

## 低濃度曝露における用量－効果関係を示す毒性学知見について

### 1. はじめに

微小粒子状物質の定量的リスク評価手法（中央環境審議会大気環境部会微小粒子状物質リスク評価手法専門委員会報告：平成 20 年 11 月）において、微小粒子状物質の環境目標値の目安となる数値を検討するため、ヒト志願者や動物実験に関する毒性学の知見による用量－効果関係も考慮する必要があるとされている。

このため、微小粒子状物質健康影響評価検討会報告において評価の対象とした毒性学知見と 2007 年 4 月以降に出版された毒性学知見を対象に、一般大気環境の濃縮粒子を用いたヒト志願者実験及び動物実験を中心に、毒性学知見において比較的low濃度領域（ $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$  以下）において用量－効果関係がみられていると考えられる知見の抽出を行った。

なお、一般大気環境の濃縮粒子を用いた研究では、日々変動する大気環境の粒子を吸入して濃縮するため、曝露濃度を制御して用量－効果関係をみる点について限界があることに留意する必要がある。また、ヒト志願者実験及び動物実験においても、曝露期間の比較的短期間である研究が大半であり、得られている結果は、疫学研究でみられる短期曝露影響に対応するものが多いことに留意する必要がある。

以下に、毒性学知見において比較的low濃度領域（ $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$  以下）において用量－効果関係がみられていると考えられる知見について紹介する。

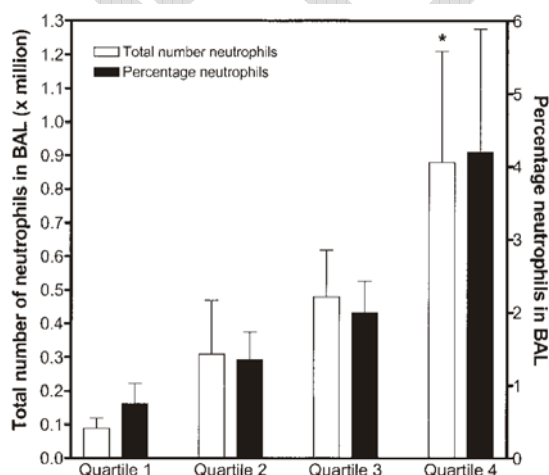
### 2. ヒト志願者実験

比較的low濃度（ $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$  以下）の CAPs 曝露による濃度依存性の呼吸器系および全身への影響としては、健康志願者を用いた同一研究グループの急性曝露実験の成績が公表されている。Ghio *et al.*, 2000、Holgate *et al.*, 2003、Harder *et al.*, 2001、Huang *et al.*, 2003 の研究では、38 人の健康な非喫煙者（18～40 歳）を対象に、間欠的運動下（分時換気量  $25 \text{ L}/\text{min}/\text{m}^2$  体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し）で 2 時間、ノース・カロライナ州 Chapel Hill の環境大気を 6～10 倍に濃縮した CAPs [PM<sub>2.5</sub>:  $23.1\sim 311.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ （平均  $\pm$  SE:  $120.4 \pm 14.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）、MMAD:  $0.65 \mu\text{m}$ ] を低濃度群（ $47.5 \pm 5.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）10 人、中濃度群（ $107.4 \pm 9.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）10 人、高濃度群（ $206.7 \pm 19.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）では 10 人に、対照群としてろ過空気を 8 人に曝露した。曝露前と曝露直後に肺機能検査（スパイロメトリーとプレスチモグラフィ）、曝露前と曝露 18 時間後に血液検査、および曝露 18 時間後に気管支鏡検査が行われた。その結果、肺機能検査には CAPs 曝露による影響はみられなかった。しかし CAPs 曝露後には気管支洗浄液および気管支肺胞洗浄液中の好中球数が軽度ではあるが、濃度依存性に増加した（気管支肺胞洗浄液中の好中球分画：ろ過空気群 0.8%；低濃度群 1.4%；中濃度群 2.0%；

高濃度群 4.2%、 $P<0.05$ ) (図 1)。また群間の濃度依存性は認められなかったが、CAPs 曝露後にはろ過空気曝露に比べて末梢血中のフィブリノーゲン濃度が軽度 (38~43  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) 増加した ( $P=0.009$ )。一方、気管支肺胞洗浄液中の炎症性サイトカイン濃度や気管支生検組織中の炎症細胞数および末梢血中の白血球数には CAPs 曝露の影響はみられなかった。さらに CAPs 中の水溶性成分量を測定したところ、気管支肺胞洗浄液中の好中球数増加は、硫酸塩/Fe/Se 濃度と、末梢血中のフィブリノーゲン量の増加は Cu/Zn/V 濃度と関連していた。

また同一研究グループの Ghio *et al.*, 2003 は、20 人の健康な非喫煙者 (18~40 歳) を対象に、間欠的運動下 (分時換気量 25 L/min/m<sup>2</sup> 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 2 時間、ろ過空気を 5 人に、Chapel Hill 環境大気を 6~10 倍に濃縮した CAPs (PM<sub>2.5</sub>: 15.0~357.6  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均  $\pm$  SE: 120.5  $\pm$  14.0  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) を 15 人に曝露した。曝露直前、直後および 24 時間後に血液学的検査が行われた。その結果、CAPs 曝露濃度と 24 時間後の末梢血中フィブリノーゲン増加量との間には正の相関関係がみられた ( $r=0.59$ ,  $P=0.006$ ) (図 2)。一方、CAPs 曝露濃度と 24 時間後の末梢血中の白血球数および LDH 活性との間には負の相関関係がみられた。

以上の成績から、健常人に対する比較的低濃度の CAPs の急性曝露は、濃度依存性に軽度の肺の好中球性炎症を誘導することが示された。さらに、濃度依存性の有無については研究手法による差異があるが、末梢血中のフィブリノーゲン量をを増加させることが示された。



**Figure 4.** Neutrophil numbers in the BAL after inhalation of particles and filtered air. The total number of neutrophils in the BAL increased with particle inhalation. Percentage neutrophils were comparably increased.

図 1 粒子状物質とろ過空気を曝露した後の BAL 中の好中球数の増加。好中球総数は粒子状物質の曝露によって増加する。好中球のパーセンテージは相対的増加分 (Ghio *et al.*, 2000)

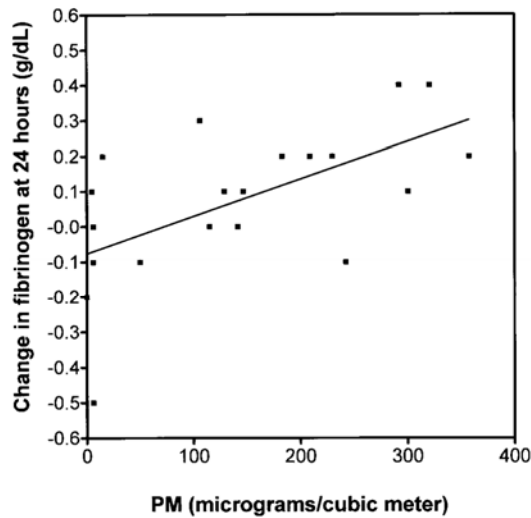


FIGURE 3. Changes in fibrinogen concentration 24 h following exposures to filtered air and CAPs. Regression supported a significant linear relationship between particle level and increases in fibrinogen concentrations 24 h later.

図2 ろ過空気とCAPs曝露24時間後のフィブリノーゲン濃度の変化。粒子状物質レベルと24時間後フィブリノーゲン濃度との間に有意な直線関係が認められた。

(Ghio *et al.*, 2003)

### 3. 動物実験

Lei *et al.*, 2004 は、ラットにモノクロタリン 60mg/kg(体重)を腹腔内投与し肺高血圧を惹起させた。その14日後にCAPsを、黄砂の季節に、黄砂時の粒子(粒径0.01-2.5  $\mu\text{m}$ )について126.5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (対照群)、315.6  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (低曝露群)、684.5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (高曝露群)の3群で吸入曝露した。低曝露群(n=4)と対照群(n=1)は6時間、高曝露群(n=4)と対照群(n=3)は4.5時間曝露した。

その結果、吸入曝露によって、末梢血中の白血球数、BALF中の総細胞数、好中球数、総タンパク質、LDH、IL-6が用量に依存し増加する結果が得られた。

Kobzik *et al.*, 2001 は、OVA誘発性喘息モデルマウスを用いてCAPs(粒径0.15~2.5  $\mu\text{m}$ )と0.3ppm  $\text{O}_3$ による複合的な急性曝露影響について検討した。曝露濃度は高用量(63.3~1,568.6  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )と低用量(1.6~133.1  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )の2種類であった(曝露群あたり5匹または6匹)。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及び $\text{O}_3$ 又は清浄空気を吸入させた。その結果、CAPs単独曝露により、OVA誘発性喘息モデル及び対照群のいずれにおいても、1) CAPs濃度および3日間の累積用量依存的なベースラインPenhの増加、2) 300~500  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  CAPsと $\text{O}_3$ の複合曝露によりCAPs濃度に依存したメサコリン誘導肺気流抵抗の上昇が認められた(気道反応性亢進)。また、

CAPs 構成成分の濃度 - 効果関係では対照群ではイオウの濃度および 3 日間の累積用量とベースライン Penh の増加との相関が認められた。喘息モデルマウスでは O<sub>3</sub> との複合曝露により AlSi の濃度および 3 日間の累積用量とベースライン Penh の増加との相関が認められた。

#### 4. 引用文献

- Ghio, A.J., Hall, A., Bassett, M.A., Cascio, W.E. & Devlin, R.B. (2003) Exposure to concentrated ambient air particles alters hematologic indices in humans. *Inhalation Toxicology*, 15, 1465-1478.
- Ghio, A.J., Kim, C. & Devlin, R.B. (2000) Concentrated ambient air particles induce mild pulmonary inflammation in healthy human volunteers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162, 981-988.
- Harder, S.D., Soukup, J.M., Ghio, A.J., Devlin, R.B. & Becker, S. (2001) Inhalation of PM<sub>2.5</sub> does not modulate host defense or immune parameters in blood or lung of normal human subjects. *Environmental Health Perspectives*, 109 Suppl 4, 599-604.
- Holgate, S.T., Devlin, R.B., Wilson, S.J. & Frew, A.J. (2003) Health effects of acute exposure to air pollution. Part II: Healthy subjects exposed to concentrated ambient particles. *Research Report / Health Effects Institute*, 31-50; discussion 51-67.
- Huang, Y.C., Ghio, A.J., Stonehuerner, J., McGee, J., Carter, J.D., Grambow, S.C. & Devlin, R.B. (2003) The role of soluble components in ambient fine particles-induced changes in human lungs and blood. *Inhalation Toxicology*, 15, 327-342.
- 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.
- Lei, Y.C., Chan, C.C., Wang, P.Y., Lee, C.T. & Cheng, T.J. (2004) Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats. *Environmental Research*, 95, 71-76.