H., Wang, J.H., Chuu, J.J. & Lin-Shiau, S.Y. (2002) Alterations of motor nerve functions in animals exposed to motorcycle exhaust. *J Toxicol Environ Health A*, 65, 803-812.
- Liu, X. & Meng, Z. (2005) Effects of airborne fine particulate matter on antioxidant capacity and lipid peroxidation in multiple organs of rats. *Inhalation Toxicology*, 17, 467-473.
- Madden, M.C., Richards, J.H., Dailey, L.A., Hatch, G.E. & Ghio, A.J. (2000) Effect of ozone on diesel exhaust particle toxicity in rat lung. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 168, 140-148.
- Madden, M.C., Thomas, M.J. & Ghio, A.J. (1999) Acetaldehyde (CH₃CHO) production in rodent lung after exposure to metal-rich particles. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1569-1577.
- Madl, A.K., Wilson, D.W., Segall, H.J. & Pinkerton, K.E. (1998) Alteration in lung particle translocation, macrophage function, and microfilament arrangement in monocrotaline-treated rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 153, 28-38.
- Maejima, K., Tamura, K., Taniguchi, Y., Nagase, S. & Tanaka, H. (1997) Comparison of the effects of various fine particles on IgE antibody production in mice inhaling Japanese cedar pollen allergens. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 52, 231-248.
- 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., Gillett, N.A., Henderson, R.F., Jones, R.K. & McClellan, R.O. (1988) Relationships of lung structural and functional changes to accumulation of diesel

- exhaust particles. *Annals of Occupational Hygiene*, 32, 659-669.
- 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.
- McClellan, R.O., Bice, D.E., Cuddihy, R.G., Gillett, N.A., Henderson, R.F., Jones, R.K., Mauderly, J.L., Pickrell, J.A., Shami, S.G. & Wolff, R.K. (1986) Health effects of diesel exhaust. . In *Aerosols: research, risk assessment and control strategies: proceedings of the second US-Dutch international symposium; May 1985 Williamsburg, VA*, Lee, S.D., Schneider, T., Grant, L.D. & Verkerk, P.J. (eds) pp. 5. Lewis Publishers, Inc.: Chelsea, MI.
- Mentnech, M.S., Lewis, D.M., Olenchock, S.A., Mull, J.C., Koller, W.A. & Lewis, T.R. (1984) Effects of coal dust and diesel exhaust on immune competence in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 13, 31-41.
- Miyabara, Y., Ichinose, T., Takano, H., Lim, H.B. & Sagai, M. (1998a) Effects of diesel exhaust on allergic airway inflammation in mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 102, 805-812.
- Miyabara, Y., Ichinose, T., Takano, H. & Sagai, M. (1998b) Diesel exhaust inhalation enhances airway hyperresponsiveness in mice. *International Archives of Allergy and Immunology*, 116, 124-131.
- Miyabara, Y., Takano, H., Ichinose, T., Lim, H.B. & Sagai, M. (1998c) Diesel exhaust enhances allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 157, 1138-1144.
- Miyabara, Y., Yanagisawa, R., Shimojo, N., Takano, H., Lim, H.B., Ichinose, T. & Sagai, M. (1998d) Murine strain differences in airway inflammation caused by diesel exhaust particles. *European Respiratory Journal*, 11, 291-298.
- 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.
- Morishita, M., Keeler, G., Wagner, J., Marsik, F., Timm, E., Dvonch, J. & Harkema, J. (2004) Pulmonary retention of particulate matter is associated with airway inflammation in allergic rats exposed to air pollution in urban Detroit. *Inhalation Toxicology*, 16, 663-674.
- Moss, O.R., Gross, E.A., James, R.A., Janszen, D.B., Ross, P.W., Roberts, K.C., Howard, A.M., Harkema, J.R., Calderón-Garcidueñas, L. & Morgan, K.T. (2001) Respiratory tract toxicity in rats exposed to Mexico City air. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-24; discussion 25-29.
- 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. & Mauderly, J.L. (2000) Effect of inhaled residual oil fly ash on the electrocardiogram of dogs. *Inhalation Toxicology*, 12 Suppl 4, 189-208.
- Muranaka, M., Suzuki, S., Koizumi, K., Takafuji, S., Miyamoto, T., Ikemori, R. & Tokiwa, H. (1986) Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 77, 616-623.
- Murphy, S.A., BéruBé, K.A., Pooley, F.D. & Richards, R.J. (1998) The response of lung

- epithelium to well characterised fine particles. *Life Sciences*, 62, 1789-1799.
- Nadadur, S.S., Schladweiler, M.C. & Kodavanti, U.P. (2000) A pulmonary rat gene array for screening altered expression profiles in air pollutant-induced lung injury. *Inhalation Toxicology*, 12, 1239-1254.
- Nadziejko, C., Fang, K., Chen, L.C., Cohen, B., Karpatkin, M. & Nádas, A. (2002a) Effect of concentrated ambient particulate matter on blood coagulation parameters in rats. *Research Report / Health Effects Institute*, 7-29; discussion 31-28.
- Nadziejko, C., Fang, K., Nadziejko, E., Narciso, S.P., Zhong, M. & Chen, L.C. (2002b) Immediate effects of particulate air pollutants on heart rate and respiratory rate in hypertensive rats. *Cardiovasc Toxicol*, 2, 245-252.
- Nadziejko, C., Fang, K., Narciso, S., Zhong, M., Su, W.C., Gordon, T., Nádas, A. & Chen, L.C. (2004) Effect of particulate and gaseous pollutants on spontaneous arrhythmias in aged rats. *Inhalation Toxicology*, 16, 373-380.
- Nagai, A., Kakuta, Y., Ozawa, Y., Uno, H., Yasui, S., Konno, K., Kata, A. & Kagawa, J. (1996) Alveolar destruction in guinea pigs chronically exposed to diesel engine exhaust. A light- and electron-microscopic morphometry study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 153, 724-730.
- Nemmar, A., Delaunoy, A., Nemery, B., Dessy-Doizé, C., Beckers, J.F., Sulon, J. & Gustin, P. (1999) Inflammatory effect of intratracheal instillation of ultrafine particles in the rabbit: role of C-fiber and mast cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 160, 250-261.
- Nemmar, A., Hoet, P.H., Dinsdale, D., Vermeylen, J., Hoylaerts, M.F. & Nemery, B. (2003a) Diesel exhaust particles in lung acutely enhance experimental peripheral thrombosis. *Circulation*, 107, 1202-1208.
- Nemmar, A., Hoylaerts, M.F., Hoet, P.H., Dinsdale, D., Smith, T., Xu, H., Vermeylen, J. & Nemery, B. (2002) Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166, 998-1004.
- Nemmar, A., Hoylaerts, M.F., Hoet, P.H. & Nemery, B. (2004) Possible mechanisms of the cardiovascular effects of inhaled particles: systemic translocation and prothrombotic effects. *Toxicology Letters*, 149, 243-253.
- Nemmar, A., Nemery, B., Hoet, P.H., Vermeylen, J. & Hoylaerts, M.F. (2003b) Pulmonary inflammation and thrombogenicity caused by diesel particles in hamsters: role of histamine. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 168, 1366-1372.
- 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.
- Nikula, K.J., Snipes, M.B., Barr, E.B., RF, W.C.G.H. & L.Mauderly, J. (1994) Influence of particle-associated Organic compounds on the carcinogenicity of diesel exhaust. In *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract*, Mohr, U., Dungworth, D.L., Mauderly, J.L. & Oberdorster, G. (eds) pp. 565-568. International Life Sciences Institute Press: Washington, DC.
- Nurkiewicz, T.R., Porter, D.W., Barger, M., Castranova, V. & Boegehold, M.A. (2004) Particulate matter exposure impairs systemic microvascular endothelium-dependent dilation. *Environmental Health Perspectives*, 112,

- 1299-1306.
- Ohta, K., Yamashita, N., Tajima, M., Miyasaka, T., Nakano, J., Nakajima, M., Ishii, A., Horiuchi, T., Mano, K. & Miyamoto, T. (1999) Diesel exhaust particulate induces airway hyperresponsiveness in a murine model: essential role of GM-CSF. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104, 1024-1030.
- Ohtsuka, Y., Clarke, R.W., Mitzner, W., Brunson, K., Jakab, G.J. & Kleeberger, S.R. (2000) Interstrain variation in murine susceptibility to inhaled acid-coated particles. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 278, L469-476.
- 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.
- Ohyama, K., Taguchi, K. & T.Suzuki. (1998) Adjuvant activity of diesel exhaust particles in production of specific antibodies to fungi allergen in mice. *東京都立衛生研究所研究年報*, 49, 232-236.
- Orthofer, 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.
- Penney, D.G., Baylerian, M.S., Fanning, K.E., Thill, J.E., Yedavally, S. & Fanning, C.M. (1981) A study of heart and blood of rodents inhaling diesel engine exhaust particulates. *Environmental Research*, 26, 453-462.
- Pepelko, W.E., Mattox, J.K., Yang, Y.Y. & Moore, W., Jr. (1980) Pulmonary function and pathology in cats exposed 28 days to diesel exhaust. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 4, 449-457.
- 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.
- Pereira, M.A., Sabharwal, P.S., Gordon, L. & Wyrobek, A.J. (1981) The effect of diesel exhaust on sperm-shape abnormalities in mice. *Environment International*, 5, 459-460.
- Pinkerton, K.E., Zhou, Y.M., Teague, S.V., Peake, J.L., Walther, R.C., Kennedy, I.M., Leppert, V.J. & Aust, A.E. (2004) Reduced lung cell proliferation following short-term exposure to ultrafine soot and iron particles in neonatal rats: key to impaired lung growth? *Inhalation Toxicology*, 16 Suppl 1, 73-81.
- 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.
- Purdy, C.W., Straus, D.C. & Ayers, J.R. (2005) Effects of aerosolized class C fly ash in weanling goats. *American Journal of Veterinary Research*, 66, 991-995.
- Quinto, I. & de Marinis, E. (1984) Sperm abnormalities in mice exposed to diesel particulate. *Mutation Research*, 130, 242.
- Rengasamy, A., Barger, M.W., Kane, E., Ma, J.K., Castranova, V. & Ma, J.Y. (2003) Diesel exhaust particle-induced alterations of pulmonary phase I and phase II enzymes of rats. *J Toxicol Environ Health A*, 66, 153-167.
- Research Committee for HERP studies. (1988) Diesel exhaust and health risks: results of the HERP studies.
- 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.

- Rhoden, C.R., Wellenius, G.A., Ghelfi, E., Lawrence, J. & Gonzalez-Flecha, B. (2005) PM-induced cardiac oxidative stress and dysfunction are mediated by autonomic stimulation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1725, 305-313.
- Rivero, D.H., Soares, S.R., Lorenzi-Filho, G., Saiki, M., Godleski, J.J., Antonangelo, L., Dolhnikoff, M. & Saldiva, P.H. (2005) Acute cardiopulmonary alterations induced by fine particulate matter of Sao Paulo, Brazil. *Toxicological Sciences*, 85, 898-905.
- Sackner, M.A., Ford, D., Fernandez, R., Ciplej, J., Perez, D., Kwoka, M., Reinhart, M., Michaelson, E.D., Schreck, R. & Wanner, A. (1978) Effects of sulfuric acid aerosol on cardiopulmonary function of dogs, sheep, and humans. *American Review of Respiratory Disease*, 118, 497-510.
- Sagai, M., Furuyama, A. & Ichinose, T. (1996) Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). III. Pathogenesis of asthma like symptoms in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 21, 199-209.
- Sagai, M., Saito, H., Ichinose, T., Kodama, M. & Mori, Y. (1993) Biological effects of diesel exhaust particles. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radical Biology and Medicine*, 14, 37-47.
- Saito, Y., Azuma, A., Kudo, S., Takizawa, H. & Sugawara, I. (2002) Long-term inhalation of diesel exhaust affects cytokine expression in murine lung tissues: comparison between low- and high-dose diesel exhaust exposure. *Experimental Lung Research*, 28, 493-506.
- 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.
- Samet, J.M., Ghio, A.J., Costa, D.L. & Madden, M.C. (2000) Increased expression of cyclooxygenase 2 mediates oil fly ash-induced lung injury. *Experimental Lung Research*, 26, 57-69.
- 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.
- 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., Lippman, M. & Albert, R.E. (1978) Effects of short-term exposures to sulfuric acid and ammonium sulfate aerosols upon bronchial airway function in the donkey. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 39, 273-286.
- 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.
- Silbajoris, R., Ghio, A.J., Samet, J.M., Jaskot, R., Dreher, K.L. & Brighton, L.E. (2000) In vivo and in vitro correlation of pulmonary MAP kinase activation following metallic exposure. *Inhalation Toxicology*, 12, 453-468.
- Singh, P., DeMarini, D.M., Dick, C.A., Tabor, D.G., Ryan, J.V., Linak, W.P., Kobayashi, T. & Gilmour, M.I. (2004) Sample characterization of automobile and forklift diesel exhaust particles and comparative pulmonary toxicity in mice. *Environmental Health Perspectives*, 112, 820-825.
- Smith, K.R., Kim, S., Recendez, J.J., Teague, S.V., Ménache, M.G., Grubbs, D.E., Sioutas, C. & Pinkerton, K.E. (2003) Airborne particles of the California central valley alter the lungs of healthy adult rats. *Environmental Health Perspectives*, 111, 902-908; discussion A408-909.
- Smith, K.R., Veranth, J.M., Kodavanti, U.P., Aust, A.E. & Pinkerton, K.E. (2006) Acute

- pulmonary and systemic effects of inhaled coal fly ash in rats: comparison to ambient environmental particles. *Toxicological Sciences*, 93, 390-399.
- 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.
- Steenenberg, 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.
- Steenenberg, P.A., van Dalen, W.J., Withagen, C.E., Dormans, J.A. & van Loveren, H. (2003) Optimization of route of administration for coexposure to ovalbumin and particle matter to induce adjuvant activity in respiratory allergy in the mouse. *Inhalation Toxicology*, 15, 1309-1325.
- Steenenberg, 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.
- Steenenberg, P.A., Withagen, C.E., van Dalen, W.J., Dormans, J.A. & van Loveren, H. (2004) Adjuvant activity of ambient particulate matter in macrophage activity-suppressed, N-acetylcysteine-treated, iNOS⁻ and IL-4-deficient mice. *Inhalation Toxicology*, 16, 835-843.
- Strom, K.A. (1984) Response of pulmonary cellular defenses to the inhalation of high concentrations of diesel exhaust. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 13, 919-944.
- Sun, Q., Wang, A., Jin, X., Natanzon, A., Duquaine, D., Brook, R.D., Aguinaldo, J.G., Fayad, Z.A., Fuster, V., Lippmann, M., Chen, L.C. & Rajagopalan, S. (2005) Long-term air pollution exposure and acceleration of atherosclerosis and vascular inflammation in an animal model. *JAMA*, 294, 3003-3010.
- Sung, J.H., Kim, C.Y., Yang, S.O., Khang, H.S., Cheong, H.K., Lee, J.S., Song, C.W., Park, J.D., Han, J.H., Chung, Y.H., Choi, B.S., Kwon, I.H., Cho, M.H. & Yu, I.J. (2007) Changes in blood manganese concentration and MRI t1 relaxation time during 180 days of stainless steel welding-fume exposure in cynomolgus monkeys. *Inhalation Toxicology*, 19, 47-55.
- Sureshkumar, V., Paul, B., Uthirappan, M., Pandey, R., Sahu, A.P., Lal, K., Prasad, A.K., Srivastava, S., Saxena, A., Mathur, N. & Gupta, Y.K. (2005) Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine balance in gasoline exhaust induced pulmonary injury in mice. *Inhalation Toxicology*, 17, 161-168.
- Suwa, T., Hogg, J.C., Quinlan, K.B., Ohgami, A., Vincent, R. & van Eeden, S.F. (2002) Particulate air pollution induces progression of atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 39, 935-942.
- 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.
- Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., Tadokoro, K., Miyamoto, T., Ikemori, R. & Muranaka,

- M. (1987) Diesel-exhaust particulates inoculated by the intranasal route have an adjuvant activity for IgE production in mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 79, 639-645.
- 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.
- Takano, H., Ichinose, T., Miyabara, Y., Shibuya, T., Lim, H.B., Yoshikawa, T. & Sagai, M. (1998a) Inhalation of diesel exhaust enhances allergen-related eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 150, 328-337.
- Takano, H., Ichinose, T., Miyabara, Y., Yoshikawa, T. & Sagai, M. (1998b) Diesel exhaust particles enhance airway responsiveness following allergen exposure in mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 20, 329-336.
- Takano, H., Lim, H.B., Miyabara, Y., Ichinose, T., Yoshikawa, T. & Sagai, M. (1999) Manipulation of the L-arginine-nitric oxide pathway in airway inflammation induced by diesel exhaust particles in mice. *Toxicology*, 139, 19-26.
- Takano, H., Yanagisawa, R., Ichinose, T., Sadakane, K., Inoue, K., Yoshida, S., Takeda, K., Yoshino, S., Yoshikawa, T. & Morita, M. (2002a) Lung expression of cytochrome P450 1A1 as a possible biomarker of exposure to diesel exhaust particles. *Archives of Toxicology*, 76, 146-151.
- Takano, H., Yanagisawa, R., Ichinose, T., Sadakane, K., Yoshino, S., Yoshikawa, T. & Morita, M. (2002b) Diesel exhaust particles enhance lung injury related to bacterial endotoxin through expression of proinflammatory cytokines, chemokines, and intercellular adhesion molecule-1. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165, 1329-1335.
- Takano, H., Yoshikawa, T., Ichinose, T., Miyabara, Y., Imaoka, K. & Sagai, M. (1997) Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation and local cytokine expression in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 156, 36-42.
- 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.
- Takenaka, S., Karg, E., Kreyling, W.G., Lentner, B., Schulz, H., Ziesenis, A., Schramel, P. & Heyder, J. (2004) Fate and toxic effects of inhaled ultrafine cadmium oxide particles in the rat lung. *Inhalation Toxicology*, 16 Suppl 1, 83-92.
- Tankersley, C.G., Campen, M., Bierman, A., Flanders, S.E., Broman, K.W. & Rabold, R. (2004) Particle effects on heart-rate regulation in senescent mice. *Inhalation Toxicology*, 16, 381-390.
- Thomson, E., Goegan, P., Kumarathasan, P. & Vincent, R. (2004) Air pollutants increase gene expression of the vasoconstrictor endothelin-1 in the lungs. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1689, 75-82.
- Thomson, E., Kumarathasan, P. & Vincent, R. (2006) Pulmonary expression of preproET-1 and preproET-3 mRNAs is altered reciprocally in rats after inhalation of air pollutants. *Exp Biol Med (Maywood)*, 231, 979-984.
- 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.
- Vallyathan, V., Virmani, R., Rochlani, S., Green, F.H. & Lewis, T. (1986) Effect of diesel

- emissions and coal dust inhalation on heart and pulmonary arteries of rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 19, 33-41.
- van Zijverden, M. & Granum, B. (2000) Adjuvant activity of particulate pollutants in different mouse models. *Toxicology*, 152, 69-77.
- van Zijverden, M., van der Pijl, A., Bol, M., van Pinxteren, F.A., de Haar, C., Penninks, A.H., van Loveren, H. & Pieters, R. (2000) Diesel exhaust, carbon black, and silica particles display distinct Th1/Th2 modulating activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 168, 131-139.
- Vaughan, T.R., Jr., Jennelle, L.F. & Lewis, T.R. (1969) Long-term exposure to low levels of air pollutants. Effects on pulmonary function in the beagle. *Archives of Environmental Health*, 19, 45-50.
- Veronesi, B., Makwana, O., Pooler, M. & Chen, L.C. (2005) Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles. VII. Degeneration of dopaminergic neurons in Apo E^{-/-} mice. *Inhalation Toxicology*, 17, 235-241.
- Vincent, R., Bjarnason, S.G., Adamson, I.Y., Hedgecock, C., Kumarathasan, P., Guénette, J., Potvin, M., Goegan, P. & Bouthillier, L. (1997) Acute pulmonary toxicity of urban particulate matter and ozone. *American Journal of Pathology*, 151, 1563-1570.
- 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.
- Vinegar, A., Carson, A. & Pepelko, W.E. (1981a) Pulmonary function changes in Chinese hamsters exposed six months to diesel exhaust. *Environment International*, 5, 369-371.
- Vinegar, A., Carson, A., Pepelko, W.E. & Orthoefer, J.O. (1981b) Effect of six months of exposure to two levels of diesel exhaust on pulmonary function of Chinese hamsters. *Federation Proceedings*, 40, 593.
- Vinegar, A., Carson, A.I. & Pepelko, W.E. (1980) Pulmonary function changes in Chinese hamsters exposed six months to diesel exhaust. . In *Health effects of diesel engine emissions: proceedings of an international symposium*, v 2; December, 1979; , Pepelko, W.E., Danner, R.M. & Clarke, N.A. (eds). U.S. Environmental Protection Agency, Health Effects Research Cincinnati, OH.
- Walters, D.M., Breyse, P.N. & Wills-Karp, M. (2001) Ambient urban Baltimore particulate-induced airway hyperresponsiveness and inflammation in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164, 1438-1443.
- Watanabe, N. & Kurita, M. (2001) The masculinization of the fetus during pregnancy due to inhalation of diesel exhaust. *Environmental Health Perspectives*, 109, 111-119.
- Watanabe, N. & Oonuki, Y. (1999) Inhalation of diesel engine exhaust affects spermatogenesis in growing male rats. *Environmental Health Perspectives*, 107, 539-544.
- Watkinson, W.P., Campen, M.J. & Costa, D.L. (1998) Cardiac arrhythmia induction after exposure to residual oil fly ash particles in a rodent model of pulmonary hypertension. *Toxicological Sciences*, 41, 209-216.
- Watkinson, W.P., Campen, M.J., Nolan, J.P. & Costa, D.L. (2001) Cardiovascular and systemic responses to inhaled pollutants in rodents: effects of ozone and particulate matter. *Environmental Health Perspectives*, 109 Suppl 4, 539-546.
- 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., Batalha, J.R., Diaz, E.A., Lawrence, J., Coull, B.A., Katz, T., Verrier, R.L. & Godleski, J.J. (2004) Cardiac effects of carbon monoxide and ambient particles in a rat model of myocardial infarction. *Toxicological Sciences*, 80, 367-376.
- 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.
- Wellenius, G.A., Saldiva, P.H., Batalha, J.R., Krishna Murthy, G.G., Coull, B.A., Verrier, R.L. & Godleski, J.J. (2002) Electrocardiographic changes during exposure to residual oil fly ash (ROFA) particles in a rat model of myocardial infarction. *Toxicological Sciences*, 66, 327-335.
- Wiester, M.J., Iltis, R. & Moore, W. (1980) Altered function and histology in guinea pigs after inhalation of diesel exhaust. *Environmental Research*, 22, 285-297.
- 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.
- Wolff, R.K., Bond, J.A., Sun, J.D., Henderson, R.F., Harkema, J.R., Griffith, W.C., Mauderly, J.L. & McClellan, R.O. (1989) Effects of adsorption of benzo[a]pyrene onto carbon black particles on levels of DNA adducts in lungs of rats exposed by inhalation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 97, 289-299.
- 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.
- Yamashita, N., Sekine, K., Miyasaka, T., Kawashima, R., Nakajima, Y., Nakano, J., Yamamoto, T., Horiuchi, T., Hirai, K. & Ohta, K. (2001) Platelet-derived growth factor is involved in the augmentation of airway responsiveness through remodeling of airways in diesel exhaust particulate-treated mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107, 135-142.
- 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.
- Yang, H.M., Barger, M.W., Castranova, V., Ma, J.K., Yang, J.J. & Ma, J.Y. (1999) Effects of diesel exhaust particles (DEP), carbon black, and silica on macrophage responses to lipopolysaccharide: evidence of DEP suppression of macrophage activity. *J Toxicol Environ Health A*, 58, 261-278.
- Yang, H.M., Butterworth, L., Munson, A.E. & Meade, B.J. (2003) Respiratory exposure to diesel exhaust particles decreases the spleen IgM response to a T cell-dependent antigen in female B6C3F1 mice. *Toxicological Sciences*, 71, 207-216.
- Yin, X.J., Dong, C.C., Ma, J.Y., Antonini, J.M., Roberts, J.R., Barger, M.W. & Ma, J.K. (2005) Sustained effect of inhaled diesel exhaust particles on T-lymphocyte-mediated immune responses against *Listeria monocytogenes*. *Toxicological Sciences*, 88, 73-81.
- Yokohira, M., Takeuchi, H., Yamakawa, K., Saoo, K., Matsuda, Y., Zeng, Y., Hosokawa, K. & Imaida, K. (2007) Bioassay by intratracheal instillation for detection of lung toxicity due to fine particles in F344 male rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 58, 211-221.
- Yokota, S., Furuya, M., Seki, T., Marumo, H., Ohara, N. & Kato, A. (2004) Delayed

- exacerbation of acute myocardial ischemia/reperfusion-induced arrhythmia by tracheal instillation of diesel exhaust particles. *Inhalation Toxicology*, 16, 319-331.
- Yokota, S., Seki, T., Furuya, M. & Ohara, N. (2005) Acute functional enhancement of circulatory neutrophils after intratracheal instillation with diesel exhaust particles in rats. *Inhalation Toxicology*, 17, 671-679.
- Yoshida, S., Sagai, M., Oshio, S., Umeda, T., Ihara, T., Sugamata, M., Sugawara, I. & Takeda, K. (1999) Exposure to diesel exhaust affects the male reproductive system of mice. *International Journal of Andrology*, 22, 307-315.
- Yoshino, S., Ohsawa, M. & Sagai, M. (1998) Diesel exhaust particles block induction of oral tolerance in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 287, 679-683.
- Yoshino, S. & Sagai, M. (1999a) Enhancement of collagen-induced arthritis in mice by diesel exhaust particles. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290, 524-529.
- Yoshino, S. & Sagai, M. (1999b) Induction of systemic Th1 and Th2 immune responses by oral administration of soluble antigen and diesel exhaust particles. *Cellular Immunology*, 192, 72-78.
- Zelikoff, J.T., Chen, L.C., Cohen, M.D., Fang, K., Gordon, T., Li, Y., Nadziejko, C. & Schlesinger, R.B. (2003) Effects of inhaled ambient particulate matter on pulmonary antimicrobial immune defense. *Inhalation Toxicology*, 15, 131-150.
- Zelikoff, J.T., Schermerhorn, K.R., Fang, K., Cohen, M.D. & Schlesinger, R.B. (2002) A role for associated transition metals in the immunotoxicity of inhaled ambient particulate matter. *Environmental Health Perspectives*, 110 Suppl 5, 871-875.
- Zelikoff, J.T., Sisco, M.P., Yang, Z., Cohen, M.D. & Schlesinger, R.B. (1994) Immunotoxicity of sulfuric acid aerosol: effects on pulmonary macrophage effector and functional activities critical for maintaining host resistance against infectious diseases. *Toxicology*, 92, 269-286.
- Zhou, Y.M., Zhong, C.Y., Kennedy, I.M., Leppert, V.J. & Pinkerton, K.E. (2003) Oxidative stress and NFkappaB activation in the lungs of rats: a synergistic interaction between soot and iron particles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 190, 157-169.
- Ziegler, B., Bhalla, D.K., Rasmussen, R.E., Kleinman, M.T. & Menzel, D.B. (1994) Inhalation of resuspended road dust, but not ammonium nitrate, decreases the expression of the pulmonary macrophage Fc receptor. *Toxicology Letters*, 71, 197-208.
- 伊藤剛, 田村久美子. (2002) 微小粒子を暴露したラットの心臓に対する遺伝子解析. *自動車研究*, 24, 221-224.
- 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. (1998) 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.
- 鷹屋光俊, 戸谷忠雄, 高田礼子, 小滝規子, 吉田勝美, 神山宣彦. (2005) 希土類酸化物の生体影響. *エアロゾル研究*, 20, 207-212