

## 2. 沈着と動態

大気中の粒子状物質は、1日およそ $10 \sim 15\text{m}^3$ の換気によって呼吸器系から吸入されているが、そのすべてが気道、肺胞腔内に滞留(Retention)するものではない。気道への沈着(deposition)は粒子の性状、気道の解剖学的要因、呼吸パターンに依存しており、また、気道、肺胞腔内に沈着した粒子状物質は粘液線毛上皮系を主体とするクリアランス(Clearance)機構によって、その多くは排除される。

### 2.1. 沈着

#### 2.1.1. 粒子の性状と沈着

大気中に存在する粒子の大部分は球状ではなく、不規則な形をしており、その組成により様々で、一般的には集合体として存在している。粒子の呼吸器系への沈着を決定する二大要素は、平均粒径と粒径分布であり、球状の粒子では粒径の定義は明白であるが、大気中粒子状物質の大部分を占める不規則な形の粒子では、動力的粒径の考え方は難しくなる。大気中で発生する全ての粒子は重力の影響を受ける。一つの粒子に作用する重力は、その体積に重力加速度を乗じたものに等しい。運動中の粒子は、これに対して空気の粘性力により、最終落下速度まで加速されて、平衡状態になる。その効果は小さな粒子よりも大きな粒子に認められる。重力による最終速度は、その密度と直径の二乗にほぼ比例する。自由落下速度は気道における粒子動態の重要な決定因子であり、その大きさ、形、表面の性状、そして密度に関係する。粒子の運動様式を決定するのは、粒子の大きさではなく、動力的特性である。粒径が $1 \sim 40\mu\text{m}$ までの球状粒子では落下速度はStokesの法則(後述)によって決まるが、球状でない粒子では、形による要素が求められる。すなわち、極端な形の粒子と極端に密度の小さい粒子は、動力的粒径からは予想できない運動となることがある。

沈着に影響する他の要素としては、気道における吸湿性粒子の水溶性、濃縮性、集合性などがあるが、これらは時間とともに粒子の大きさが変化する原因となる。

#### 2.1.2. 気道沈着の機構

呼吸器系に吸入された粒子は、大気中に浮遊していたときと同様の運動を続けようとするが、その肺内への侵入深度は物理的な特性(形、密度、空気力学的特性)ばかりでなく、個人の呼吸状態にも依存する。一度、粒子が気道粘膜もしくは肺胞に接着すると、再び気流に戻ることはない。この状態を沈着したという。

安静呼吸では、呼気ガス中の総粒子は、気道各部に沈着した粒子および肺胞領域に停留している粒子があるため、吸入した粒子数とは異なる。このことは繰り返す呼吸に当てはまるが、1回の呼吸では当てはまらない。安静呼吸で、気道各部位の粘膜および肺胞に沈着する粒子の割合は、図2-1の通りである。この曲線はWeibelの解剖学的気道計測に基づいて推定されており、その結果は実験結果とほぼ一致する。

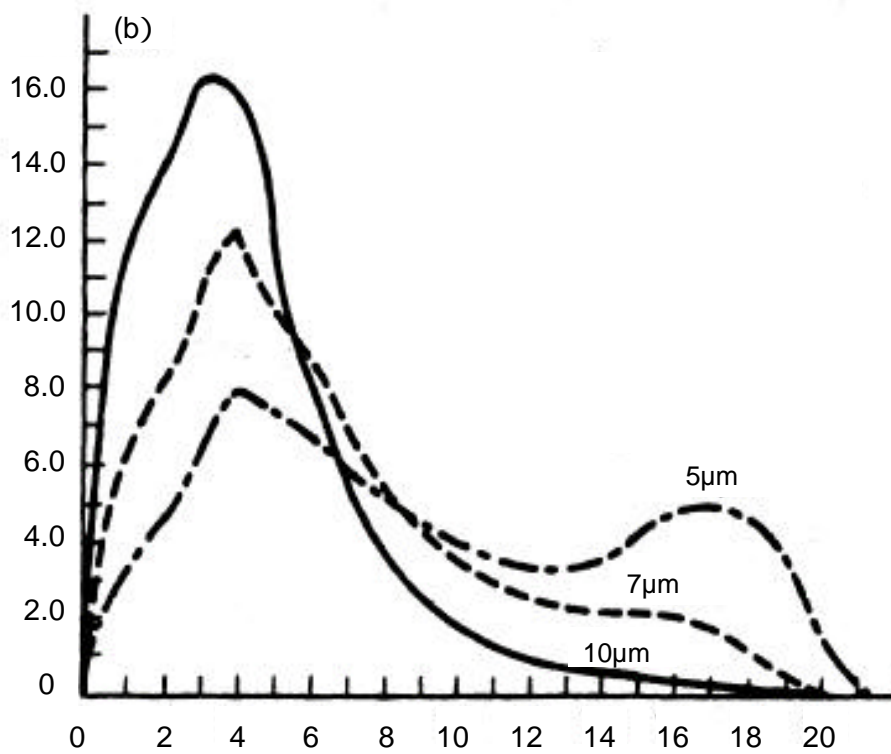
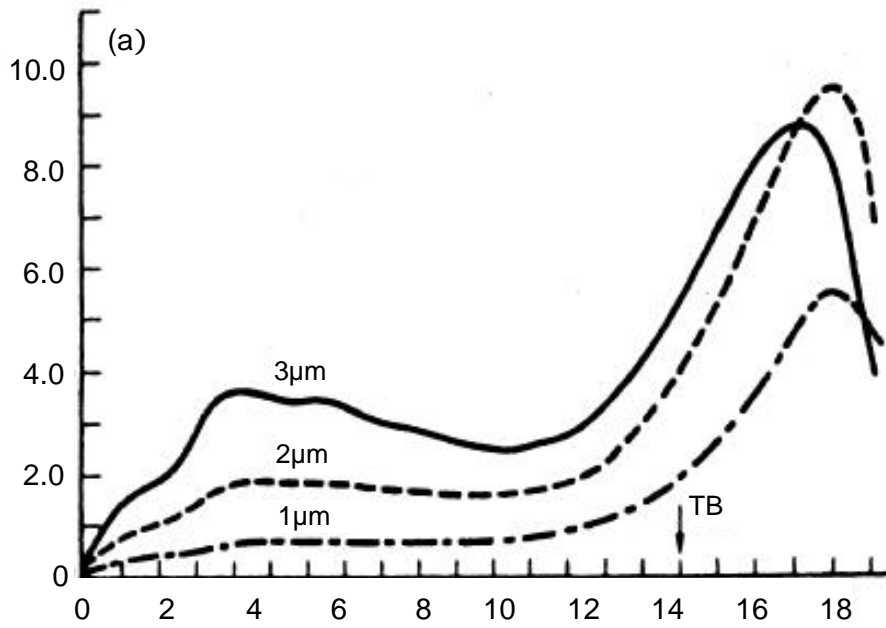


図 2-1 Weibel のモデルを用いた球状粒子の気道への分布比率  
(縦軸は%, 横軸は気道の分岐数)

平均気道流速:  $500\text{cm}^3/\text{s}$ , 一日換気量:  $700\text{m}$ , 呼吸回数:  $15.8/\text{min}$

(a) 粒径  $1, 2, 3\mu\text{m}$  (b) 粒径  $5, 7, 10\mu\text{m}$  を示す。

いずれも粒子密度は  $2.5\text{g}/\text{cm}^3$  TB=終末細気管支

(出典) Gerry ら (1979)

粒子が沈着する機構としては次の5つがある。(図2-2)

慣性による衝突 (inertial impaction), 沈降 (sedimentation), 遮断 (interception), 静電気による沈降 (electrostatic precipitation), 拡散 (diffusion) (ブラウン運動)

以下, これらについて述べる。

慣性による衝突 (Inertial impaction):

上気道および下気道では気流は何度も方向を変えなければならない。それぞれの変化において, 粒子は本来の軌道に従おうとするため, 気道壁に衝突しやすい(図2-2a)このような状況では沈着は,  $d^2$  ( $\rho_p$  = 粒子密度,  $d$  = 粒子径), 気道方向の変化と気道径, および気流速度によって決まる。3 ~ 20 $\mu\text{m}$ の比較的大きな粒子が気道の分岐部でこの衝突により沈着する。衝突による沈着は鼻腔および中枢気管支の分岐部において最も頻度が高い。

沈降 (sedimentation):

これは特に末梢気道(気管支および細気管支)と肺泡領域でみられるが, この領域では気流速度は小さく, 重力の作用による沈降の影響が優位となる(図2-2b)これはStokesの法則  $V_s = K \cdot d^2$  ( $K$  = 空気粘度で決まる定数,  $\rho_p$  = 粒子密度,  $d$  = 粒子のstokes径)で与えられている。Stokesの式ではいくつかの仮定が入っており, 特に粒子の形が不整の場合には生じる誤差は大きいとされている。線状の粒子では, 一般に定常気流速度は粒径の二乗に比例し, 長さや粒子の形には影響されない。線維の沈降は主に中枢気道で生じ, このことから末梢気道まで到達するのは3 $\mu\text{m}$ 以下の長さに限られる。

遮断 (interception):

これは線維状粒子において重要である。これらの粒子では長さや形, 特に空気力学的粒径が気流速度よりも重要である。長い線維粒子ほど, 球状粒子の運動とは異なってくる。短い線維(5 $\mu\text{m}$ 以下の)では長い線維より容易に肺の末梢まで達する。短径が3.5 $\mu\text{m}$ 以下の長い線維は気流の軸に沿って運動し, 中枢気道では衝突と沈降を避けようとする。しかし, その軌道は気流表層に近づくため, 終末気管支または呼吸細気管支レベルで, 特に分岐部で軌道壁に衝突する(図2-2c)このことから, アスベストや200 $\mu\text{m}$ 位の長さの線維が肺の末梢にてみられることが説明される。沈着は線維の直径に密接に関係しているが, 線維の長さが長くなると中枢気道において衝突と沈降により沈着しやすくなる。成長段階の気道は太く, かつ短いため, 長くて細い線維は, 成人と比較して乳児や幼児において肺の末梢に沈着しやすい。

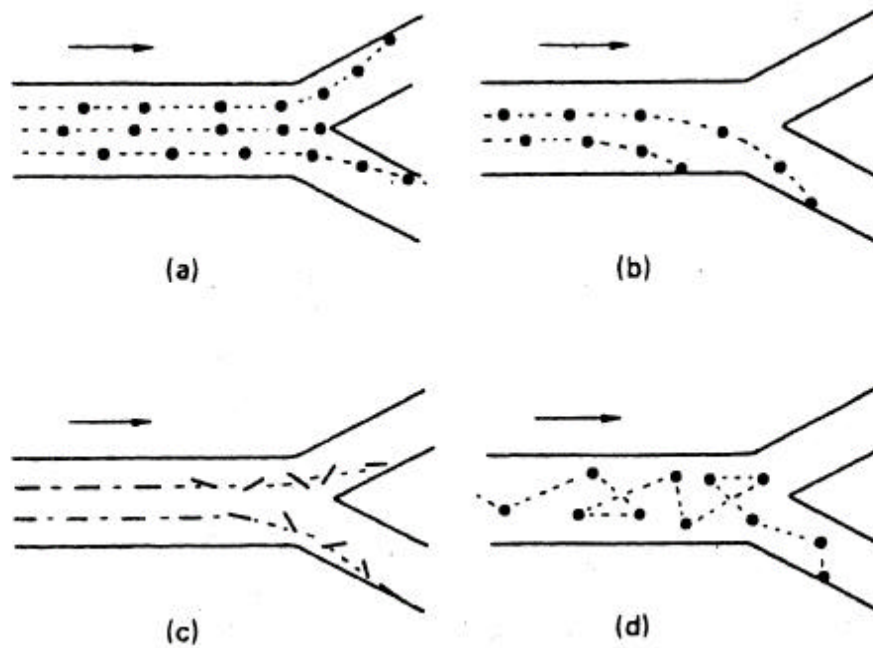


図 2-2 気道における粒子沈着様式

(a) 慣性による衝突 (b) 重力による沈降 (c) 遮断 (d) 拡散 (ブラウン運動)

(出典) Parkes: "Aerosols"

静電気による沈降：

これはヒトにおいてはあまり重要ではない。荷電した粒子が肺内に増加したとしても、通常はその影響は少ない。一方、ラットを用いた実験においては荷電したアスベストを1年間、吸入させたところ、荷電のない群と比較して、肺内にアスベスト線維が停滞し、肺の線維化が高頻度に認められたという報告がある。

拡散（ブラウン運動）：

1 $\mu$ mまたはそれ以下の粒子ではガス分子のエネルギーによって任意の方向へ運動していく。これが拡散（ブラウン運動）である（図2-2d）。拡散の影響下では1 $\mu$ mの粒子は1秒間に13 $\mu$ mすすむ。拡散は0.5 $\mu$ m以下の粒子において沈着の主な原因となるが、特に0.1 $\mu$ m以下の粒子では、気流速度が小さく、表面積が大きい末梢気道や肺泡領域において特に重要である。また中枢気道においても拡散は気道沈着の原因となる。

DEPの粒径は（質量の大部分が）0.1～0.3 $\mu$ mであり、沈着の機構としては拡散が最も重要である。

### 2.1.3. 気道沈着に影響する解剖学的要因

#### 上気道

鼻咽頭、気管気管支および肺泡領域での粒子の沈着に重要な影響を与える。鼻呼吸によって口呼吸よりも効率的に粒子を除去できる。鼻腔での気流は安静時呼吸においても乱流になっているが、換気回数に伴って増加する。吸入された空気は、鼻腔の前下方から垂直に流入し、鼻腔の天蓋部によって80～90度、方向を変え、鼻咽頭後壁に達するまで水平に運動し、そこで急激に80～90度方向を下向きに変える。この2回の急激な方向の変化と気流の乱流によって5～6 $\mu$ m以上の粒子はほぼ完全に除かれる。これによる衝突の機会は気流速度に比例する。さらに5 $\mu$ m以下の粒子も加湿によって粒子が大きくなると沈着が増加する。一方、この領域では重力による沈着はそれほど重要でないが、鼻腔後壁で気流速度が減少するときに影響してくる。また、拡散による沈着も生じる。

#### 下気道

気道径、気道の分岐角、気道の傾斜、細胞の数と大きさなどは個人で大きく異なるが、粒子の沈着に影響をする。

### 2.1.4. 呼吸パターンの影響

鼻呼吸と口呼吸：

一般的には鼻呼吸においては粒径が2～20 $\mu$ mの粒子では90%が鼻腔内に捕捉され、1～5 $\mu$ mの粒子では約50%が気管気管支領域に留まる。10～20 $\mu$ mの粒子が気管気管支まで達することは少ない。1～5 $\mu$ mの粒子の残りの50%は肺泡領域に達するが、実際、10 $\mu$ m以上の粒子は肺泡レベルには沈着しない。一方、口呼吸においては10～20 $\mu$ mの大きな粒子の95%以上が気管気管支に沈着する。1～10 $\mu$ mの粒子の約60～80%は細気管支レベルに沈着し、1～5 $\mu$ mの粒子の40～50%は肺泡レベル

ルに沈着する。鼻腔気流に対する抵抗が増加すると、鼻呼吸の負荷が大きくなり、換気回数が多くなる。その結果、鼻呼吸から口呼吸に移行する。鼻腔での気流の抵抗は粘膜の鬱血、鼻疾患、気温の低下などで増加する。また、運動負荷時にも鼻呼吸から口呼吸に移行する。鼻呼吸から口呼吸への移行は個人間でかなり異なっている。鼻腔の気流の異常から、慢性的に口呼吸となっている場合もある。健常成人における習慣的口呼吸の割合は約13%である。

換気の影響：

一回換気量と呼吸回数は気道における粒子の運動に非常に影響する。一回換気量が大きくなると、気流は肺の深部まで達するようになるが、呼吸回数の増加に伴って粒子の沈着は減少する。一回換気量と呼吸回数(分時換気量)が運動によって増加すると、気流速度は増加し、乱流を呈するようになり、特に1~3 $\mu\text{m}$ の粒子に影響するようになる。運動負荷に伴う分時換気量の増大により、中枢気道では衝突による粒子の沈着が増加し、末梢気道では重力による沈降と拡散による沈着が増加する。

気流の閉塞があると中枢気道での沈着が増加し、末梢気道での沈着は減少する。実際、粒子の沈着の深度は1秒量に相関し、1秒量が減少すると肺の末梢での粒子の沈着は減少する。従って、気道閉塞がある慢性閉塞性肺疾患COPDでは肺胞領域での粒子の沈着は減少する。

#### 2.1.5. 実験的研究

DEPの粒径の大部分は約0.1~0.3 $\mu\text{m}$ の範囲にある。DEPそのものやそれに代わる粒子を用いて気道への沈着がどのようになるかがラット、モルモット、イヌ等を使って検討されている。

#### DEP 以外の粒子状物質

Wolffら(1982)は、全身曝露で気道及び胃腸内への負荷を検討した。また、これらを鼻からの曝露のみで得られたデータと比較した。F344 ラットを用い直径0.1 $\mu\text{m}$ の $^{67}\text{Ga}_2\text{O}_3$ 粒子を5hr/day曝露を行った。単位時間当たりの沈着と滞留は1日目及び3日目の曝露後に測定した。その結果、曝露濃度が1unit/ の条件下での肺の沈着は雄で2.8unit/hrであり雌で2.2unit/hrであった。この量は吸入した粒子のおおよそ15%の沈着であり、鼻のみで曝露したものと類似していた。キログラム体重当たりのエアロゾル沈着は雄よりも雌の方が24%も高かった。皮膚を毛繕いすることで主に体外に付着した粒子を取り込む。全身曝露した個体と鼻のみで曝露した個体の胃腸内の粒子の通過を比較した結果、全身曝露をしたもので1.6倍も高かった。全身曝露後、皮膚負荷のおおよそ60%が取り込まれると算出した。

Wolffら(1984)は、F344 ラットに直径0.1 $\mu\text{m}$ の $^{67}\text{Ga}_2\text{O}_3$ 粒子を30分間曝露した。曝露後、0.5、1、2、4、6時間の放射性を検討した。鼻咽頭、気管支、肺への沈着はそれぞれ9、5、1%であった。

Raabeら(1982)は、吸入した空力学的な直径の中央値として、おおよそ1、3、5、 $\mu\text{m}$ の不溶性粒子の局所沈着について5種の小型の齧歯類(CF<sub>1</sub> マウス、Syngoldenハムスター、F344 ラット、Hartley系モルモット、New Zealandラビット)を用いて検討した。直径0.05 $\mu\text{m}$ のエアロゾルについても研究した。

研究した。放射性同位体<sup>169</sup>Ybで標識したアルミノ珪酸塩に融合させ(2.46 g/cm<sup>3</sup>),様々な大きさの気管支,咽頭,気管,胃腸の組織の放射能から沈着量を測定したところ,鼻部から咽頭にかけて3μm以上の粒子の沈着が高く,5μm以上の粒子では90%以上が同部位に沈着していることが明らかになった。反対に肺では大きな粒子の沈着は見られなかった。0.2~0.3μmの粒子の肺への沈着はマウス,ハムスター,ラット,モルモット,家兎ではそれぞれ45,7.5,13,32,13%であった。

Snipesら(1988)は,鼻からの吸入で大きな粒子の沈着パターンと動態を2種の実験動物で行った。ラットとモルモットに<sup>46</sup>Scで標識した3,9,15μmポリスチレン-ラテックス粒子を吸入させた。3μmのポリスチレン-ラテックス粒子でのラットとモルモットの肺胞における沈着はおおよそ1.4%と0.55%であった。9μm,15μmの粒子ではどちらにおいても肺胞における沈着は検出されなかった。肺胞に到達する前の気道で沈着が起きているものと考えられる。

## DEP

Chanら(1981)は,吸入した粒子の動態をF344ラットで<sup>131</sup>Baと<sup>14</sup>Cを用いて測定した。鼻からのみ,40-45分で吸入した。吸入ガスは<sup>131</sup>Baを含むバリウムと<sup>14</sup>Cを含むn-ヘキサデカンを含む燃料(2D diesel)をディーゼルエンジンで燃焼させた排気を希釈したもの(6mg/m<sup>3</sup>)を用いた。曝露後すぐの気管のDEP沈着は<sup>131</sup>Baから15±6%(10%肺胞,5%気管,気管支),気道及び肺組織の試料に含まれる<sup>14</sup>Cから17±2%(11%肺胞,6%気管,気管支)とされた。

Vostalら(1981)は,<sup>131</sup>BaをDEPのトレーサーとして使用した。動物はF344ラットを使用した。沈着効率は,吸入した量の15±6%であった。

Vostalら(1982)は,DEPの沈着,除去,残留について実験動物に放射性標識物質を含むDEを吸入させて調べた。単気筒のエンジンに放射性同位体<sup>14</sup>C(<sup>14</sup>C-n-ヘキサデカン)を含む燃料を燃焼させ,得られたDEを流速200/minでチャンバーに流し曝露した。動物はF344ラットとHartley系モルモットを用いて,鼻のみから吸入させた。その後,呼気,糞,尿の<sup>14</sup>Cを調べた。低濃度のDEP濃度(2000μg/m<sup>3</sup>)で140分間曝露を行ったところ,肺における沈着はF344ラットで吸入したうちの20±5%と概算した。また高濃度のDEP濃度(7000μg/m<sup>3</sup>)で45分の短時間曝露では吸入量の17±2%であった。

Wolffら(1987)は,F344ラットに直径0.1μmの<sup>67</sup>Ga<sub>2</sub>O<sub>3</sub>粒子および直径2.0μmの<sup>134</sup>Csを融合させたアルミノ珪酸粒子をDE(粒子濃度が0.035,3.5,7mg/m<sup>3</sup>)にて1日7時間,1週5日間,24か月間曝露後に吸入させた。肺での沈着はほとんどの濃度でも変わらなかった。粒子濃度が0.035,3.5,7mg/m<sup>3</sup>において<sup>67</sup>Ga<sub>2</sub>O<sub>3</sub>粒子では9.2,12.6,11.6,10.7%であった。また,<sup>134</sup>Cs-FAPではそれぞれ,6.6,7.7,5.4,8.1%であった。

Heyderら(1986)は,鼻への沈着は0.4μm以下の粒子ではきわめて少ないと報告している。また,0.2μmの粒子の肺胞沈着効率は13から21%であることが報告されている。気管支への沈着は検出されていない。

Gotoら(1995)は,DE中のPAHsの呼吸器への沈着率を検討した。DEの一部を日常空気の汚染度の範囲内にしたテント内での協力者の呼気中の粒子および吸気に相当するテント内空気中の粒子

子を採取し、粒子中のPAHを測定した。見かけの呼吸器内沈着率はほぼ50%となることが報告されている。

粒子状物質の呼吸器系における沈着に関するその他の報告を表2-1にまとめた。

#### 2.1.6. 動物実験からヒトへの外挿

動物実験での結果をヒトに外挿する際に問題になるのが、吸入された粒子の肺内沈着の分布や割合が、動物によって異なるという点である。これは、特に定量的な外挿を試みる場合に重要である。

Hofmannら(1989)は、ラットとヒトで、その三次元的な気管支分岐の非対称性モデルにより、また気流や粒子の特性を数学的に解析して比較した。モデルには、実際に計測されたデータから統計的に得られた気管支分岐の非対称性、気管支内径、長さ、分岐角度などの値が用いられ、吸気時及び呼気時の両方における沈着が評価された。粒子径は0.001, 1, 10 $\mu$ mを対象とした。その結果、沈着率は、気道系において、0.1 ~ 1 $\mu$ mで最小であった。肺胞領域では、0.002 ~ 0.003 $\mu$ mと3 ~ 5 $\mu$ mにピークがあった。沈着は定性的にはラットとヒトで同様であったが、全体の沈着と気管気管支ではヒトの方が高い傾向があり、肺胞領域では0.001 ~ 10 $\mu$ mの範囲においてヒトの方が低かった。流速の影響は両種間で同様であった。気道の中では、0.001  $\mu$ mと10 $\mu$ mの粒子の沈着は上気道において最大であり、0.1 $\mu$ mと1 $\mu$ mの粒子はより末梢の気道、すなわちラットでの細気管支、ヒトでの呼吸細気管支においてより高い沈着を示した。

Yuら(1991)のモデルは、気管気管支・肺・リンパ節という3つのコンパートメントを想定し、鼻咽頭による過機能、血液と消化管による吸収機能も考慮した。DEPとそれに付着する2つの有機物質の沈着とクリアランスの両方を組み入れている。原理的には、種特異的な生理学的、動態薬理的なパラメータを用いて、外環境の濃度から肺の内環境での用量を推定し、ヒトへの非発がん影響の定量的評価に用いようとした。YuのモデルによるヒトでのDEPの肺への沈着は7 ~ 13%と算定された。

## 2.2. 動態

### 2.2.1. 粒子状物質の動態

呼吸器系に一旦、沈着した粒子は呼吸器系が持つ種々の自浄作用によって除去され、これを粒子のクリアランスと呼ぶ。吸入された粒子を効果的に除去するために、気道クリアランス(線毛運動)、咳反射、肺胞クリアランスなどのメカニズムがある。10 ~ 20 $\mu$ mの粒子のほとんどは鼻腔内に沈着し、1 ~ 5 $\mu$ mの範囲の小さな粒子の多くは末梢気道まで達する。鼻粘膜に付着した粒子は線毛運動によって15 ~ 30分以内に咽頭へ輸送(mucociliary transport)され、嚥下される。

#### 気道クリアランス

気道における線毛細胞は鼻咽頭から終末気管支まで杯細胞の間に分布し、その線毛運動は頭側へ向かって協調的に行われている。この線毛運動は終末気管支から気管支分岐部に向かって速度を上昇させていくエスカレーター運動にたとえられる。比較的大きな粒子と非水溶性の粒子はエスカ



カレーター運動によって咽頭まで運ばれて嚥下されるか、咳反射によって除かれる。健常人の気道ではこのような粒子はほぼ6時間以内に除去される。

気道のクリアランスには粘液成分、アンチプロテアーゼ、ライソゾーム等による防御メカニズムも含まれ、粘液は杯細胞と粘膜下腺から産生され、粘膜下腺はさまざまなペプチドやケミカルメディエーターによって調整されている。サブスタンスP、VIP (vasoactive intestinal peptide) 等の生物活性を持ったペプチドが粘膜下腺の神経終末に認められる。

### 咳反射によるクリアランス

咳反射によるクリアランスは中枢気道で特に重要である。咳反射は慢性気管支炎のような病態で特に重要であり、慢性気管支炎における粒子のクリアランスの50%は咳反射によるものとされ、線毛細胞の欠如を補っている。痰のでない健常人においては咳反射によるクリアランスはあまり重要でない。

### 肺胞クリアランス

0.1 ~ 0.5 $\mu$ mの微小粒子のほとんどは呼気から排出される。残りの肺胞に沈着した粒子は、貪食と輸送という2つのメカニズムによって除去される。すなわち粒子は肺胞マクロファージに貪食され、マクロファージ自身の運動性により気管支末端に達し、気道クリアランスにより上記のように除去される。吸入粒子がきわめて多量の場合には、一部のマクロファージは肺の間質を経てリンパ流に入り、局所リンパ節に至る。また、粒子の毒性が強い場合にはマクロファージの壊死が生じ、粒子の再放出、再貪食がおこる。一部の粒子は直接、細胞壁から肺の間質に達すると考えられている。

粒子の停留を検討するためには、クリアランスの種による相違も知る必要がある。基本的に、粒子が呼吸器系から除去される機構はほぼ共通している。しかし、局所のクリアランスの効率は種によってかなり異なる。一般に、クリアランスの経路により、種おけるその効率は決まっている。HsiehとYu (1998) は、吸入された難溶解性粒子のクリアランスのデータを、ラット、マウス、モルモット、イヌ、サル、およびヒトについて整理した。初期負荷量が肺1gあたりの粒子0.001 ~ 10mgにおいて、二相性の対数減衰曲線を用いて分析した。二つのクリアランス相は、それぞれ、速い相が粘液線毛輸送系によるものに相当し、遅い相がリンパ節への経路に相当する。ラットやマウスは他の種に比べて、クリアランスが早かった。初期負荷量が増大するにつれ、クリアランスは遅い相によるものが大きくなった。肺1gあたりの粒子で1mgを超えると、どの動物でもほぼ100%近く、遅い相によるクリアランスとなった。速い相のクリアランスのスピードは動物種間において相違はなく、また初期負荷量が増大しても変化しなかったが、遅い相によるクリアランスのスピードは、初期負荷量の増大により遅くなった。限界を超えた負荷量、いわゆる"overload"のクリアランスのスピードに対する影響は、ラットにおいて、ヒトよりも大きかった。

### 2.2.2. DEP 以外の粒子状物質の動態

Lenhertら(1989)は、貪食された粒子の負荷に関わる肺でのクリアランス時における肺胞マクロファージの消失率の検討を行った。直径 $2.0\mu\text{m}$ の蛍光ポリスチレン粒子 $1.6 \times 10^7$ 個をF-344ラットの気管支内に投与し、7, 14, 57, 85, 176日後に肺胞洗浄を行って洗浄液中の細胞数と種類を測定した。また、肺胞洗浄液中の細胞(95%以上が肺胞マクロファージ(AM))を貪食した粒子の数により分類、その数を測定した。洗浄した肺は可溶化し、肺に滞留していた粒子を回収しその量を測定した。その結果、肺胞クリアランスが行われている期間において、沈着直後にAMに即座に貪食された粒子は肺のAM集団の間で徐々に再分布し始めることが示唆された。

大気中の浮遊粒子状物質は肺胞上皮に沈着し、おそらく血管経路によって除去され、残りは肺胞内や肺間隙に入り込んでいる。肺胞内にある不活性粒子と細胞質相互作用は、主にマクロファージによるが上皮細胞も貪食作用があるかどうか、不活性粒子の取り込みと粒子の細胞外への移行については検討がされていなかった。Hepplestonら(1973)は、そこで上皮細胞における不活性粒子の取り込みと細胞外への移行について検討した。雄性C57BLマウス、に墨の浮遊物(カーボン粒子径 $50\text{nm}$ 以下)を希釈し鼻腔に滴下投与した。1日1回、5回繰り返し投与を行い、最終投与日と、その後3, 4日から24日までの間隔で屠殺した。マウスによって吸入されたカーボン粒子は、肺胞マクロファージに貪食され、多くは肺胞間隙に残存した。マクロファージが死に、分解することにより、肺胞上皮は繰り返し曝露される。少量のカーボンは、少数のI型上皮細胞の細胞質の中に確認されたが、II型上皮細胞の中には見られなかった。肺胞や間隙にある $1\mu\text{m}$ 以下の不活性粒子は、おそらくI型上皮細胞を通りぬけてきたものである。

Adamsonら(1981)は、粒子に対する肺のマクロファージの反応と粒子の上皮層通過との関連性について、カーボン(8, 4, 2, 1,  $0.1\text{ mg}$ , 直径 $0.03\mu\text{m}$ )およびポリスチレンラテックス( $4\text{ mg}$ 直径 $0.1$ と $1\mu\text{m}$ )などの粒子と熱処理したブドウ球菌( $10^9$ ( $2.5\mu\text{m}$ と超音波破碎した $0.6\mu\text{m}$ のもの))の懸濁液または生理食塩水をCD1マウスに気管内投与し検討した。いずれの実験においても、マクロファージの数の増加と肺の間質の細胞の増殖は対応を示した。I型上皮細胞を通過した粒子は肺の間質のマクロファージにより貪食されていた。これらのことから、肺胞内に入った粒子は、I型上皮細胞と接触しそれを透過すると、間質のマクロファージにより貪食され、この粒子負荷マクロファージはリンパ節に移行する可能性がある。粒子の透過は、肺の間質の線維症を引き起こすと考えられているアスベストやシリカの粒子の研究においても重要であると考えられる。

Snipesら(1988)は、鼻からの吸入で大きな粒子の沈着パターンと動態を2種の実験動物で行った。ラットとモルモットに $^{46}\text{Sc}$ で標識した3, 9,  $15\mu\text{m}$ ポリスチレン-ラテックス粒子を吸入させた。 $3\mu\text{m}$ のポリスチレン-ラテックス粒子でのラットとモルモットの肺胞における沈着はおよそ1.4%と0.55%であった。 $9\mu\text{m}$ ,  $15\mu\text{m}$ の粒子はどちらにおいても検出されなかった。沈着した粒子の95~99%は0.5~1.0日の生物学的半減期で動物から除去された。 $3\mu\text{m}$ ポリスチレン-ラテックス粒子はラットでは63日、モルモットでは83日であった。除去された粒子のほとんどが糞の中にあった。ポリスチレン-ラテックス粒子の最初の肺の負荷のおよそ1%は肺から肺のリンパ節に移動した。また、頭部の気道に沈着した粒子の生物学的半減期は9-350日の範囲であるという結果が得られた。これらのことからヒトにおける類似した粒子の

の沈着及び滞留の予想はできなかった。そのような概算はヒトでの研究結果からかあるいはヒトと類似した沈着パターンをもつ実験動物での結果から行うべきと考えられた。

Lippmannら(1984)は、気管支における種間での粒子沈着と粘液のクリアランスの比較を行った。ヒト及び実験動物の気管支に沈着する不溶性粒子が吸入されると、粘液に輸送されて飲み込まれる。気管の線毛による輸送時間は0.1～1dと様々である。クリアランスは粒子の沈着と気道の粘液輸送速度の両方に依存する。実験動物の種間で比較検討された気管内の粒子の沈着と粘液輸送の割合のデータはほとんどない。しかし、様々な種間での肺の大きさや解剖学的な違いはよく知られている。通常使用される実験動物と比較して、ヒトは大きな肺を持ち対称的な上部の気管分枝パターンをもつ。加えて、ヒトは口で多量の呼吸をし、鼻腔に十分なクリーニング機能を有することから、気道分枝の近くの高濃度の沈着や、上部の気管への多量の粒子の沈着の一因となる。小さな線毛のある気管に沈着した空気中の刺激物は粘液輸送を大きく変化をさせるものと考えられる。

Lehnertら(1988)は、SDラットを用い粒子の肺への沈着後の肺胞から気管及び気管支のリンパ節及び胸腔への粒子の運搬について、 $4 \times 10^8$ ポリスチレン粒子(直径 $1.9 \mu\text{m}$ )を気管内投与後30日間にわたり検討した。気管及び気管支のリンパ節の粒子の蓄積に関して、大半は細胞外であった。粒子の蓄積は最も速い期が24時間以内に起こる二相性であった。1～30日までのリンパ節の粒子数は最初の肺への負荷の0.3%まで直線的に増加した。リンパ節の単核貪食細胞(NMP)に結びついた粒子の割合は、リンパ節の粒子の負荷と逆比例していた。

Ferin(1982)は、粒子クリアランスにおける肺胞マクロファージと肺胞孔の役割について検討を行った。肺胞マクロファージは粒子の肺胞クリアランスの中で必須の役割を持っていると考えられている。肺胞マクロファージは肺胞表面の一部分だけに存在しており、おそらくその数は肺胞の数よりも少ない。Long-Evansラット( $\sim 300\text{g}$ )を、二酸化チタン( $\text{TiO}_2$ )エアロゾル( $\sim 15 \text{mg}/\text{m}^3$ )に7時間曝露した。麻酔下で、気管にパラホルムアルデヒド・グルタルアルデヒドを注入し肺を固定し、電子顕微鏡において組織観察を行った。肺表面上に分配され、沈着した粒子の数は、肺胞マクロファージの数よりはるかに多いが、肺胞マクロファージは沈着した粒子を、一時間以内に迅速に処理を行った。肺胞孔は、肺胞マクロファージのための重要な通路となり、粒子との距離を短くしクリアランスに寄与していると考えられた。

Lehnertら(1985)は、Long-Evansラットに放射性物質で標識した酸化鉄( $^{59}\text{Fe}$  Oxide)の水和エアロゾルを2時間曝露し、粒子のクリアランス活性と、粒子と肺胞マクロファージとの結合を検討した。曝露の2～4時間後、洗浄された粒子は採取された肺胞マクロファージの数に直接関係し、 $^{59}\text{Fe}$ 活性の60%は物理的に肺胞マクロファージに結合していた。24時間後では洗浄された粒子の90%以上が肺胞マクロファージに結合していた。そのような結合は、少なくとも肺の中の粒子の75%に見られた。もしすべての $^{59}\text{Fe}$ が肺胞マクロファージに結合したと仮定すると、全ての肺胞マクロファージ集団サイズが $2.14 \times 10^7$  cellsになることを予測できる。この数は粒子の肺胞クリアランス率に関連しており、日々肺から出ていくマクロファージの数は $2.8 \times 10^5$  cells であると考えられた。

Gibbら(1962)は、酸化鉄の吸入後のイヌにおける肺胞クリアランスについて検討した。6匹のイヌに、6か月の間隔をおいて60分の曝露を2回行った。曝露物質は、平均 $0.09 \mu\text{m}$ の直径を持つ酸化鉄

鉄(<sup>56</sup>Fe Oxide) のエアロゾルを用いた。<sup>56</sup>Feの曝露濃度は0.004-0.017 µc/lの範囲で行った。その結果、肺胞クリアランスの生物学的半減期は 44から82日の範囲で、平均62日であった。

Bellmannら(1991)は、放射性同位元素を利用してラットでの粒子状物質の長期吸入曝露における肺クリアランスとトナーの滞留について検討した。F-344ラット(オス,メス)を、6 hr/day, 5day/week で24か月間、0, 1, 4, 16 mg/m<sup>3</sup>の濃度のテストナー、5 mg/m<sup>3</sup>のTiO<sub>2</sub>、1mg/m<sup>3</sup>のSiO<sub>2</sub>を吸入によって曝露した。<sup>59</sup>Feで標識した酸化鉄と、<sup>85</sup>Srで標識したポリスチレン粒子は鼻経路のみにより定期的に吸入させ、肺クリアランス測定に用いた。トナーや対照物質(TiO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>)は、曝露の3, 9, 15, 21, 24か月後に測定した。肺や、肺に結合しているリンパ節に滞留した3物質すべての量は、曝露の継続時間と濃度とともに増加した。3つの曝露濃度でのトナーの最終肺負荷は、それぞれ0.22, 1.73, 15.6 mg/lung であった。両方の放射性同位元素の肺胞クリアランスはトナーの高濃度曝露においてはっきりと損なわれており、中・低濃度曝露においてやや遅くなっていた。トナーの滞留の増加とトナー高濃度曝露群において明確に遅くなったクリアランスは、“肺の過負荷”を示している。<sup>85</sup>Sr-ポリスチレン粒子の肺胞クリアランスはTiO<sub>2</sub>曝露群においてわずかに遅くなり、SiO<sub>2</sub>曝露群において明確に損なわれた。非曝露ラットの肺胞クリアランスは実験の間で加齢に起因する変化により約30%減少した。これらのことから、ラットでの実験ではトナー高濃度曝露レベルにおいて最大許容量(MTD)と最大機能的許容量(MFTD)のどちらも上回る結果となった。

Leeら(1986)は、ラットにおけるTiO<sub>2</sub>粒子の過負荷による肺クリアランスの障害と肺での種々の反応について検討した。ラットにTiO<sub>2</sub>を6hr/day, 5day/week で2年間、1, 10, 50, 250mg/m<sup>3</sup>の濃度で吸入曝露した。肺の生体反応、肺内のTiO<sub>2</sub>滞留、肺クリアランスについて検討を行った。曝露2年後における10 mg/m<sup>3</sup>での肺重量は通常の範囲内であった。50mg/m<sup>3</sup>での6か月後と250 mg/m<sup>3</sup>での3か月後、肺重量は有意に増加した。曝露2年後、乾燥した肺の中のTiO<sub>2</sub>滞留は曝露量に依存して増加した。TiO<sub>2</sub>粒子の滞留は10 mg/m<sup>3</sup>で3.1%(肺あたり26.5 mg), 50 mg/m<sup>3</sup>で16.9%(肺あたり124 mg), 250 mg/m<sup>3</sup>で28%(肺あたり665 mg)であった。肺クリアランス機構は250mg/m<sup>3</sup>で過負荷状態になることが明確となった。しかし、10と50mg/m<sup>3</sup>の間では肺クリアランス率に有意な違いは見られなかった。1年間の50mg/m<sup>3</sup>曝露では、徐々に粒子が蓄積してくることが(8.1%, 肺あたり67.7mg)見いだされた。過負荷となった肺では、TiO<sub>2</sub>粒子を含んだマクロファージ(ダストセル)、泡状ダストセル、遊離粒子、肺胞管に隣接した小胞の中の分解された泡状ダストセルからの細胞片の蓄積などが見いだされた。肺胞プロテノーシスも、曝露一年後の50と10 mg/m<sup>3</sup>において肺クリアランス機構過負荷の重要な指標となることが明白である。コレステロール肉芽腫は曝露1年後の50と10 mg/m<sup>3</sup>における変性泡状ダストセルと共に発生した。曝露2年後の250 mg/m<sup>3</sup>において、細気管支肺胞腺腫がタイプ 肺細胞の過形成が示されている肺胞内に発生した。その間、扁平上皮がんは、肺胞管の中の角質化した異形成の部分から発生した。これらのことから、肉芽腫、肺胞腺腫、扁平上皮がんのような肺がんは粒子の負荷の状態により悪化する可能性が示唆された。

Bolton ら(1983)は、UICCアモサイト繊維を吸入したラットによる肺のクリアランスの過負荷仮説について検討した。Wistarラットを用い、5, 10, 30, 90 mg/m<sup>3</sup>の濃度、6hr/day, 5day/weekの条件で6週間曝露を行い屠殺し、粒子状物質の肺負荷量とクリアランスの関係について検討した。その結果、高い

い肺負荷(約1500 mg/rat)においてクリアランスが低下した。

Lenhertら (1989) は、肺の高濃度粒子状物質の肺胞クリアランス中の多型核白血球の発生速度と粒子状物質の負荷量について検討した。粒子の肺胞クリアランス中の肺に存在する多型核白血球 (PMN) の数と粒子状物質の負荷量を測定するため、4群のF-344ラットの気管支内に直径2.0 μ のポリスチレン粒子を $1.6 \times 10^7$  (L),  $2.0 \times 10^8$  (M),  $6.8 \times 10^8$  (H) 個、または担体のみをそれぞれ投与し、176日後までの肺での滞留時間を測定した。その結果LとMの肺について、35日後までに50%の微粒子がクリアランスされた。一方、Hでは80日後まで50%の粒子が残った。また、PMNについて、7、14、5、8、176日後に肺胞洗浄を行い、洗浄液中のPMNの数とPMN中の粒子の数を測定した。PMNの数について、LとMでは実験期間中どちらもほぼ同じであったが、Hではかなりの増加がみられた。PMN中の粒子はLとMでは観察されなかったが、Hでは観察された。これらのことから1) 貪食された粒子は肺胞クリアランス中に断続的に放出されること、2) PMNが微粒子の「過負荷」状態での病理的变化に大きな影響を与えていることが予想された。

Lenhertら (1989) は、肺への低濃度及び高濃度の微粒子の負荷下における肺胞クリアランス中の肺胞マクロファージ (AM) の透過性について検討した。F-344ラットの気管支内に直径2.0 μ mのポリスチレン粒子を $1.6 \times 10^7$  (L),  $2.0 \times 10^8$  (M),  $6.8 \times 10^8$  (H) 個、または溶媒 (PBS) のみをそれぞれ投与し、176日後までの肺における滞留時間を測定した。LとM群の肺について、35日後までに50%の微粒子がクリアランスされた。一方、粒子の負荷が高いH群では80日後まで50%の微粒子が残った。AMについて、5 μ mポアフィルターを透過する能力を調べた。その結果、多量に貪食したAMに比べて微粒子を貪食していないか、少量だけ貪食したAMではより速くフィルターを透過できることが解った。このことから肺胞クリアランス中に微粒子を貪食していないAMが微粒子が沈着した肺組織へ浸潤しやすいこと、また透過性が上がるよう刺激されやすいことが示唆された。

Baileyら (1982) は、ヒトの肺における不溶性粒子の長期間クリアランスについて動力学的検討を行った。7人のボランティアに、直径1.2と3.9 μ mの<sup>85</sup>Srまたは<sup>88</sup>Yでラベルされたアルミノ珪酸塩粒子を曝露した。呼吸器内の放射線活性を測定することにより、粒子のクリアランスの検討を行った。肺の滞留は、200日以上の間続いた。1.2 μ m粒子曝露では約8%、3.9 μ m粒子曝露では約40%が、6日以内にクリアランスされた。それらは気管に沈着したものである。速い肺胞クリアランスは見られなかった。残りの滞留している物質の半減期は平均320日であった。6日目で滞留していた粒子は1.2 μ m粒子では約4%、3.9 μ m粒子では約11%であったがそれらは約20日間の半減期でクリアランスされた。残りはそれぞれ330日と420日の半減期であった。肺からのクリアランスの推定は1.2 μ m粒子では $1 \times 10^{-3} \text{ d}^{-1}$ 、3.9 μ m粒子では $1 \times 10^{-4} \text{ d}^{-1}$ であり、どちらのサイズでもクリアランスは、約600日の半減期でゆっくりとしていることが示された。

Stahlhofenら (1990) は、1、2、3、6 μ mの直径の単分散、球形の酸化鉄粒子のコロイドを<sup>98</sup>Auもしくは<sup>111</sup>Inと混合し、放射性標識して投与後、ヒトの上気道からの粒子の短期間と長期間クリアランスの関係について検討した。沈着した粒子の一部は急速にクリアランスされ、その後ゆっくりとクリアランスされることが見いだされた。それは粒子の大きさにより変化しており、大きな吸入粒子の90%はすぐに、気管気管支からクリアランスされていることが明らかになった。

Felicetti ら(1981)は、ラットとモルモット、ウサギ、イヌにおける気管の粘液の輸送について比較検討した。気管に沈着した<sup>99m</sup>Tc-MAAのクリアランスは、イヌが早く、他の種は同等であった。<sup>99m</sup>Tc-MAAの気管での粘液輸送の速度は、ヒトに比べて実験動物(特にイヌ以外)は遅いことが見いだされた。

Pepelko(1987)は、ヒトと実験動物における吸入された粒子状物質の長期間クリアランス速度の違いに基づく負荷量の調整の必要性について検討した。それぞれの種において、クリアランス速度の大きな変動が見られるが、それは、おそらく可溶性のエアロゾル粒子や測定技術、肺損傷の可能性、肺結合性リンパ節への移行、肺の中で溶けた化学物質と細胞性高分子との結合などの違いの結果である。同じエアロゾルを用いた種間の比較は利用することができる。通常イヌやヒトの肺胞部位からの粒子の機械的なクリアランスは、多くの実験動物の場合よりも遅く、数倍半減期が長くなる。このことから負荷量の調整が必要となる。

### 2.2.3. DEP の動態

Vostalら(1982)は、F344 ラットとHartley 系モルモットに放射性同位体<sup>14</sup>C ( <sup>14</sup>C-n-ヘキサデカン)を含む燃料を燃焼させ得られたDEに曝露することにより、DEPの沈着、除去、残留について、呼気、糞、尿の<sup>14</sup>Cを調べた。クリアランスにおいては2濃度(7000 $\mu$ g/m<sup>3</sup>で45分間、2000 $\mu$ g/m<sup>3</sup>で140分間)での比較で有意差は見られなかったことからこの濃度ではクリアランス機能に影響がないものと思われる。クリアランスの種差を調べたところF344 ラットでは肺からの粒子の減少が見られたが、モルモットではクリアランスによる減少が見られなかった。モルモットの場合、肺胞でのクリアランスがほとんどないものと考えられる。低濃度の場合は肺の防御システムによってすぐに粒子は除去されるが種によって、クリアランスと滞留に差異があるので、長期の滞留についての研究に使用する実験動物は注意する必要がある。

Leeら(1987)は、F344ラットにカーボンブラックおよびDE曝露により吸入された粒子の肺クリアランスにおよぼす影響について検討した。0.22 $\mu$ mの中程度の空気力学的直径(MMAD)をもつカーボンブラック粒子とサイズ分布が同じ排気粒子をGM-5.7-Lディーゼルエンジンから発生させ、6mg/m<sup>3</sup>、20時間/日、7日/週の条件で1~11週間曝露した。カーボンブラック曝露後<sup>14</sup>C標識したDEPを鼻部専用チャンバーのなかで45分間投与した。カーボンブラック粒子曝露により、肺負荷が曝露時間にもなって増加した。その値は、DE曝露の場合よりも大きかった。また、長期のカーボンブラック粒子曝露は、DE曝露の場合と同様に肺クリアランスを抑制する結果となった。これらのことから、カーボンブラック粒子の過度な蓄積が肺クリアランスに影響を及ぼす大きな要因となっていることが示唆された。

Wolffら(1987)は、曝露の6、12、18、24か月後に吸入した酸化ガリウム(<sup>67</sup>Ga<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)粒子の沈着と、24か月後に吸入したアルミノ珪酸塩に融合させたセシウム(<sup>134</sup>Cs)粒子の沈着は、すべての群において同様であった。DEPの肺負荷の連続的な増加は、24か月後の3.5と7.0 mg/m<sup>3</sup>曝露ラットにおいて観察された。24か月後の0.35 mg/m<sup>3</sup>群のラットは、肺負荷の増加がやや見られた。気管粘液線毛によるクリアランスをアルブミンをテクネチウム(<sup>99m</sup>Tc)で標識したものを使用し検討した。その結果、全ての期間において変化は見られなかった。吸入された<sup>67</sup>Ga<sub>2</sub>O<sub>3</sub>でラベルした粒子のクリアランス半減期は、6か

6か月後の7.0 mg/m<sup>3</sup>と18か月後の3.5 mg/m<sup>3</sup>において有意な増加が見られた。0.35 mg/m<sup>3</sup>では有意な変化は見られなかった。DE曝露の24か月後に、アルミノ珪酸塩に融合させた<sup>134</sup>Cs粒子を吸入したラットの肺クリアランスを測定した。肺クリアランスの半減期は対照群に対し、3.5 mg/m<sup>3</sup>と7.0 mg/m<sup>3</sup>の曝露群において有意な増加が見られた。これらのことから、DEPの肺負荷は、3.5mg/m<sup>3</sup>と70mg/m<sup>3</sup>の曝露群において予想以上に大きく、また0.35 mg/m<sup>3</sup>曝露群において、肺の負荷とクリアランスいずれにおいても影響が小さいことが明らかになった。

Leeら(1983)は、F344ラットとHartley系モルモットに吸入されたDEPの長期間クリアランスについて放射性DEPを用いて検討した。ラットは7mg/m<sup>3</sup>、45分間と2mg/m<sup>3</sup>、140分間DEに曝露された。モルモットは7mg/m<sup>3</sup>、45分間の曝露条件で曝露した。1年後、粒子クリアランスでの有意な違いは見られなかった。ラットにおける吸入されたDEPの長期間滞留は、曝露後330日で測定したところ、それぞれ1日、6日、80日の半減期での3つのクリアランス期があることが見いだされた。モルモットでは曝露後10日と432日の間に非常に小さいクリアランスが観察され、早期クリアランス期だけが、1~2日の半減期であった。

Griffsら(1983)は、亜急性のDE曝露後のラット肺でのDEPのクリアランスについて検討した。ラットは18週間以上、DEP濃度150、940、4100 µg/m<sup>3</sup>で曝露した。DE曝露終了後1日、1、5、5、3、5週間でのラットのDEPの肺負荷を検討した。その結果、150、940、4100 µg/m<sup>3</sup>の濃度で最終曝露終了後1日に測定した粒子の肺負荷は、それぞれ35、220、1890 µg/g lungとなった。DEPの長期曝露クリアランスレートは、低濃度曝露群の半減期87 ± 28日、中濃度曝露群の半減期99 ± 4日であった。高濃度曝露群のクリアランス半減期165 ± 8日は、他の二つの群の半減期よりも有意に長かった。これらのことから、ラットにおけるDE曝露で、高濃度曝露群での粒子の肺負荷は低い濃度の曝露群に比べ高いことが明らかとなった。

Creutzenbergら(1990)は、雌のWistarラットを0.8、2.5、7.5 mg/m<sup>3</sup>のDEまたは12 mg/m<sup>3</sup>のカーボンブラック、10 mg/m<sup>3</sup>の酸化チタンに19時間/day、5日間/weekで24か月間曝露した。あるグループは18か月間の曝露後、清浄空気に6か月間曝露した。肺と肺近傍のリンパ節における粒子のクリアランスと滞留を測定した。DEPの生物学的影響をカーボンブラックおよび酸化チタンと比較検討した。3つの物質の18か月曝露後、肺の重量は対照と比べて3~5倍に増加した。組織学的検討から、気道及び肺組織に増殖反応がみられた。3つの物質の高濃度、18か月曝露による滞留した粒子の量は、約50 mg/肺および8 mg/リンパ節であった。粒子の滞留の結果から推算したそれぞれの物質の半減期は、932日(DEP)、550日(カーボンブラック)、約500日(酸化チタン)であった。トレーサーのクリアランスは3つの物質を曝露したときの肺のクリアランスより低かった。また用いた2種類のトレーサー粒子の肺胞への沈着は異なることから、クリアランスパターンが異なることが明らかとなった。これらの粒子の肺への滞留とクリアランスの半減期から、長期曝露は肺負荷が強いことが示唆された。また粒子の大きさや性状により、反応が異なることが明らかとなった。

Vostalら(1981)は、DE曝露したラットとモルモットの肺におけるDEPのリンパ輸送について検討した。<sup>131</sup>BaをDEPのトレーサーとして使用した。動物はF344ラットを使用し、沈着効率は、吸入した量の15~20%であった。1500µg/m<sup>3</sup>のDEPの長期曝露後、肺胞洗浄液中の細胞(マクロファージと好中球)の

球)の数は有意に増加した。増加した細胞は、通常のマクロファージの半分ほどのサイズであった。光学顕微鏡下での観察により、粒子のリンパ輸送の働きを調べた。低濃度、短期間の曝露でもリンパ組織の気管支周囲と血管周囲の接合が観察された。呼吸器系における粒子の負荷の増加で、肺とリンパ節は曝露量と時間に依存して灰色になり、最終的には黒く染まった。肺胞内のDEPのほとんどはマクロファージに貪食され、粒子負荷マクロファージはリンパ管を通過して活発にリンパ節に移行した。リンパ節において、粒子負荷マクロファージはほとんど輸入リンパ管の被膜下と周囲で観察された。これらの結果からリンパとリンパ節は、粒子と粒子を貪食したマクロファージの集積さらに肺の深部からの粒子のクリアランスにおいて重要な働きをしていることが明らかになった。

粒子状物質の呼吸器系における動態に関するその他の報告を表2-2にまとめた。

#### 2.2.4. 粒子状物質に吸着した物質のクリアランス，滞留，結合

##### BaP

Morseら(1985)は、SENCARやBALB/cマウスでのBaPの局部および経口投与による巨大分子との結合について検討した。BaPがイニシエーションやプロモーションのアッセイ用として使用される時、局部投与法が他のルートによる投与 特に経口投与 より、皮膚の腫瘍を作るために用いられてきた。さらに、系統の異なるマウスはBaPを使用した2つの方法による皮膚の腫瘍発生に異なった感受性を示している。SENCAR系統のマウスはBaPのイニシエーションによる皮膚腫瘍発生に、BALB/cのような他の系統のマウスよりさらに大きな感受性を持つことが知られている。このような投与法と系統差におけるBaPの腫瘍発生の違いとBaPのDNA結合量とその分布の違いの関連を検討するために、BaPを局部投与と経口投与したSENCARとBALB/cマウスで投与後0.5～48時間における<sup>3</sup>H]BaPの分布と結合が皮膚、肝、肺、胃で検討された。皮膚における放射性は高く、BaPの皮膚のDNAに対する結合は、両方のマウス共に、多かった。局部投与におけるBaPは皮膚のDNAとさらに多く結合するためBaPの局部投与後のマウスで皮膚腫瘍発生が増加するものとみなされた。局部投与では、BALB/cマウスはSENCARマウスにおいて放射性が高かった。48時間後におけるBaPの皮膚DNAに対する結合は、両方の経路からの投与においてSENCARマウスより多かった。このように、BaPがイニシエーターとして使用された時、腫瘍形成の感受性の2系統間の差は、この期間における皮膚DNAに結合する量や組織分布における差では説明できない。

Sunら(1982)は、微小粒子に吸着した、または、純粋なエアロゾルのBaPの沈着、滞留および生物学的運命について検討した。放射性標識したPAHのモデルとして <sup>3</sup>H]BaPを用いてF344 ラットに鼻部曝露を30分間行った。不溶性粒子である<sup>67</sup>Ba<sub>2</sub>O<sub>3</sub>にコーティング(15%mass)したものと純粋なエアロゾルを用いた。これらのエアロゾルは蒸気凝結法で生成した。<sup>3</sup>H] BaPの濃度はコーティングしたもので0.6μg/、純粋なエアロゾルでは1.0μg/ であり、これらのエアロゾルの直径は両方ともおよそ0.1μmである。この結果、<sup>3</sup>Hの放射性は<sup>67</sup>Ba<sub>2</sub>O<sub>3</sub>にコーティングした粒子の方が肺に長く滞留した。最初の負荷から90%除去に要した時間は<sup>67</sup>Ba<sub>2</sub>O<sub>3</sub>にコーティングした粒子でおおよそ1日、純粋な<sup>3</sup>H] BaPエアロゾルは4時間であった。気管支での99%の除去に要した時間は<sup>67</sup>Ba<sub>2</sub>O<sub>3</sub>にコーティングした粒子でお



粒子でおおよそ1日、純粋な $^3\text{H}$  BaPエアロゾルでは1.5時間であった。 $^{67}\text{Ba}_2\text{O}_3$ にコーティングした $^3\text{H}$  BaPエアロゾルは粘液によって肺から除去されるものと貪食作用によるものが考えられ、純粋な $^3\text{H}$  BaPエアロゾルは直接吸収され血液に入ることによって除去されるものと考えられた。両方のエアロゾルの $^3\text{H}$ BaP及びその代謝物はほとんどが最終的に糞として排出された。しかし、 $^{67}\text{Ba}_2\text{O}_3$ にコーティングした $^3\text{H}$ BaPエアロゾルの除去では $^3\text{H}$ 放射性は高いレベルで胃、肝臓、腎臓で長い滞留を引き起こした。BaPが吸着した粒子は気道での滞留を増加させるだけでなく、胃、肝臓、腎臓においてこの化合物と代謝物の量を増加させる作用があると考えられた。

Mitchellら(1982)は、BaPの吸入後の分布と滞留について検討した。質量中央直径1~2 $\mu\text{m}$ のトリチウム処理したBaPを1時間吸入させた後、ラットの組織における放射性が測定された。曝露直後には、大量の放射性が鼻甲介、気管、喉頭、肺、気管支リンパ節、腎臓と肝臓で測定された。低レベルの放射性が脳、精巣と脾臓でみられた。気管からの放射性物のクリアランスは2段階で行われた。ほぼ2時間で放射性物質の50%をクリアランスする早い相と、約2日間をかけてクリアランスするゆっくりした相である。脳、精巣、脾臓の放射性物質は、曝露1日目では同じレベルが続き、2日目にわずかながら減少した。この粒子状BaPは早急に溶解し、内臓の器官に運ばれ、糞として体外に出ることが明らかになった。

Creasiaら(1976)は、マウスの気道に沈着した、大きさが異なる炭素粒子からのBaPの溶解について検討した。BaPで被われた炭素粒子(2種の粒子の大きさ、0.5~1.0 $\mu\text{m}$ と15~30 $\mu\text{m}$ )にルテニウム103標識した炭素粒子を経気管的にマウスに投与された。気道からの炭素粒子のクリアランスとBaPの除去率が同時に測定された。15~30 $\mu\text{m}$ の炭素粒子に吸着したBaPは炭素粒子が除去されるのと同じ比率で肺から除去された。反対に、0.5~1.0 $\mu\text{m}$ の炭素粒子に吸着したBaPは炭素粒子の肺からの除去よりも4倍早く除去された。がん発生と粒子からの溶出率が動物における肺がんの病因との関連において議論された。

## ニトロピレン

Sunら(1983)は、直接作用する変異原性物質である $^3\text{H}$ ニトロピレン( $^3\text{H}$ -NP)を窒素芳香族炭化水素のモデルとして使用し、比較的不溶性の不溶性粒子である $^{67}\text{Ga}_2\text{O}_3$ に吸着させた1-NP(全体の6%)と1-NPのみのエアロゾルを吸入させた場合の沈着、滞留と生物学的寿命の比較を行った。 $^3\text{H}$ 活性の気道からのクリアランスは非常に速く、肺での滞留に差異は見られなかった。高い $^3\text{H}$ 放射性が胃と大腸で、 $^3\text{H}$ -NPエアロゾルよりも $^3\text{H}$ -NPを $^{67}\text{Ga}_2\text{O}_3$ にコーティングした粒子に見られた。 $^3\text{H}$ -NP- $^{67}\text{Ga}_2\text{O}_3$ エアロゾルを曝露したラットでは沈着した $^3\text{H}$ 放射性のほとんど(75 $\pm$ 18%)が糞の中に排出された。一方で、 $^3\text{H}$ -NPエアロゾルを曝露したラットでは尿中に $^3\text{H}$ 放射性のほとんど(76 $\pm$ 18%)が排出された。

van Bekkumら(1999)は、ラットを用い $^{14}\text{C}$ -1-ニトロピレン(1NP)を胃内に投与し生体内挙動について検討した。1-NPはDEPに付着して軽い発がん性を持つ物質で一般大気中とディーゼルエンジンを使用している職場環境で以前から検出されている。生体内の挙動を知るために、 $^{14}\text{C}$ -1-NP(27.6 $\mu\text{Ci}$ , 750mg/kg body weight)を一回胃内に投与し、血中や組織ホモジネートの代謝産物の存在、そして血

中タンパク質や組織中のDNAに付着した放射性が検討された。放射性の早期のピークが血液と組織のホモジネートで観察され、胃腸からの $^{14}\text{C}$ -1-NPの吸収が早いことが示された。血漿中、肝臓、腎臓ホモジネートで観察された代謝産物のパターンは腸肝再循環において、腸内の微生物の重要な役割を示唆したが、胃腸管からの吸収に先立つ1-NPの二硝酸還元物質中にそれはなかった。このことは、1-ニトロソピレン(1-NPの二硝酸還元物質)は、タンパク質結合した形でよく含まれていることから、低いレベルの放射性は血中のタンパク質と結合していると説明できるかもしれない。血漿タンパク質と結合した放射性のレベルは、ヘモグロビンと結合した放射性レベルより4倍以上高かった(401.0 and 84.1 pmol/g in protein per  $\mu\text{mol}$  1-NP kg b.w. それぞれ) 最大25%の代謝物は、ヘモグロビンあるいは血漿タンパクの軽度のアルカリ加水分解をして得られた。1-アミノピレンはヘモグロビンの加水分解後にできる唯一の化合物である。1-アミノピレンに加えて、2あるいはそれ以上の極性をもつ未確認の代謝物質も血漿タンパクの加水分解によって検知された。DNAと代謝物の結合は、観察の初期において、肝臓で最大であった(7.4 pmol  $^{14}\text{CEq}/\text{mgDNA}$  per  $\mu\text{mol}$  1-NP kg b.w.)が、しかし、急速に減少し腎のDNA(max 3.0 pmol  $^{14}\text{CEq}/\text{m DNA}$  per  $\mu\text{mol}$  1-NP kg b.w. at 24h)レベルよりも低くなった。肺における放射性は肝臓や腎臓で観察されるDNAと結合したものより8~50倍低かった。これらのことから、1-NPは生体内において、複雑な生物学的変化を受け、多種類の代謝産物になること、血漿代謝産物、血液タンパク付加物およびDNA付加物の濃度はかなり低いことが明らかとなった。それゆえ、ヒトにおけるDEPに付着した1-NPの生物学的運命を検討するためには、もっと感受性のよい選択的な方法が必要である。

Wolffら(1989)は、純粋なエアロゾルあるいは黒色炭素粒子に吸着した $^{14}\text{C}$ -1-ニトロピレン(NP)を吸入したF344ラットの肺における $^{14}\text{C}$ -1-NPの肺滞留と肺の巨大分子との結合について検討した。環境中にみられる1-NPは純粋な化合物として存在するといふよりもむしろ炭素状の粒子に付着している。粒子に付着することは結果的にNPの滞留を延長するかどうか、また、その理由について検討するために、F344ラットに $^{14}\text{C}$ -NPの純粋なエアロゾルと黒色炭素に付着した形で曝露した。肺の総 $^{14}\text{C}$ -NPの量は曝露後0.5時間から30日間のどの時点においても、黒色炭素に付着させた $^{14}\text{C}$ -NPの曝露の方が、純粋な $^{14}\text{C}$ -NPよりも大きかった。黒色炭素粒子に結合した肺における全 $^{14}\text{C}$ の分画は曝露後の時間とともに徐々に減少した。この減少は粒子からのNPの除去を示していた。0.5時間の曝露では、肺の巨大分子と共役結合すると予測され、沈着された $^{14}\text{C}$ の分画部分は、純粋なNPよりも黒色炭素粒子に吸着した方が2倍多かった。肺内で共役的に結合した $^{14}\text{C}$ は黒色炭素に吸収された $^{14}\text{C}$ -NPの曝露時間とともに増加し、曝露後7~30日では投与した放射性物質の約1%のレベルになったが、一方、純粋なNPに曝露した方では、共役的に結合した $^{14}\text{C}$ のレベルは時間とともに減少した。このように曝露後30日では、肺の巨大分子に結合した $^{14}\text{C}$ の量は、黒色炭素粒子に吸着した $^{14}\text{C}$ -NPを吸入した場合 $^{14}\text{C}$ -NPのエアロゾルを吸入したものよりも約10倍以上大きかった( $P<0.05$ )これらの結果は、黒色炭素粒子とNPの結合は、標識巨大分子とNPの代謝産物を増加させることを示唆している。この現象は炭素粒子は吸着したNPをゆっくり放出することに関係すると考えられ、環境中の黒色炭素や同様なものに吸着した時、吸入されたNPの生物学的な影響が増大することを示唆している。

Medinskyら(1985)は、344ラットにおける1-NP代謝物の胆汁分泌と腸-肝循環について検討した。

1-NPは、ほ乳動物の腸管にいる細菌に変異原性を示す。腸管にはニトロ還元酵素がある。この研究の目的は、1-NP代謝物の分泌のルートとしての胆汁の重要性を検討し、もし胆汁中の代謝物の再吸収があれば小腸管の細菌の存在を必要とするか検討することである。オスのF344ラットの胆汁管にカニューレが通され、0.3か1.2 nmolの $^3\text{H}$ -1-NPが静注された。24時間にわたり、胆汁、尿、糞が集められた。胆汁分泌は70(80%)または170(60%) nmolの $^3\text{H}$ -1-NPの濃度を示した。分泌物の半減期は、それぞれ $1.7 \pm 0.3\text{hr}$ ( $\pm\text{S.E.M}$ )と $3.4 \pm 1.6\text{hr}$ ( $\pm\text{S.E.M}$ )であった。尿中の $^3\text{H}$ -NP分泌当量は24時間で6または16 nmol(8%)と用量に依存していた。低濃度において、対照の胆汁管にカニューレした動物と比較して、より高い放射性物質が見られ、1-NPの化合物の再吸収がおきていることを示した。0.3 nmolの $^3\text{H}$ -1-NPの投与前に抗生物質を経口的に与えたラットでは、無処置と比較して、尿中に分泌される放射性物質は減少した。このことは、小腸の微生物は再吸収を促進させるために、1-NPの胆汁分泌代謝物を変化させることを示唆している。グルタチオンデプレサーで前処置したラットは、胆汁中の代謝産物の分泌を減少させたことから、それらは1-NP代謝物のメルカプト酸であることが示唆された。これらの結果は、NPの代謝に胆汁は重要なルートであること、分泌代謝物質の一部は腸で再吸収されること、この吸収には腸内細菌の存在が必要であることを示唆している。

#### その他の PAHs

Wattら(1999)は、ラットの気管支と肝臓における1-ニトロナフタレン(1-NN)の代謝産物であるグルタチオン複合体のマススペクトルとプロトン核磁気共鳴スペクトル法による同定を行った。1-NNは、DE中で検出される物質であり、サイトクロームP450を活性化させ、クララ細胞を傷害する。その機構を明らかにするため、肺と肝臓においてグルタチオン複合体としてトラップされる代謝産物への1-NNの代謝について検討した。ラットに200mg/kgの1-NNを腹腔内投与した。グルタチオン複合体は、マススペクトルとプロトン核磁気共鳴スペクトル法により解析した。グルタチオンの有意な減少は、1-NNを投与したラットの気管支で観察された。1-NNと $^3\text{H}$ グルタチオン、グルタチオンS-トランスフェラーゼとインキューベートした肝臓と肺の実験から6つのグルタチオン複合体が単離された。マススペクトル解析より、これらは、中間体であるエポキシサイドを介したヒドロキシ-ジヒドログルタチオニル誘導体の構造であることが示された。プロトン核磁気共鳴スペクトル法では、4つの異なる異性体：1-ニトロ-7-グルタチオニル-8-ヒドロキシ-7,8-ジヒドロナフタレンと1-ニトロ-7-ヒドロキシ-8-グルタチオニル-7,8-ジヒドロナフタレン、1-ニトロ-5-ヒドロキシ-6-グルタチオニル-5,6-ジヒドロナフタレン、1-ニトロ-5-グルタチオニル-6-ヒドロキシ-5,6-ジヒドロナフタレンを特定した。これらのことから、肝臓での代謝産物のほとんどは $\text{C}_5$ 、 $\text{C}_6$ -エポキシサイド由来であったが、肺における複合体は、 $\text{C}_7$ 、 $\text{C}_8$ -エポキシサイドに由来することが明らかとなった。

Gerdeら(1993a)は、ビーグル犬の呼吸気道におけるPAHsのクリアランスについて検討した。呼吸気道からのPAHsのクリアランスは、2段階で行われる。PAHクリアランスの大部分を占める早いクリアランスと少量のPAHをゆっくりクリアランスする2つである。以前のモデルにおいては、早期のクリアランスは肺胞における薄い肺胞内皮細胞を通過するクリアランスであり、遅い期のクリアランスは気道のより厚い上皮を通過する時のクリアランスである。さらに、両部位のクリアランス速度はPAHが高い好脂性を

性をもっているほど遅い, といことが予測された。研究の目的は異なった好脂性のPAHの肺胞クリアランス量について予測モデルを確立することである。一回の呼吸でBaPまたはフェナントレン(Phe)の結晶エアロゾルをイヌに曝露する新しい方法が開発された。加熱した蒸気から濃縮して作成されたPAH結晶の塊は肺に注入された。そのPAHsの血液中のクリアランスはイヌの上行動脈と右心房に入れたカテーテルによって繰り返し採血され分析された。PheとBaPの半減期はそれぞれの1分と2.4分であった。このことは, 高い好脂性のBaPのクリアランスは肺胞中隙を通るPAHの拡散によって制約を受けるが, 中程度の好脂性Pheは血液の拡散量によって制約されていることを示している。この結果は, 拡散が制限される高い好脂性の吸入PAHsは低い好脂性のPAHsより肺における毒性がより大きい可能性を示す。なぜなら, PAHの毒性は, 細気管支入口で発現する。より厚い上皮のために気管は肺胞部よりリスクが高いものと思われた。

Gerdeら(1993b)は, PAHsのビーグル犬の気道における動態について検討した。生理学的モデルでは, PAHsのような好脂性のものは気道におけるクリアランスが遅くなることを予測している。ビーグル犬の気道に沈着したPAHsの粘液層における粘液線毛クリアランスと滞留が測定された。粒子とPAHs溶解液の粘液線毛のクリアランスは大きな気管支管内に, あるいは, その遠位気管支のMLL ( mucous lining layer) に少量の生食を含むBaPあるいはフェナントレン(Phe), あるいは懸濁した粒子ソルベントグリーン(SG)液, または大きく凝集したアルブミン(MAA)を注入して, 測定された。ビーグル犬の気管において, SGとMAA粒子の粘液線毛のクリアランスは平均27 ~ 30mm/minの速度であった。2つの溶液では, 高い好脂性のBaPのみ線毛のエスカレーターで移動するMLL内に滞留した。また, 粘液の好脂性の部分は非常に早くクリアされ, その最大速度は90mm/minであった。このことは, 空気層との間の単層の肺のサーファクタントはMLLの最上で肺内に広がり, 粘液線毛よりも早いクリアランスをもっていることを示している。しかしながら, MLLの防御的性質によって, 気管支上皮に注入されたBaPのクリアランスは1.4時間の半減期をもった。この時間はPAHがかなり代謝される時間でもある。長い滞留があることは, 気道においてBaPの吸収に拡散的制約があることを示している。気管支上皮における高い好脂性毒性物質が長時間滞留することは毒性を強くする要因となる可能性を示している。

Gerdeら(1991)は, 気管支および肺胞におけるPAHsの滞留について理論的比較を行った。空気と毛細血管間の拡散のための平均距離は肺胞においてわずか0.5 $\mu$ mである, 一方, 細気管支におけるそれは5 $\mu$ mを超えている。そこで, 気管支気道と肺胞では, PAHの滞留に基本的な差があると考えられる。一つの理論的なモデルが, 肺の2つの部分における脂質性物質の滞留をシミュレーションするために開発された。結果は, BaPのようなPAHは気管支に数時間滞るが, 肺胞にとどまるのは1分以下であることを示した。この滞留の典型的な差の予測は, その性質や, 多くの動物実験で観察されたPAHの肺でのクリアランスに2相あることを説明するものである。重要なこととして, ヒトの肺がんがPAHの沈着が吸入した量のほんの少しであるにもかかわらず, 細い気管支に優先して起きることもまた説明しうるものである。

Setoら(1993)は, 肺のPAHsの測定を行った。男性(n=236名)と女性(n=128名)の肺内に蓄積したPAHsを, 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって, 肺がんとの関連を知るために, 測定した。剖検

検日本人の肺における平均値は、BaP、ベンゾ[k]フルオラテン(BkF)およびベンゾ[g,h,i]ペリレン(BghiP)で、それぞれ0.54, 0.44, 0.87ng/g dry lungであった。それらのモデル値は、0.3, 0.3, 0.5 ng/g dry lungであった。PAH濃度の各々の値は他のPAH濃度と高い相関を示した( $r > 0.83$ )。肺のPAH濃度は低い相関で年齢と共に増加した。種々のグループの肺内のBaP, BkF, BghiP濃度は次のような順序であった; 男性 > 女性。男性では、肺がん > すべてのがん > がん以外であったが、女性では異なっていた。男性のタバコを吸うヒトのBghiPの値だけがタバコを吸わないヒトより有意に高かった( $p < 0.01$ )。タバコを吸わない男性のPAH濃度は女性よりも有意に高かった。男性では、タバコの煙やDEのような微細な炭素についてのPAHsの過剰曝露量は肺がんの発病率と相関していた。

## DEP 吸着物質 変異原性物質

Brooksら(1981)は、DEP吸入によるヒトの健康のリスクを評価するために、気道への沈着と滞留及び粒子に関連した変異原性化合物の解離について検討することが不可欠であることを踏まえ、DEPの沈着と生物学的摂取とこれらの変異原性との関連を検討した。DEPと類似した大きさ、形を特徴とする凝集性エアロゾルである $^{67}\text{Ga}_2\text{O}_3$ の沈着をビーグル犬を使って評価した。おおよそ吸入活性の1/3が気道に沈着し、そのほとんどの粒子が肺の中に沈着した。変異原性はディーゼル排気粒子を含む以下の液: ジクロルメタン, 血清, 肺洗浄液, 生理食塩水ジバルミトイルレシチン(DPL), アルブミンに現れた。これらはAmes *Salmonella*システムで同定した。また、大量の変異原性活性がジクロルメタンによって除去された。極微量の変異原性活性は3日間の保存期間を超えた血清と洗浄液で除去された。他の溶媒で除去後に活性は検出されなかった。DEPを生物学的媒体で処理したときには変異原性は最小になった。このことは粒子から生物学的媒体への変異原性物質の放出がないかあるいはタンパクと結合したか他の過程により変異原性物質が除去されたり不活性化されたりしたことによるものと考えられる。

Bondら(1989)は、B6C3F<sub>1</sub>マウス, Syrian ハムスター, F 344 ラット, cynomolgus サルにDE (0.35 ~ 10mg/m<sup>3</sup>), Carbon black (3.5あるいは10mg/m<sup>3</sup>) , 対照として正常空気を40 /min曝露を行った。曝露は6 ~ 7時間/日で週に5日間, 12週間行った。DNAへの結合をラットの肺で調べたところ正常空気を除くどの曝露濃度でも10<sup>9</sup>base pairのうち14か所に見られた。ラットの肺でタイムコースを見たところ、曝露期間とともに蓄積されていった。終了後の4週間は減少し、清浄空気との間に有意差は見られなかった。また呼吸器を解剖して組織について見たところ鼻部と末梢の気道及び肺組織にDE誘導性のDNA付加が見られた。がんとDE曝露との関連性は立証されてないが、がん形成についての仮説を示唆するものと考えられる。また、ラットとサルにおいて肺への粒子の負荷が高くDNAへの結合が見られた。一方、B6C3F<sub>1</sub>マウス, Syrian ハムスターではあまり見られず、ラットとサルにおいて、DE誘導性の発がんが高いと考えられた。

## BaP

Leungら(1988)は、DEPからのBaPの移行と代謝をしやすい肺と肝ミクロゾームの能力について

検討した。DEの粒子に吸着しているPAHのような粒子付着有機化合物は、純粋な形のPAHを吸入した時よりも長く肺内に滞留することが知られている。もし、このような粒子に付着した化合物が組織に作用すれば、その長期の滞留は結果として有害な作用を増加させるかもしれない。粒子に付着したPAHの生物学的効力に影響する因子を検討するために、DEPの表面に付着しているBaPの変化を増強させるマイクロゾームの能力およびBaPを代謝するマイクロゾームの能力について解析した。ラット肺と肝臓のマイクロゾームはDEPに吸着したBaPの場合少量 (<3%) のみを代謝した。ススのない状態での同様な培養下では、遊離したBaPのかなりの量がマイクロゾームによって代謝され、基本的にBaP-9,10-diolになった。肺のマイクロゾームは、BaPを変化させる点で、肝臓のマイクロゾームの約2倍効果的であった。BaPをマイクロゾームで変化させる能力は、代謝やタンパク質の存在と無関係で、マイクロゾーム分画の脂質量に関係していた。これらの知見は、マイクロゾームはDEPからのわずかのBaPを代謝という形でゆっくり変化させることができることを示唆している。

Bondら(1984)は、粒子に付着した $^{14}\text{C}$  BaPと付着していない $^{14}\text{C}$  BaPのイヌの肺胞マクロファージ(PM)による代謝について検討した。PMは肺からの吸入粒子状物質のクリアランスに参与している。PMはまたBaPのような外因性物質の代謝をすることができる。そこで、イヌのPMを使用して、DEP付着したBaPと液体に溶解しているBaPに対するPMの代謝能力と比較した。PMはオスのビーグル犬から取り出され、 $1\mu\text{m}^{14}\text{C}$  BaP(液体およびDEP被覆)と48時間培養された。 $^{14}\text{C}$  BaPとPMを培養した後、細胞とメディアを分離して、各々、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で $^{14}\text{C}$  BaPの総量を測定した。そのメディア( $125\text{ pmol}/10^6\text{ cells}$ )と細胞( $45\text{ pmol}/10^6\text{ cells}$ )両者における $^{14}\text{C}$  BaPの総量は48時間まで培養時間とともに増加した。BaP-9,10-diolとBaP-7,8-diolは培養液中から抽出された主要な代謝物であった。BaP-7,8-diolとBaP-4,5-diolは細胞から抽出された主要な代謝産物であった。少量のBaPフェノールとBaPキノンが細胞液と培養液の両方から検出された。BaPの代謝産物( $20\sim 30\text{ pmol}/10^6\text{ cell}$ )の総量は、 $^{14}\text{C}$  BaP溶液とDEPをおおう $^{14}\text{C}$  BaPで24時間培養した時、有意な差はなかった。このデータは、肺中に滞留した粒子はPM代謝酵素によって作用を受けること、および、つづいておきる代謝は吸入された粒子上の有機化合物の代謝性変化に重要な役割をもつことを示唆している。

Tyrerら(1981)は、DEを曝露したマウスにおけるBaPの吸収と分布について検討した。マウスにBaPを経気道的に注入した。 $^{14}\text{C}$ -BaPを注入され、2, 24, 168時間後、全身オートラジオグラフィーでマウス内分布を検討した。注入後2時間以内で、放射性が動物全体で確認され、最大は肺、肝、腸管(GI)であった。24時間後には、かなりの放射性がGに移行し、168時間後ではGIにわずかに残る状態になることを見出した。

## 1-ニトロピレン

Bondら(1986)は、DEPを被っている1- $^{14}\text{C}$ ニトロピレン(NP)の沈着、代謝、分泌はDEPの曝露濃度に影響されるかについて以下の検討を行った。は曝露濃度を超える高濃度の $^{14}\text{C}$ NPの沈着、は、吸入されたNPの経路と分泌の半減期、は、吸入されたNPの分布と組織における代謝産物を明確にすることである。オスのF344ラットに種々の濃度のNPとDEPを被うNP( $5\sim 1100\text{ ng}/$ )に鼻部曝露した( $50\sim 1100\mu\text{g}/\text{m}^3$ に相当)その結果は、過剰のNPでは、 $^{14}\text{C}$ NPの等価物質の排出は尿中と

尿中と糞中に行われ、NPの曝露濃度と無関係であった。また、純粋な形かDEPに付着しているかは関係なかった。すべての例で、糞中への排出は $^{14}\text{C}$ ]NP等価物の主たる経路であり、尿中への排出の約2倍多かった。呼吸路における $^{14}\text{C}$ ]NPの部分沈着は曝露濃度に従っているようにみえなかった。尿中と糞中の $^{14}\text{C}$ 排出の半減期は約15～20時間であった。すべての曝露で、 $^{14}\text{C}$ は組織中に広く分布した。組織中のNPとその代謝産物を分析すると曝露1時間以内に $^{14}\text{C}$ の90%以上がNP代謝産物になった。DEPを被う $^{14}\text{C}$ ]NPに曝露したラット肺は、曝露1時間内に、純粋なエアロゾル $^{14}\text{C}$ ]NPを曝露したラット肺より約5倍以上多く $^{14}\text{C}$ を含んでいた(148対29pmol/g lung) その差は、曝露後94時間では80倍になっていた(80対1 pmol/g lung) 種々の組織における長期のクリアランス半減期は同じであった。この結果は、粒子に付着したNPは吸入NPの生物学的運命を有意に変化させることを示した。

#### 2.2.5. 粒子状物質の肺外への輸送

##### DEP以外の粒子状物質

Holtら(1981)は、吸入粒子の肺外への輸送について検討した。モルモットに、 $1\mu\text{m}$ 以下のカーボン粒子、温石綿アスベストと青石綿アスベスト塵を曝露した。モルモットの肺の組織学的検討を行った。カーボン粒子、温石綿アスベスト、青石綿アスベストを吸入させたモルモットの肺の組織学的検討により、マクロファージ中の粒子が胸壁を通して肺胞壁の方へ移動することを表している。何週間後か蓄積し塵で充満されたマクロファージが、肺血管に見出される。炭素を貪食したマクロファージはアスベストを貪食したマクロファージよりも移動能が少ないことが明らかとなった。これらのことから、アスベストを吸入した動物からの切片ではマクロファージは血管壁に浸透しているのが見つけられ、いくつかはアスベスト繊維を運んでいる。それらの吸入塵は血管内のマクロファージによって肺外に運ばれる可能性がある。

Snipesら(1988)は、鼻から吸入で大きな粒子の沈着パターンと動態を2種の実験動物で行った。ラットとモルモットに $^{46}\text{Sc}$ で標識した3, 9,  $15\mu\text{m}$ ポリスチレン-ラテックス粒子を吸入させた。 $3\mu\text{m}$ のポリスチレン-ラテックス粒子でのラットとモルモットの肺胞における沈着はおおよそ1.4%と0.55%であった。 $9\mu\text{m}$ ,  $15\mu\text{m}$ の粒子はどちらにおいても検出されなかった。沈着した粒子の95～99%は0.5～1.0日の生物学的半減期で動物から除去された。 $3\mu\text{m}$ ポリスチレン-ラテックス粒子はラットでは63日、モルモットでは83日であった。ポリスチレン-ラテックス粒子の最初の肺の負荷のおよそ1%は肺から肺のリンパ節に移動した。また頭部に沈着した粒子の生物学的半減期は9～350日の範囲であるという結果が得られた。これらのことからヒトにおける類似した粒子の沈着及び滞留の予想はできなかった。そのような概算はヒトでの研究結果からかあるいはヒトと類似した沈着パターンをもつ実験動物での結果から行うべきと考えられる。

Ferinら(1978)は、ラットにおける微粒子曝露後の肺からのクリアランスと肺門リンパ節での含有量について検討した。Long-Evansラットに $\text{TiO}_2$ 微粒子を濃度15または $100\text{mg}/\text{m}^3$ で2～6時間曝露し、また別のラットに様々な濃度の $\text{TiO}_2$ を気管支に0.5m滴下し、曝露後1日目または25日目に $\text{TiO}_2$ の肺及びリンパ節への沈着量を測定、曝露群と滴下群での違い、および曝露量による違いを、比較した。(肺に

(肺について、1日目の沈着量から25日目のものを引いた量を除去量とした。)その結果、低濃度の曝露では肺では曝露群と滴下群どちらも50%近くが除去されたが、高濃度ではほとんど除去されなかった。一方リンパ節では低濃度のときより高濃度の曝露のときの方が微粒子の含有量が多かった(表2-1, 2-2) 肺からの微粒子の除去において、少量の曝露では除去能は刺激され微粒子をよく除去するが、高濃度ではその機能は壊されしむ。

## DEP

Yuら(1988)は、肺へ吸入されたDEPの定量を行った。F-344ラットを用いて以下の3種類の微粒子、質量の80%が炭素の核である微粒子、10%質量の有機物が核に弱く結合したもの、10%質量の有機物が核に強く結合したものの、の滞留、沈着、除去について観察した。その結果、少量の負荷の場合微粒子の浄化率は粘液線毛へのマクロファージの移動が、一方多量の負荷では微粒子の浄化率はリンパや血流へ送られることにより決定されることが示唆された。肺の大きさの違いを考慮することでラットでの観察をさまざまな年齢のヒトへあてはめたDEPのリスク評価を行うことができるとした。

### 2.3. モデルを使った沈着、動態の推定

粒子の肺への沈着、クリアランス、そして滞留を予測するための数学的モデルが開発されてきた。MorrowとYu(1993)はこれらをまとめて総説を書いている。これら数学的モデルには3つの基本的な要素がある。第一に、気道の構造的モデルが数学的に特定されていること、第二におのおのの気道の沈着率の決定に各沈着メカニズムが考慮されていること、第三に粒子の気道における移行と沈着に関してコンピューター解析が可能であること、である。ほとんどのモデルは決定論的deterministic、すなわち粒子の沈着の可能性は、気管支分岐に応じた解剖学のおよび気流に関する情報をもとに決定されたものである。他のモデルは推計学的stochastic、すなわち、個々の粒子の描く軌道や気流のシミュレーションを行うものである。

ヒトにおける粒子の肺内の沈着、クリアランスのモデルが存在する。The International Commission on Radiological Protection(ICRP)は、3次元的なモデルを示している。これらのモデルは、呼吸器系のさまざまな部位での沈着と停留を計算できるようになっており、必要なら沈着した物質が他の臓器や組織に移行する割合まで計算することができる。他のモデルとしては、National Council on Radiation Protection and Measurements(NCRP)のものがあり、呼吸器系を、鼻口腔咽頭喉頭領域、気管気管支領域、肺領域および肺リンパ節とに分けている。各領域について、沈着とクリアランスを分けて計算している。

負荷量を計算するモデルとしては、沈着とクリアランスのデータが利用される。実験動物やヒトにおける負荷のパターンを決定する上で重要な因子として、溶解と吸収の効率があげられる。肺胞領域に比べて、気管支領域の停留に関するデータは不足している。最近、Nikulaら(1997)は、高用量の粒子曝露における負荷量を、動物で比較し、その肺内動態を、ひとつの種から他の種に適用するのは難しいと結論している。



### 2.3.1. 沈着モデル

#### DEP 以外の粒子状物質

Schumら (1980) は、ほ乳動物の肺、気道へのエアロゾル沈着の理論的評価を行った。沈着の算出は以下の3つに依存する。

- (1) ほ乳類の気管支に見られる非対称分枝パターンに反映された解剖学的モデル
- (2) 粒子のサイズと濃度を含む吸入粒子の物質的特徴
- (3) 肺の能力、機能、換気量と呼吸の速度を含む吸入パターンの真の見積もり

ラットに対する解剖学的モデルは形態計測的測定から発達した。このモデルは気管支から肺胞までの気道の管の数、長さ、直径、分枝の角度、肺の重力に対する傾きの角度の見積もりが含まれている。沈着の計算は詳細な解剖学的データを得るところから始まり、平衡状態は解離作用と衝撃作用による沈着作用に対して使用される。このモデルは、制御された吸入によるエアロゾルの沈着の研究から得られた経験的なデータに対する、理論上の予想される沈着を示している。モデル計算に対する呼吸パターン及びエアロゾルの特徴はこの研究と可能な限り近いものを選んだ。モデルはすべてのパラメータが正確な見積もりを出せるよう局所沈着パターンを予想する。エアロゾルと個々の動物の特徴が見積もることができない時に大きな相違が生じる可能性がある。粒子の密度を $1.0\text{g}/\text{cm}^3$ としたとき、直径が $2\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部、気管-気管支部、肺での沈着はそれぞれ38.2, 5.97, 10.87%であった。直径が $0.32\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部、気管-気管支部、肺での沈着はそれぞれ2.5, 1.63, 5.88%であった。また、直径が $0.06\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部、気管-気管支部、肺での沈着はそれぞれ4.7, 3.05, 11.27%であった。

Anjilvelら (1995) は、ラットの粒子沈着の複合経路モデルを検討した。全ラットの細気管支における粒子沈着の複合経路モデルを開発した。不均一な肺モデルのすべての気管支の沈着は沈降、拡散、衝突による沈着の効果に対する解析の公式を用いて算出した。肺のおおのこの細葉への沈着を算出した。これらは粒子の大きさと一回の換気量に依存し、肺の細葉への沈着量の標準偏差は平均沈着量の0.2倍のオーダーであった。ある肺の細葉への沈着量は平均の沈着量のほぼ2倍であった。このことは、ラットの肺の気道の構造が通常影響のない曝露レベルで吸入粒子から傷害を受ける肺の部位があることを示唆している。肺構造の不均一性が吸入粒子の沈着におよぼす影響を評価するモデルの第一歩が示された。

Yehら (1980) は、ヒトの肺気道のモデルを吸入した粒子沈着へ応用した。

ヒトの気道のモデルは気管気管支にシリコンゴムを使った詳細な形態計測的測定に基づいて進展した。Typical Path Lung Modelは肺の一部あるいは肺の全体の代わりに典型的な気道を利用するものである。モデルは幾何学的な指標を含む気道切片の直径、長さ、分枝の角度、重力に対する傾きの角度は吸入した粒子の沈着を概算するのに必要である。様々な呼吸パターンと粒子サイズに対する沈着の推測はこれらの肺のモデルと改良したFindeisen-Landahl計算法で算出した。結果は最近の実験データを用いて行ったところ、満足のいくものであった。肺葉への沈着分画を含む局所沈着もまた算出し、ICRP肺沈着モデルに基づいた結果と比較検討した。Tidal volume が $750\text{ cm}^3$ の場合、直径が

径が $2\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ45.4，3.93，17.8%であった。直径が $0.2\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ0，3.3，14.8%であった。直径が $0.06\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ0，9.8，34.4%であった。

Yuら(1978)は，トランペット肺モデルを用いてヒトの気管を出入りするエアロゾル輸送の式を求めた特性式を用いて偏微分方程式を解いた。これにより，気道に沿った粒子の沈着は停止したり，しなかったりといった一定の呼吸から計算された。0.01 $\mu\text{m}$ から10 $\mu\text{m}$ の範囲の大きさの粒子の沈着はWeibelの肺モデルより算出され，実験データとよく対応しているものであった。Tidal volume が $750\text{ cm}^3$ の場合，直径が $2\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ約45，7，20%であった。直径が $0.2\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ0，2.5，19%であった。直径が $0.06\mu\text{m}$ の粒子の場合このモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ0，11，45%であった。

Yuら(1981)は，鼻部と口腔におけるエアロゾルの沈着の統計的解析を行った。肺に入る粒子の量は頭部の通過経路に依存している。実験データに示されている鼻部からの吸入は  $d^2Q$  ( :粒子の濃度， $d$ =直径， $Q$ =空気の流速) の関数として記述される。解析には他の実験で得られたデータを用いて行い，呼気と吸気の際の鼻部の沈着について吸気時の口腔での沈着について解析し，吸気時と呼気時の鼻部および吸気時の口腔での沈着効率の計算式を提示した。

Cohenら(1998)は，極微小の粒子がヒトの気道に沈着する効果における一価の電荷の影響について検討した。ほとんどの環境中の粒子は一価あるいは二価の電荷を受けている。一価の電荷，電荷が中性なもの，電荷を受けてない，20nm，125nm粒子をヒトのHallow-castモデルで測定，比較を行った。一価の20nm粒子は電荷的に中性な粒子の $3.4 \pm 0.3$ 倍，電荷を受けてない粒子の $5.3 \pm 0.3$ 倍の沈着が見られた。125nm粒子に対し相当する割合は $2.3 \pm 0.3$ ， $62 \pm 0.7$ 倍であった。ほとんどの環境中の粒子は電荷を受けているので，この影響は吸入した極微小な粒子の量を予想するのに使えると考えられる。

## DEP

Yuら(1987)は，若いヒトのDEPの沈着パターンの予想を数学モデルを利用して行った。DEPの物理的な特性と動力学的な挙動が描けるよう考案され，気道の沈着効率に対する数学的な表現に取り入れられた。ヒトの新生児から大人までの解剖学的な肺モデルは得られる組織学的データと形態学的な測定から数学的に算出された。成長肺モデルでは様々な年齢から成熟するまでの肺へのDEPの沈着を算出した。DEPの全および肺胞沈着量は子供は大人に比較し30%及び 20%高かった。若者におけるDEPの沈着は成人と類似したパターンが見られた。子供における局所沈着は年齢にともない大きく変化することが予想された。MMADが $0.2\mu\text{m}$ の粒子では20歳でこのモデルによる鼻部，気管-気管支部，肺での沈着はそれぞれ4，4，7.5%であった。

### 2.3.2. 動態モデル

#### モデルを使った沈着，動態の推定

吸入された粒子の生物学的作用は，沈着とクリアランスの結果滞留する量によって規定される。これらを予測するための数学的モデルが開発されてきた。これらのドシメトリーモデルを実験動物とヒトで作成することにより，動物実験の結果から，ヒトへの健康影響を定量的に外挿することが可能と思われる。

#### 1) ヒトのモデル

ICRPはヒトの呼吸器を4つの解剖学的コンパートメントに区分してモデルを作成することを薦めている。すなわち，胸郭外領域(extrathoracic, ET), 気管気管支領域(tracheobronchial region, TB), 肺胞領域(Alveolar, A) およびリンパ節である。粒子径や吸入機構を考慮した沈着モデルと，それに引き続くクリアランス機構をモデル化し，ヒトで得られたデータは粒子の種類によらず同様と推定している。NCRPから提案されたモデルも吸入されやすさ，4つのコンパートメント，解離と吸収のプロセス，体容量を考慮に入れている。US.EPA(1996)で示された両者のモデルによれば，メディアン値 $0.2\mu\text{m}$ のDEPで約15%が肺胞領域に沈着すると算定された。

#### 2) 動物モデル

Stromら(1988)は，粒子の停留のモデルとして，以下の6つのコンパートメントからなるモデルを報告した。(1) 気管気管支，(2) 肺胞表面のフリーの粒子，(3) 運動性の貪食マクロファージ，(4) 分画された粒子貪食マクロファージ，(5) 局所リンパ節，(6) 消化管 である。Stöberらは，既知のあらゆるクリアランスと停留の生理学的側面を取り入れた多コンパートメントモデルを作成した。これらは，ヒトについてはまだモデルがないため，種間の外挿には用いることはできない。

#### 3) 異なる種間の外挿のための結合モデル

Smith(1985)は，動物，ヒト両者に応用可能な2コンパートメントモデルを作成した。しかし，DEPの動態モデルとして適当か否かは不明である。

Yuら(1991)のモデルは，気管気管支・肺・リンパ節という3つのコンパートメントを想定し，鼻咽頭による過機能，血液と消化管による吸収機能も考慮した。DEPとそれに付着する2つの有機物質の沈着とクリアランスの両方を組み入れている。気管気管支コンパートメントは短期間曝露の場合重要であり，肺胞コンパートメントは長期曝露の場合重要である。またマクロファージによるクリアランスのオーバーロードにも考慮している。また，DEPは炭素コアとクリアランスの早いコンポーネントと遅いコンポーネントからなると仮定されている。これらの算定はラットでの実験データにもとづいている。Yuら(1991)のモデルでは，動物からヒトへの外挿をするために，DEPの有機物のトランスポート速度は種間で変わらないと仮定している。また，DEPの直径 $0.2\mu\text{m}$ 程度の不溶性粒子のクリアランスをより大きな粒径の粒子のデータから算定した。ヒトにおいては重要なコンパートメントかもしれない間質への考慮はされていない。以上のように，Yuら(1991)のモデルでは，さまざまな検証されていない仮定が用いられているが，動物実験からヒトへの外挿をするために，使用可能なモデルと考えられる。

## 2.4. まとめ

### 2.4.1. 沈着

DEPの直径は約0.1～0.3 $\mu\text{m}$ である。0.4 $\mu\text{m}$ 以下の粒子では鼻での沈着はきわめて少ない。放射性のある物質をディーゼル燃料に混入しディーゼルエンジンで燃焼させ、吸入直後の肺や気管の放射性から沈着する割合を推定している。ラットやモルモットを使った場合、概ねDEPの合計の10から20%が沈着する。一方ヒトの場合、0.2 $\mu\text{m}$ の粒子の肺胞沈着効率は10から20%、DEPの場合50%であることが報告されている。

また、0, 0.4, 3.5および7.1 mg/m<sup>3</sup>のDEに6～24か月間曝露した場合でも曝露期間と濃度のいずれも沈着に著しい影響をおよぼさないとの報告がある。

また、モデルを使った推定による肺での沈着は、ヒトの場合、0.2 $\mu\text{m}$ の粒子では8～19%、0.06 $\mu\text{m}$ の粒子では11～45%の範囲の報告があった。

### 2.4.2. 動態

肺に沈着したDEPは粘液線毛運動やマクロファージの貪食によって肺外にクリアランスされる。沈着したもからクリアランスされたものを除いたものが滞留しているものとなる。肺胞からの主にマクロファージによると考えられるDEPのクリアランスは粘液線毛運動によるクリアランスよりも非常に遅い。<sup>131</sup>Baや<sup>14</sup>Cで放射能標識したDEPを用いた研究において、ラットでは粘液線毛運動、マクロファージによるクリアランスによる半減期はそれぞれ1日および60～80日と推定されている。粒子の肺負荷が高くなるにつれ滞留半減期が長くなる。これはマクロファージの貪食できる粒子の容積が限られていることからクリアランスは低下するものと考えられる。ラットでは高濃度の粒子の吸入により、マクロファージによるクリアランス能力を超えて肺に沈着する、いわゆるオーバーロードが認められる。この状況は1mg/g肺重量以上で起こると考えられる。しかしながら、ヒトにおいてこのオーバーロードが起こりうるかは明らかではない。ヒトにおいては、マクロファージによるクリアランスはラットよりずっと遅い。一方、間質への移動がヒトにおける重要なクリアランス機構のひとつかもしれない。

### 2.4.3. 動物からヒトへの外挿に際しての注意点

異なる動物種の間でドシメトリック(dosimetric)な外挿を行う場合には、以上概説した沈着、クリアランスの種差に注意を払う必要がある。また、動物種によって異なる可能性がある、感受性についても十分に考慮しなくてはならない。また、全肺における沈着量は必ずしも種間で比較する際の値として適当でないこともありうる、例えば、単位面積当たりに沈着した粒子密度の方が反応を決定するより重要な因子かもしれない。ラットでは、ヒトに比べて気道の表面積が小さく、同じ沈着量でも単位面積当たりの密度は大きいかもしれない。

Yuら(1991)のモデルは、気管気管支・肺・リンパ節という3つのコンパートメントを想定し、鼻咽頭による過機能、血液と消化管による吸収機能も考慮した。DEPとそれに付着する2つの有機物質の沈着とクリアランスの両方を組み入れている。原理的には、種特異的な生理学的、動態薬理的なパラ

ラメータを用いて、外環境の濃度から肺の内環境での用量を推定し、これからヒトへの非発がん影響の定量的評価に用いようとした。非発がん影響に関する実験で用いられることの多いマウスやモルモットでの負荷量の推定は十分検討されておらず、今後の重要な課題である。