

Salviら(2000)の過去の研究からDEを健常者に曝露すると気道内に好中球,リンパ球,肥満細胞が浸潤することが明らかにされている。本研究ではDE曝露による気道の炎症性メディエーターへの影響を明らかにするために,15人の健常非喫煙者(男性11人,平均年齢24歳)を対象に空気またはDEをクロスオーバー法により交互に曝露して検討した。すなわち各被験者に曝露室内で空気またはDE(PM10: 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; NO₂: 1.6 ppm; NO: 4.5 ppm; CO 7.5 ppm; total hydrocarbons 4.3 ppm)を1時間吸入曝露し,その6時間後に気管支鏡により気道生検および気管支肺胞洗浄(BAL)を行った。DEの吸入曝露後には気道壁およびBAL細胞からのIL-8とGRO- α の産生亢進が認められた。気道壁におけるIL-5産生もDE曝露群で高い傾向にあったが有意差はなかった。一方,IL-1 β , TNF α , GM-CSFの産生はDE曝露によっても変化しなかった。以上の結果からDEを曝露された気道内ではケモカイン(IL-8とGRO- α)が産生されることが明らかにされた。

Nordenhallら(2000)はDEの曝露が気道炎症に与える影響を検討した。15人の健常非喫煙者(男性13人,平均年齢25歳)を対象に空気またはDEをクロスオーバー法により交互に吸入曝露した。すなわち曝露室内で各被験者に空気またはDE(PM10: 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$; NO₂: 1.6 ppm)を1時間曝露し,6時間および24時間後に高調食塩水の吸入による誘発喀痰を採取した。6時間後の誘発喀痰の検討では空気吸入に比べてDE吸入被験者において好中球数,IL-6濃度,メチルヒスタミン濃度が増加していた。しかし24時間後の誘発喀痰では空気吸入,DE吸入のいずれにおいても好中球の増加が観察され,これは先行した喀痰誘発の影響と思われた。以上の結果からDEの吸入曝露は気道内の好中球,IL-6,メチルヒスタミン濃度を増加させることが知られた。一方,喀痰誘発の反復は気道炎症の解析に影響を与えたと考えられた。

3.2.2. 非発がん影響に関する疫学研究

3.2.2.1. 急性影響に関する疫学研究

職業上の曝露に関する研究

Jørgensenら(1970)はDEへ曝露されている鉄鉱山の120名の地下作業者と120名の坑外作業者のFVCとFEV₁を検討している。交代勤務前後のFVCとFEV₁の変化はみられず,また坑外作業者と地下作業者の差もみられなかった。気管支炎の頻度は地下作業者の方が高かったと報告している。また,地下炭鉱での曝露濃度はNO₂が0.5~1.5ppm,粒子状物質が3~9mg/m³であったとしている。

Amesら(1982)は炭鉱労働者の呼吸機能に対するDE曝露の急性影響を検討している。DE曝露群として,米国ケンタッキー,ユタ,コロラド,ワイオミング州の6つの炭鉱の約1000名の炭鉱労働者のなかから60名が選ばれた。対照群はNIOSHデータベースと近隣の鉱山から90名が選ばれた。呼吸機能の測定は8時間交代勤務の前後に実施された。作業環境の測定結果は吸入性粉じん2.0mg/m³,NO₂濃度0.3ppm,CO濃度12ppm,ホルムアルデヒド0.3ppmであったと報告されている。両群とも交代勤務の前後で呼吸機能(FVC, FEV₁, V_{max50})の有意な低下がみられたが,喫煙状況を考慮してもDE曝露群と対照群間には差がみられなかったと報告している。著者らはDE濃度が低かったことや他の粉じんとDEとの相互作用の可能性について述べている。

Gambleら(1987a)は4カ所のディーゼルバス整備場の作業員232名を対象に、作業中のNO₂と吸入性粒子の個人サンプリングを行い、急性呼吸器症状および作業前後の呼吸機能検査を実施した。NO₂(>0.3ppm)および吸入性粒子(>0.31mg/m³)の測定値は、作業に関連する症状(咳、眼のかゆみ、焼ける感じ(burning eye)、流涙、呼吸困難または労作性息切れ、胸部絞扼感、喘鳴)と関連がみられた。作業中に経験されるburning eye、頭痛、呼吸困難または労作性息切れ、嘔気、喘鳴の有症率は、対照群である鉛電池工場作業員よりも高率であったが、作業に関連しない頭痛は逆に低かった。両群の比較は、年齢と喫煙についての調整後にも認められている。作業前後のFVC、FEV₁、ピークフロー、FEF₅₀、FEF₇₅は明らかな差が認められず、NO₂、吸入性粒子への曝露と呼吸機能の急性の低下との間に関連はみられなかった。作業に関連した呼吸器系の症状を訴えることの多い作業員は、こうした症状のない作業員に比べてFEV₁とFEF₅₀の急性の低下がやや大きかったが、統計学的には有意ではなかった。

Ulfvarsonら(1987)は燃焼エンジン排出物への曝露が健康に与える影響について検討している。対象者はバス整備場作業員17名、カーフェリー乗組員25名、ローロー船(roll-on roll-off ships)作業員37名であり、呼吸機能の変化を調べた。前2群はガソリンとDEの両者に曝露し、後者は主としてDEに曝露していた。ディーゼルのみ曝露の8時間平均は粒子状物質0.13~1.0mg/m³、NO0.02~0.8mg/m³、NO₂0.06~2.3mg/m³、CO1.1~5.1mg/m³、ホルムアルデヒド0.5mg/m³以下であった。呼吸機能値の低下は、10日間DEへの曝露がなかった後の作業中に最大であった。FVCとFEV₁はその作業により有意に低下した(それぞれ0.44L、0.30L、p<0.01、p<0.001)喫煙者と非喫煙者では差がみられなかった。ディーゼルトラック排気への曝露のない日が5日間しかない船内労働者(24名)でもFVCの低下(-0.16L)は認められたが、影響は小さかった。DEへの曝露のない日が3日あると呼吸機能は正常に戻った。呼吸機能の変化は顕著ではなく、一時的な影響であることが示唆された。6名を対象にチェンバー内でのDEへの実験曝露(粉塵0.6mg/m³、NO₂3.9mg/m³、3時間40分)が行われているが、呼吸機能の変化は認められず、尿中変異原物質の分析でも影響は観察されなかった。

Ulfvarsonら(1990)はローロー船の船内作業員(48名)の呼吸機能の測定をトラックの排気筒にフィルターを装着した群と装着しなかった群について行っている。呼吸機能測定は交代勤務の前後に実施された。フィルターを装着した場合には粒子状物質濃度は0.23mg/m³から0.12mg/m³に改善したが、ホルムアルデヒド濃度については逆に0.03ppmから0.27ppmに上昇していた。交代勤務前後でのFVCの低下はフィルター装着群で50~60%軽減されていたと報告されている。

Kahnら(1988)は1974~1985年にわたるユタ、コロラド両州の5箇所の地下炭鉱における13名の炭鉱労働者に対するインタビューの報告をしている。多くの対象者で粘膜刺激症状、頭痛、めまいの症状が報告されている。症状と病態生理学的な対応が不十分であるが、それぞれの症状は重篤であった。

Wadeら(1993)はDEの大量曝露により喘息が発症したとする症例を報告している。3人の鉄道員(長期間鉄道業務に従事しておりDEの曝露も相当期間あると考えられる)が車掌室のないディーゼル機関車の先頭車両(高濃度の排気ガスで曝露される)に乗車直後、喘息を発症した。喘息の診断

は症状,呼吸機能検査,メサコリンあるいは運動に対する気道過敏性の測定に基づいて行われた。いずれの鉄道員も喘息や他の呼吸器疾患の既往はなく,喫煙者でもなかった。

地域集団における疫学研究

PM_{2.5} や PM₁₀ などの粒子状物質濃度の短期的変動(多くは日単位)と死亡数,呼吸器や循環器系疾患による入院数,受診数,救急外来受診数,呼吸機能検査値,呼吸器症状との関連性に関する数多くの研究報告が諸外国から出されている。多くの研究では粒子状物質濃度とこれらの影響指標との間の統計的な関連性をみとめている。これらの研究では粒子状物質以外のオゾン,二酸化硫黄,二酸化窒素,一酸化炭素濃度との関連性を報告しているものもある。特に PM_{2.5} として測定されている微小粒子とは強い関連性を示す報告があり,大気汚染による健康影響について国際的な関心事となっている。しかしながら,現在のところ,粒子状物質濃度の短期的変動に対して DE がどのように関与しているかについてはほとんど明らかになっていない。そのために,DE の急性影響の観点からこれらの知見を評価することは困難である。

3.2.2.2. 慢性影響に関する疫学研究

職業上の曝露に関連した研究

Battigelliら(1964)は15年以上DEの曝露を受けていた210名機関車修理工と曝露を受けていなかったと考えられる鉄道操車場作業員154名と比較して,呼吸機能には有意差はなく,曝露歴よりも喫煙の影響が強かったと報告している。

El Batawiら(1966)がエジプトのアレキサンドリアにおける2ヶ所のディーゼルバス整備場について環境および健康調査を行った報告である。粒子濃度は1.34~4.25mg/m³,SO₂は0.13~0.81ppm,NO₂は0.4~1.4ppm,アルデヒドは0.6~44.1ppmであったと報告されている。作業従事者においては上気道疾患,慢性気管支炎,喘息,潰瘍,胃炎および高血圧の頻度が期待値よりも高かった。呼吸器疾患はアクロレインや炭化水素の存在,作業従事者の喫煙習慣の他,ばい煙や刺激物質の相乗効果によるものと考えられる。慢性消化不良や消化性潰瘍は夜間勤務の緊張,不規則な食事摂取および溶解した刺激物質の飲み込みによると考えられるとしている。

Hannunkariら(1978)はフィンランドの鉄道従業員を対象とした作業環境と健康に関する研究の結果を報告している。対象者はフィンランドの鉄道従業員で1955年12月1日に従事していた機関士全員4,347名であり,対照群としては同時期におけるその他の乗務員(列車乗務員,車掌,転轍手)の2分の1である1,575名,鉄道事務職員全員1,224名とした。作業条件として勤務時間,騒音,振動,換気,座席などを評価し,自覚症状,疾病,死亡,障害の状況を調べた。自覚症状は作業条件の悪い群で多く,背部痛,高血圧,皮膚炎が高率であった。神経症状としては倦怠,疲労感が多く,難聴と胃腸障害も高率であった。1973年12月までの追跡調査により就労不能および死亡の発生について調べたところ,機関士群は対照群に比べて就労不能,死亡率ともに高率であり,特に循環器系疾患と悪性腫瘍による死亡が多かった。しかし,作業環境測定では障害や死亡に関連する危険因子は認められておらず,機関士で循環器系疾患や悪性腫瘍が多い原因は不明である。複雑なス

トレスが危険因子となっているのかもしれないとしている。

Attfieldら(1978)はシリカとDEへの曝露の影響を調べることを目的として、1976年と1977年に21の金属および非金属の鉱山で呼吸器症状調査と呼吸機能検査を実施し、ほぼ同時期に環境測定を行った。呼吸性粒子濃度は $0.94 \sim 6.24\text{mg}/\text{m}^3$ であったと報告されている。ディーゼルを用いている鉱山は18であり、DE曝露量の評価は使用年数により高曝露と低曝露に分けられた。質問紙調査では、持続性せきの有症率はアルデヒドへの曝露と関連がみられたが、呼吸機能検査ではアルデヒドによる影響は認められなかった。CO₂、CO、NO₂、吸入性粉塵、吸入性石英と呼吸器症状有症率および呼吸機能検査との間には明らかな関連はみられなかった。ディーゼル曝露について生産部門、運送部門、保守部門、その他の4つに分類して検討しても、症状や呼吸機能との間に一定の傾向は認められなかった。

Sternら(1981)は低濃度の一酸化炭素への慢性的曝露の健康影響を調べるために、New Jerseyで1944~1973年の間に6ヶ月間以上自動車検査に従事した白人男性1,558名の死亡状況を調べる歴史的な前向きコホート研究を行った。作業衛生調査では、作業者は時間加重平均(TWA)で10~24ppmの一酸化炭素への曝露を受けていた。期待死亡数と1973年8月までに観察された死亡数を比較した。観察コホートは心血管系死亡がやや多かったが(観察死亡数124,期待死亡数118.4)、雇用後最初の10年間ではより顕著な過剰死亡が観察された(観察死亡数28,期待死亡数20.9)30年の潜伏期間後、自動車検査作業者ががんによる死亡が統計学的に有意に多かった(観察死亡数13,期待死亡数6.9)が、この過剰死亡は特定部位によるものではなかった。事故による死亡数は有意に少なかった(観察死亡数8,期待死亡数19.6, $p < 0.01$)。

Attfieldら(1982)は米国ニューメキシコ州の6つのカリウム鉱山の630名の鉱山労働者を対象として、1976年にBMRC質問票を用いた調査および胸部X線撮影、呼吸機能検査を実施した。これら6つの鉱山(A~F)でのディーゼルの使用状況はかなり異なっており、作業環境での個人曝露濃度測定結果は総粉じん濃度 $9 \sim 23\text{mg}/\text{m}^3$ 、NO₂濃度 $0.1 \sim 3.3\text{ppm}$ 、CO濃度 $5 \sim 9\text{ppm}$ 、アルデヒド濃度 $0.1 \sim 4.0\text{ppm}$ であったと報告されている。最もDEへの曝露レベルが高いと考えられたC鉱山では非喫煙者ではFEV₁が低値であったが、喫煙者では最も高値を示しており、結果は一貫していなかった。持続性せきおよび持続性たん症状についてはC鉱山の鉱山労働者で高い傾向がみられていた。

Regerら(1982)は米国ケンタッキー、ユタ、コロラド、ワイオミング州のディーゼル機関を使用している6つの炭鉱の約1000名の炭鉱労働者の呼吸器症状と呼吸機能を調査した。炭鉱労働者には地下作業者と坑外作業者、それぞれ550名、273名が含まれている。ディーゼルを使用していない近接する炭鉱の労働者の中から、地域、喫煙状況、人種、年齢、慎重、従業年数をマッチした対照が選ばれた。地下炭鉱作業者の曝露群は対照群よりも持続性せき有症率が有意に高く、持続性たんについても同様の傾向がみられていたが、呼吸困難については逆の傾向であった。FVC、FEV₁、FEF₇₅、FEF₉₀については、地下作業者の曝露群は対照群よりも有意に低値であったが、ピークフローでは逆に有意に高値であった。坑外作業者においても同様の傾向がみられていた。作業環境中の呼吸性粒子の測定結果は、地下作業者のDE曝露群で $1.16\text{mg}/\text{m}^3$ 、非曝露群で $1.02\text{mg}/\text{m}^3$ であり、坑外

り、坑外作業者の DE 曝露群で $0.84\text{mg}/\text{m}^3$ 、非曝露群で $0.86\text{mg}/\text{m}^3$ と報告されており、曝露群と対照群で差がない可能性がある。著者らはこの結果について DE 曝露以外の因子の影響である可能性について言及している。

Tollerud ら(1983) は 1972 年に 175 名のトンネルおよび高速道路職員について呼吸器症状と呼吸機能を調査した。1975 年にそのうちの 84 名が再調査された。対象者の毛髪中および血中鉛濃度が自動車排ガスへの曝露指標として測定された。呼吸器症状と喫煙状況とは関連しており、喫煙状況で層別して解析すると曝露指標とは関連がみられなかった。年齢、身長、喫煙量を調整すると FVC、FEV₁ と曝露指標との関連性は認められなかった。また、2 回の調査が実施された 84 名については 1 回目と 2 回目の変化は曝露指標と相関していなかったと報告している。

Gamble ら(1983a) は 5 つの岩塩鉱山の 259 名の白人男性労働者を対象として、DE と呼吸器症状、呼吸機能、胸部 X 線撮影検査との関連性について断面調査を実施した。5 つの鉱山のうち、2 鉱山はディーゼルが広範囲に使用されており、残りの 2 鉱山でのディーゼル使用は限られており、1 鉱山では使用されていなかった。呼吸器症状は BMRC 質問票を用いた面接式で実施された。また、一部の対象者で測定された呼吸性粒子濃度は平均 $0.57\text{mg}/\text{m}^3$ 、NO₂ 濃度は平均 1.33ppm であった。そのデータに基づいて累積曝露濃度が推計されている。咳症状は呼吸性粒子および NO₂ 累積曝露濃度とは関連性がみられなかったが、痰症状は関連性がみられていた。FVC、FEV₁、ピークフロー、FEF₅₀、FEF₇₅ とは関連性がみられなかった。坑外作業者、カリウム鉱山夫、非鉱山夫と比較して、年齢・喫煙歴を調整した場合、咳、痰、呼吸困難、気道閉塞は増加していなかった。呼吸機能値は低下していた。さらに、Gamble ら(1983b) は職種に基づいてディーゼル曝露の程度を 3 段階に分類した解析を行った。それぞれのカテゴリーの平均吸入性粒子濃度と NO₂ 濃度はそれぞれ、0.40、0.64、0.82 mg/m^3 、および 0.64、1.77、2.21ppm であった。持続性たんについてはディーゼル曝露と有意な関連性がみられていたが、咳、呼吸困難については有意ではなかった。呼吸機能についても関連性がみられなかった。坑外作業者、カリウム鉱山労働者、非鉱山労働者と比較して、咳と痰はディーゼル曝露群で上昇していた。また、ピークフロー、V_{max50}、V_{max75} は有意に低下していた。

Ames ら(1984) は Reger ら(1982) の報告と同じ対象集団について、DE への曝露が慢性的な呼吸器への影響をもたらすかどうかを調べるために 5 年間にわたる前向き研究が行われた。地下炭鉱においてディーゼルに曝露された 280 名の鉱山労働者とディーゼルに曝露されていない 838 名の鉱山労働者について、1977 年から 1982 年までの 5 年間にわたり呼吸機能の変化と慢性呼吸器症状(慢性せき、慢性たん、息切れ)の発現を調査した。地下作業の平均年数は、各炭鉱により 6.6 ~ 17.4 年であり、1977 年の測定では、現行基準の 25%を超えない非常に低レベルとされている(測定値は記載なし)。年齢、喫煙、地下作業年数などを調整した FVC、FEV₁ の 5 年間の低下量は、DE 曝露作業者のほうが非曝露作業者よりも小であった。地下での DE 曝露年数と呼吸機能値との関連もみられなかった。せき、たん、息切れの 5 年間での発生率も、曝露作業者のほうが非曝露作業者よりも低かった。このように、曝露作業者と非曝露作業者の比較、DE 曝露年数との関連のいずれによっても DE 曝露の影響は認めることができなかった。

Edling ら(1984) は DE 曝露の健康影響を検討するためにコホート研究を行った。1950 ~ 1959 年の

間にスウェーデンのバス会社に採用された全男性職員を対象とし、事務職員、バス運転手、バス整備場作業者の3群に分類した。本研究はパイロット研究であり、1951～1978年の間に129名を観察した(3161.5観察人年)。喫煙を考慮し、曝露期間10年以上、潜伏期間(induction-latencytime)5年以上とすると、対象は79人、1093.5観察人年であり、最も曝露レベルの高いバスガレージ作業場で心血管系による死亡のリスクが4倍であった。このことは一酸化炭素曝露と心血管系疾患との関連を示すものであるとしている。Edlingら(1987)は、5つのバス会社に1950年から1959年の間に勤務したことのある従業員694人で、1951年から1983年までの死因を調べた成績を報告している。死亡者は195人で標準化死亡比は82、心血管疾患による死亡数は121人、標準化死亡比は104で、有意な差は認められなかった。事務職員、バス運転手、バスガレージ作業者の3群別に検討しても差はみられず、パイロット研究の結果を否定している。

Gambleら(1987b)は4カ所のディーゼルバス整備場作業員283名について、DEへの曝露が呼吸器に与える慢性影響を調べるために、呼吸器症状、X線による塵肺の診断、呼吸機能検査を実施した。独立変数として、人種、年齢、喫煙、飲酒、身長、作業従事年数(曝露評価の指標として用いた)を含めた。平均作業従事年数は9±10年であった。曝露と影響の関連では、症状と作業従事年数の関連はなかった。呼吸機能値と作業従事年数には関連があり、作業従事年数が長くなるほどFVC、FEV₁、ピークフロー、FEF₅₀の低下が認められたが、FEF₇₅は関連がなかった。対照集団(曝露のないブルーワーカー716名)との比較では、年齢、人種、喫煙を間接的に調整した後に、バス整備場作業員はせき、たん、喘鳴の有症率が高かったが、作業従事年数との関連はみられなかった。呼吸困難は曝露反応関係の傾向が示されたが、有症率の増加はみられなかった。バス整備場作業員の呼吸機能の%予測値は100%を超えており、対照集団よりも高値であったが、10年以上作業に従事しているものでは低下していた。以上より、DEへの曝露は呼吸機能値を低下させるが、X線の変化はみられなかった。呼吸器症状の有症率は高かったが、作業従事年数との関連はみられなかったと報告している。

Purdhamら(1987)はカナダのバスコティアとニューファンドランド島間のフェリーの船内作業17名(曝露群)の呼吸器症状と呼吸機能検査を実施し、対照群として事務職11名を選んでいる。個人サンプラーを用いて粒子を捕集し、PAH分析を行うとともに、アルデヒド類、CO、NO_x、SO₂濃度の測定が実施された。船内作業員の粒子状物質曝露濃度は0.06～1.72mg/m³で、対照群の0.13～0.58mg/m³に比べて高値を示していた。呼吸器症状については両群に差はみられなかったが、呼吸機能については曝露群が低値を示していた。

Jacobsenら(1988)は地下で働く炭鉱労働者のディーゼルエンジンや爆薬の使用による低濃度の窒素酸化物への慢性的な曝露と呼吸器感染症の関連を調査した。英国の9カ所の炭鉱(そのうち5カ所でディーゼルエンジンを使用)の炭鉱労働者19,901名を対象に1954年より前向き疫学研究が行われた。1976～1982年に炭鉱で実施された窒素酸化物測定(4,933回)の中央値は一酸化窒素0.2ppm、二酸化窒素0.03ppmであり、これらのうち10%は一酸化窒素1.1ppm、二酸化窒素0.08ppmを超えていた。合計で40,071回の問診が実施され、5,408回の感冒、インフルエンザ、気管支炎が報告された。感染症の報告は、年齢、喫煙、同じ疾病の既往、慢性気管支炎症状、低呼吸機能、塵肺

の所見, および地上作業に対比して地下での就業年数が長期であることと正の関連が認められた。就業年数との関連は, 特に発破作業で顕著であり, ディーゼル運転でも認められた。しかし, 窒素酸化物への職業的曝露の影響は喫煙の影響等を考慮しても明らかではなかった。以上より, 1970年代の英国の炭鉱におけるレベルの窒素酸化物に長期間曝露しても呼吸器系感染症のリスクは増加しないと結論している。ここで報告された窒素酸化物濃度は, 都市環境における自動車排気ガスによる濃度と同等であり, 肉体労働者の呼吸器感染症には影響しないことを示唆している。

Kilburn(2000)はDEが中枢神経系に障害を引き起こすという仮説を検証した。息切れ症状のある10名の鉄道労働者および6名の電気工は, 反応遅延, 記憶喪失, 睡眠障害も示し, これらはいずれも神経行動障害を示唆していた。6名の電気工は, コンクリートの壁と屋根で囲まれたところで作業をしており, そこにはトラックからのDEが充満していた。7名の鉄道機械工は, 15~50年間ディーゼルエンジンを操作しており, 3名の乗務員は機関車に乗務していた。神経行動および視覚機能は26種類の検査で測定した。本研究の対象となった16名は, 曝露を受けていない人に比べて反応時間, 平衡感覚, 瞬目反射の遅延 R-1, Culture Fair, peg placement, tail making, 言語記憶(verbal recall)の有意な障害がみられた。13名は異常視野, 11名は異常な色彩混乱指数を示した。9名には気道の閉塞がみられた。著者はこれらの異常が交絡因子やバイアスによるものとは考えることができず, 重篤な神経行動障害はDEへの曝露と明らかに関連がみられたとしている。

Ulvestadら(2000)は, トンネル労働者は, 発破やDEによるガスや粒子に曝露されている。この研究の目的はトンネル労働者における呼吸器症状や気道閉塞の発生を評価し, 曝露年数との関連を調べることであった。トンネル労働者212名と対照としてその他の重建設作業従事者205名について横断的研究を実施した。2つの職業集団間の曝露の差を示すために, 曝露評価を実施した。肺機能検査と呼吸器症状及び喫煙習慣に関する質問紙調査を行った。アトピーのスクリーニングは10種類の吸入性アレルゲンに対するRAST検査であるPhadiatopを用いて行い, 珪肺のX線の徴候も評価した。呼吸器症状と肺機能は, 喫煙習慣及びアトピーの影響を調整し, 曝露年数との関係を調べた。トンネル労働者は, 対照群と比べて努力性肺活量及び1秒量の予測値に対する割合(%)が曝露年数とともに有意に低下していた。調整した1秒量はトンネル作業1年あたり17mlの低下であり, 屋外の重建設作業では0.5mlの低下であった。トンネル労働者は呼吸器症状の有症率も有意に高かった。慢性閉塞性肺疾患(COPD)の有病率は, トンネル労働者14%, 対照群8%であった。曝露評価の結果では, トンネル内での濃度の変動が大きいのが, 総粉塵, 吸入性粉塵, α -石英, オイルミスト, 二酸化窒素のいずれも重建設作業に比べて高濃度であった。以上より, トンネル作業におけるDE, 発破, ドリル, 岩石運搬による粉塵やガスへの曝露は, トンネル労働者の1秒量の低下を促進し, 呼吸器症状やCOPDのリスクを増加させることが示された。

地域集団における疫学研究

Nakatsukaら(1991)は宮城県の3地域における40歳以上の住民30,000人以上を対象に1984年1~2月に質問紙調査を実施し(回収率87%), 自覚症状(呼吸器系6症状, 眼3症状を含む16の質問)と家庭で使用している暖房器具の種類, 喫煙習慣, 家庭と自動車交通量の多い道路との位置関

置関係との関連を検討した。非喫煙者(男性 2,389 名,女性 10,321 名,計 12,710 名)を解析の対象とした。調査地域の大气環境レベルは SPM, NO₂ を含めていずれも環境基準を超えていないが,仙台市では道路の交通量が 39,225 ~ 45,090 台であった。暖房器具の種類別には,非排気型石油/ガスストーブを使用する人は,排気型暖房器具を使用する人に比べて,男性では 1 症状(涙が出やすい),女性では 2 症状(鼻水,涙が出やすい)が有意に高率であった。道路との関係では,自動車交通量の多い道路付近に居住する人は多くの症状(男性では 3 症状,女性では 7 症状)が有意に高率であった。地域ごとに分けて解析を行うと,交通量の多い仙台で道路の影響が大であった。有意な増加がみられた症状の数と室内および屋外の大气汚染との関係より,汚染物質を排出する暖房器具による室内汚染の影響は自動車交通による屋外の大气汚染の影響ほど大きくないことが示唆されたとしている。

Nitta ら(1993) は自動車排出ガスが成人女性の呼吸器症状に与える影響を検討するために,1979,1982,1983 年に東京都内で 3 回の横断研究を実施した。環状 7 号線,国道 17 号線,青梅街道等(自動車交通量が昼間 12 時間で 30,000 ~ 44,000 台)から 20m 以内,20 ~ 150m (1982 年のみ 20 ~ 50m も分類)に居住する 40 ~ 60 歳の成人婦人およそ 5,000 名を対象とし,標準化呼吸器症状質問票調査を実施した。持続性せき,持続性たん,慢性の喘鳴,息切れ,たんを伴う感冒の推定オッズ比オッズ比(年齢,喫煙,居住年数,職業,暖房器具の種類を調整)は,0.76 ~ 2.75 であり,持続性せきと持続性たんではほぼ一貫して沿道部に居住するものが有意に高かった。環境測定では,NO 濃度は道路端が最も高く,距離減衰傾向が明らかであり,SPM も道路端が最も高かったが,NO₂ 濃度は 0m と 20m で逆転している地点もあった。このことより,自動車排出ガスへの曝露が呼吸器症状の増加に関連があることを示唆している。持続性せきと持続性たんではほぼ一貫した傾向であるが,より重篤な状態と考えられる慢性の喘鳴は調査年により一定の傾向が認められていない。

Shima ら(1994) は千葉県の都市部 5 小学校と田園部 3 小学校の 4 年生,1081 名を対象として,呼吸器症状調査と呼吸機能検査を実施した。調査は 1981 年から 3 年間,年 1 回実施されたものである。対象者の家屋内の 24 時間 NO₂ 濃度が 1991 年 1 月と 6 月の 2 回実施された。男子では都市部と田園部の学童間で FVC, FEV_{0.75} に差がみられた。屋内 NO₂ 濃度のランク別に呼吸機能を見た場合,2 年度目では FEV_{0.75} と V₂₅ に濃度にしたがって有意な低下傾向がみられていたが,3 年度目では有意ではなかった。呼吸機能レベルで 3 群に分けて対数線形モデルで解析した場合,屋内 NO₂ 濃度は都市部の男子では FVC, FEV_{0.75} の低下と関連していたが,地域を含めて調整すると関連がみられなかった。2 年度目と 3 年度目の結果は必ずしも一致していないため,室内 NO₂ 濃度の呼吸機能に対する長期的な影響を示したものではない可能性を示唆していると述べている。

Shima ら(1996) は千葉県の幹線道路周辺に居住する 1 ~ 3 年生の学童 185 名の血清総 IgE とヒアルロン酸濃度の測定を実施した。血清総 IgE レベルは喘息ないし喘鳴症状を持つ子供で高かったが,幹線道路からの距離には関連していなかった。血清ヒアルロン酸濃度は幹線道路から 50m 以内に居住する子供で高い傾向があり,血清総 IgE レベルが 250U/ml 以上の群でその差が有意であった。これは自動車による大气汚染の影響を示唆するものと考えられる。田中ら(1996) は千葉県の都市部 6 小学校と田園部 4 小学校の 1992 年に 1 ~ 4 年生の学童の呼吸器症状を ATS 質問票を用い

いて3年間追跡調査を実施した。都市部のうち幹線道路から50m以内に居住する者を沿道部,50mを超える者を非沿道部として分類している。3年間の継続して調査に参加した者は2738名であった。3年間喘息症状有症率は女子では3年間すべてで都市部沿道が最も高く,ついで都市部非沿道,田園部の順で有意であった。学年,アレルギー疾患の既往,母乳栄養,2歳までの呼吸器疾患,母親の喫煙,両親のアレルギー疾患の既往,暖房の種類などで調整した場合,男女とも都市部沿道,都市部非沿道のオッズ比は有意に高くなっていた。著者らは沿道部の大気汚染が喘息発症に関与していることを示唆している。

Nakaiら(1999)は自動車排出ガスへの曝露と呼吸器系との関連を検討するために東京都内3地区で30~59歳の成人女性の自記式呼吸器症状質問票調査と10回にわたる呼吸機能検査を行った。対象地区は,東京都墨田区の交通量の多い水戸街道および明治通りから20m以内に位置するA地区(472名),同じ道路から20~150mに位置するB地区(769名),東大和市で自動車交通量の多い道路から離れた住宅地区であるC地区(745名)である。昼間12時間の自動車交通量は,明治通り約30,000台,水戸街道約34,000台であり,ディーゼルエンジンのトレーラーやトラックは20%以下であった。SPM濃度は道路から0mの地点で73.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,20mで40.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$,150mで42.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり,C地区では33.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。呼吸器症状調査では,A地区における持続性せき,たんの有症率が最も高く,次いでB地区,C地区の順であり,この傾向性は統計学的に有意であった。拡張マンテル検定により年齢,居住年数,職業,喫煙習慣,暖房器具の種類,家屋構造を調整しても,持続性せきについては有意な傾向性が示された。これらの要因を調整した持続性せきのオッズ比は,A地区がC地区に対して2.18(95%CI:1.08~4.42),B地区に対して1.87(95%CI:1.02~3.42)と有意であり,持続性たんについてもA地区がC地区に対して1.79(95%CI:1.07~3.01)と有意であった。しかし,呼吸機能検査を10回繰り返し実施したところ,概してB地区がA地区よりも高かったが,C地区が最も低く,地区間の差は小さく,有意ではなかった。横断的モデルによる解析でも,地区間の差を見いだすことはできなかった。以上より,自動車排出ガスへの曝露が呼吸器症状に影響を及ぼすことが示唆された。

Wjstら(1993)はドイツ・ミュンヘン市の小学4年生全員を対象として実施された調査結果を報告している。健康影響は呼吸器症状に関する質問票と呼吸機能検査により行われた。曝露評価は117の学区内の主要道路の交通量により行われた。対象者7,745名のうちドイツ国籍を持ち,5年以上現住所に居住する約4500名について解析が行われた。ピークフローについては交通量にしたがって低下していたと報告されている。呼吸器症状については感冒,クループ,喘鳴,呼吸困難については差がみられたが,ぜん息,気管支炎やhay feverについては差がみられなかったとしている。

Edwardsら(1994)は英国のバーミンガムに居住する5歳未満の小児を対象に,主要道路付近での居住,自動車交通量,喘息による入院のリスクの関係を検討した。方法は症例対照研究であり,喘息で病院に入院した小児(715名),呼吸器疾患以外で入院した小児(736名),地域から無作為抽出された小児(736名)について,居住地と自動車交通量を比較した。喘息の診断で入院した小児は,非呼吸器疾患により入院した小児,無作為抽出された小児に比べて,主要道路に最も近接した区域で自動車交通量の多い地区(>24,000台/24時間)に居住するものが多かった(それぞれ $p<0.02$,

$p < 0.02$, $p < 0.002$) 道路から 500m 以内に居住する小児では, 喘息による入院と自動車交通量との間に有意な量反応関係が認められた($p < 0.006$) が, 500m を超えるものではこうした関連はみられなかった。呼吸器疾患以外での入院も 200m 以内に居住する小児で起こりやすいようであった($p < 0.02$) が, 自動車交通量との関連はみられなかった。

Weiland ら (1994) はドイツ・ボーフム市の学童約 2000 名を対象として, ISAAC (International Study of Asthma and Allergy in childhood) 質問票を用いた調査を実施している。交通量については質問票の中での質問に対する回答に基づいて評価を行っている。その結果, アレルギー性鼻炎と喘鳴症状の有症率は性, 年齢, 国籍, 喫煙状況, 両親のぜん息既往歴などを考慮しても, 交通量の指標と正の相関があったとしている。

Lercher ら (1995) はオーストリア・アルプス地方の 5 地域の成人住民 1989 名, 学童 796 名を対象として, 交通騒音および自動車排ガスによる大気汚染と各種症状・疾病との関連性が検討された。成人の調査では汚染状況の認知度と種々の有訴率との関連性がみられた。学童については交通量で地域分けをして比較が行われたが, 呼吸器症状やアレルギー症状とは関連性がみられなかったとしている。

Waldron ら (1995) はイギリス・ロンドン近郊のイーストサリー地域の 17 の学校の 13~14 歳の生徒約 2400 名を対象として ISAAC 質問票を用いた調査を実施している。対象者の居住地は 47 の選挙区に分類され, さらに都市部, 田園部, 沿道部, 非沿道部に分けられた。その結果, ぜん息に関連する症状の有症率は沿道部で低い傾向がみられたとしている。

Duhme ら (1996) はドイツのミュンスター市の 12 歳から 15 歳の生徒約 4000 名を対象として, ISAAC 質問票を用いた調査を実施している。交通量については質問票の中での質問に対する回答に基づいて評価を行っている。性・年齢を調整した喘鳴症状の交通量に関するオッズ比は 2.15 (95%CI: 1.44~3.21), アレルギー性鼻炎では 1.96 (95%CI: 1.40~2.76) であり, 交通量の程度に対応してオッズ比は大きくなっていくと報告している。この結果は Weiland ら (1994) の報告と一致していたが, 交通量の自己評価の誤分類の問題は除くことはできないと報告している。

Livingstone ら (1996) は主要道路と住居との距離が喘息に関係しているかどうかを検討するために, ロンドンの主要道路に近接した 2 ヶ所の一般医で 1994 年 6 月に症例対照研究を実施した。両医ともに 1990 年以降コンピューターシステムを導入しており, 前年に診療を行った 2~64 歳の患者全員を対象とした。ケースは前年に喘息の薬を処方されたコンピュータ記録があるもの, および喘息と診断されたコンピュータ記録があるもの 1,066 名であり, コントロールはこれらの記録がないもの 6,233 名である。年齢, 性, 診療医師, 喫煙, 居住地の郵便コードを収集し, 郵便コードより地理情報システムを用いて自動車交通量の多い道路(ピーク時で 1 時間あたり 1,000 台以上)との距離を求めた。ケースのほうが若年者, 男性が多く, 16 歳以上では喫煙者の割合が高かった。喫煙習慣は道路からの距離との関係はみられなかった。16 歳未満の小児の喘息について道路からの距離との関係では, 要因を調整しないオッズ比は, 道路から 150m 以内のものは 150m を超えるものに対して 0.94 (95%CI: 0.75~1.19), 16 歳以上では 0.81 (95%CI: 0.68~0.97) であった。年齢階級(成人のみ), 性, 診療医師を調整したオッズ比は 16 歳未満 0.96 (95%CI: 0.78~1.22), 6 歳以上 1.00 (95%CI: 0.84~1.19) であり, 有

有意ではなかった。以上のように、道路からの距離と喘息との関連が認められなかったが、自動車交通に由来する大気汚染曝露の指標として住居と道路との距離を用いることは、特に成人では労働・通勤パターンの点で問題があることを指摘している。

Oosterlee ら(1996) は自動車交通量の多い道路付近に住民の慢性呼吸器症状を調査している。Haarlem 市の自動車交通量の多い道路付近に居住する成人 673 名、小児(0~15 歳) 106 名と静かな道路付近に居住する成人 812 名、小児 185 名の呼吸器症状を比較した。両道路の選択は、NO₂ 濃度のモデル計算に基づき、自動車交通量の多い道路は NO₂ 濃度 62~80ppb であり、24 時間の交通量 10,000~30,000 台に相当する。呼吸器症状、交絡因子の情報は質問票の郵送法によった。交絡因子(性、年齢、母親の教育、受動喫煙、非排気型湯沸かし器、暖房器具、家庭の湿度、ペット、密度)を調整すると、自動車交通量の多い道路付近の小児は対象地域の小児よりもほとんどの呼吸器症状が高率であった。喘鳴および呼吸器疾患の治療についての調整オッズ比はそれぞれ 2.1、22 と有意であった。調整オッズ比は男子よりも女子の方が高く、女子の調整オッズ比は 2.9~15.8 の間であり、多くが有意であったが、男子では有意なものはない。成人では、自動車交通量の多い道路付近の居住者は歩行時の呼吸困難のみがオッズ比 1.8 と有意であった。以上より、自動車交通量の多い道路付近に住居する小児の慢性呼吸器症状発症のリスクが高くなることを示唆している。

Brunekreef ら(1997) は自動車交通による大気汚染が自動車交通量の多い道路の近くに居住する人の呼吸器系に与える影響を検討した。オランダの主要幹線道路(1 日交通量 80,000~152,000 台)の近くにある 6 地区の小児 1,092 名を対象に呼吸機能測定を実施した。曝露評価として、家庭と道路との距離を計測し、交通量を乗用車とトラックに分けて数え、学校で NO₂、黒煙(black smoke)、PM₁₀ の測定を実施した。呼吸機能はトラック交通量との負の関連が認められたが、自動車交通量との関連は弱かった。道路により近接して(300m 未満)居住する小児では、その関連は強くなった。300m 未満に住居する小児の地区毎の 1 秒量平均値とトラック交通量は明らかな曝露反応関係を示した。呼吸機能は、学校で DEP の代わりとして測定した黒煙濃度とも関連が認められた。その関連は男子よりも女子のほうが強かった。以上より、自動車交通による大気汚染、特に DEP が主要道路の近くに居住する小児の呼吸機能を低下させる可能性があるとしている。

vanVliet ら(1997) は高速道路からの自動車排気ガスが小児の呼吸器系に影響を与えるかどうかを検討するために横断的研究を行った。南オランダの主要高速道路から 1,000m 未満に位置する学校の児童に研究への参加を求めた。対象とした高速道路は 1 日あたりの自動車交通量が 80,000~150,000 台、トラックの交通量は 8,000~17,500 台であった。13 校 1,498 名の児童に参加を求め、1,068 名の有効回答が得られた。質問紙によって把握された慢性呼吸器症状を多重ロジスティック回帰により解析した。高速道路からの距離および(トラック)交通量を曝露変数として用いた。せき、ぜん鳴、鼻水、医師の診断による喘息は、高速道路から 100m 以内に居住する児童が高率であった。トラック交通量及び学校で測定された黒煙濃度は慢性呼吸器症状と有意な関連が認められた。これらの関連は男子よりも女子のほうがより顕著であった。以上より、自動車交通による大気汚染、特に DEP が、小児、特に女子の呼吸器症状に影響を及ぼす可能性を示唆している。

Forsbergら(1997)は自動車排気ガスによる大気汚染物質への曝露と一般の人々のいらだたく感じる反応の関連を調べている。年齢、性、呼吸器疾患、自動車使用状況、喫煙習慣等の因子がこうした反応に及ぼす影響も検討された。対象はスウェーデン全国55都市の住民であり、各地区から16~70歳の住民150名ずつ無作為に抽出され、郵送による質問紙調査を行い、大気の状態に対する感じ方(刺激性、臭い、汚いまたはすすけた)と、排気ガスにどの程度いららするかを尋ねた。対象地域外の居住者もいたため、対象者は8,060名、回収6,109名(回収率76%)であった。6ヶ月平均の大気汚染レベルは、二酸化窒素 $19\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、黒煙 $9\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、二酸化硫黄 $6\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、上位四分位はそれぞれ22, 10, $8\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。二酸化窒素の6ヶ月平均濃度は、大気汚染および自動車排気ガスにいららを感じる人の割合と一定の関連が認められた。黒煙および二酸化硫黄との関連はみられなかった。喘息を有する人、女性、自動車を利用しない人では、いららを感じる人が高率であった。以上より、屋外の大気環境基準よりもかなり低い濃度であっても、大気の質が悪いと感じることができることが明らかとなり、質問紙調査が大気の質の監視に使用できることを示唆するものである。

Studnickaら(1997)はオーストリアの8つの非都市地域において843名のISAAC質問票を用いた調査を実施している。対象地域の近くには工場はなく大気汚染源は主として自動車排気ガスによるものとして、 NO_2 濃度の測定を行っている。8地区の NO_2 濃度は6~17ppbの範囲にあった。ぜん息既往の割合は NO_2 濃度と相関しており、 NO_2 濃度の程度によって3群に分けた場合、性・年齢・両親の学歴・受動喫煙・室内暖房の種類・両親のぜん息既往で調整したオッズ比はそれぞれ、1.28, 2.14, 5.81であった。喘鳴や風邪をひいていないときの咳についても同様の傾向を示したとしている。

Cicconeら(1998)は北部・中部イタリアの10地域で1994年秋から冬にかけて、6~7歳および13~14歳の児童・生徒を対象として呼吸器症状に関する調査を実施した結果を報告している。各地域の各年齢群毎に少なくとも1000名の対象者が無作為に選ばれ、全体で約4万人が対象となった。呼吸器症状調査はISAAC質問票に準拠したものをを用いて、自動車交通に関する質問(居住地の交通量、バス・大型トラック通行頻度、など)が含まれたものである。大型トラックの通行頻度は多くの呼吸器症状と関連がみられ、大型トラックが「しばしば」通過すると答えた対象者では持続性たんのオッズ比は1.68(95%CI: 1.14~2.48)、重症の喘鳴のオッズ比は1.868(95%CI: 1.26~2.73)であった。一方、居住地の交通量は呼吸器症状との関連性はほとんどみられなかったと報告している。

Englishら(1999)は地理情報システム(GIS)を用いて、小児期に自動車交通量の多い道路付近に居住することと喘息との関係について症例対照研究調査を行った。対象者は、カリフォルニア州サンジエゴ郡の低所得者層であり、1993年1月~1994年6月の間に喘息の診断を受けた14歳以下の小児14,636名をケースとし、同時期に何らかの診断を受けた同等のもの14,636名をコントロールとした。居住地、診断コード等により、最終的な解析対象者はケース5,996名、呼吸器疾患以外のコントロール2,284名であった。これらの小児の居住地を調べ、住居から550フィート(168.8m)以内の道路の自動車交通量と照合した。喘息児の1993年における医療受診回数と交通量との関連も検討した。550フィート以内で交通量最大の道路、最も近接した道路、すべての道路について、それぞれの交通量の五分位、90, 95, 99パーセンタイル値でケースとコントロールを比較しても、オッズ比の有意な

意な増大はみられなかった。しかし、ケースでは、自動車交通量の多い道路付近の居住者は交通量の少ない道路付近の居住者に比べて喘息でその年に2回以上受診したものが1回だけ受診したもののよりも多かった(自動車交通量45,000台以上となるとオッズ比2.91; 95%CI: 1.23~6.91) 性別には、交通量が受診回数に及ぼす影響は男子よりも女子のほうが大であった。本研究では大気汚染レベルの評価は行われていないが、サンジエゴにおける1983~1994年のオゾン濃度最高値は280ppbから150ppbに低下し、PM10濃度の最高値は1984~1994年に38~129mg/m³(注:原著のとおり)と増加している。以上より、交通量が多ければ喘息児の受診回数が増える可能性が示唆された。自動車交通に由来する粒子状物質及びその他の大気汚染物質に繰り返し曝露すると、既に喘息と診断されたものの喘息症状が悪化する可能性を指摘している。

Krämerら(2000)は自動車交通による大気汚染とアトピーの指標との関連を検討するため、西ドイツのDusseldorfの都市部2地区と郊外1地区で9歳の小児317名を対象とした調査を行った。アトピー感作状態は皮膚プリックテスト(カバの花粉、牧草の花粉、ヨモギ花粉、ネコ上皮、家屋塵、アルテルナリア、卵、牛乳)とアレルギー特異的IgE抗体によった。親に症状日記でアレルギー症状を記録してもらい、医師がアレルギー疾患の有無を診断した。Palmesチューブにより、NO₂の個人曝露量、および各児童の家庭の前におけるNO₂濃度を測定した。自動車交通量は都市部では24時間で50,000台まで、郊外では2,000台程度未満であった。屋外のNO₂濃度は自動車交通量と関連がみられたが、個人レベルのNO₂曝露量とは関連がみられなかった。アトピーは屋外NO₂濃度と関連が認められた(アレルギー性鼻炎の症状と屋外NO₂濃度のオッズ比: NO₂10µg/m³増加当たり1.81; 95%CI: 1.02~3.21, 皮膚のかゆみのオッズ比1.58; 95%CI: 1.02~2.43)が、NO₂個人曝露量とは関連がなかった(アレルギー性鼻炎とNO₂個人曝露量のオッズ比0.99; 95%CI: 0.55~1.79) 都市部に限定して解析すると、枯草熱、アレルギー性鼻炎症状、喘鳴、花粉、家屋塵またはネコ、牛乳または卵に対する感作は、屋外NO₂濃度と関連があった。以上より、自動車に由来する大気汚染はアトピー感作、アレルギー症状、アレルギー疾患を増加させることが示唆された。

Brunekreefら(2000)はオランダで高速道路から400m以内にある24の小学校の学童を対象とした断面調査を実施した。質問票調査と呼吸機能検査は全員に対して、気道過敏性試験、皮膚プリックテスト、IgE検査は一部の学童に対して実施された。トラック交通量は喘鳴、痰、気管支炎、眼症状、ダスト・ペットアレルギーの有症率と有意な関連性を示していた。また、学校の屋内・屋外のPM2.5の年平均値とも関連性がみられた。呼吸機能、気道過敏性、屋内アレルギーへの感作率については関連性がみられなかったと報告している。

Wylerら(2000)はスイスのバーゼルでアレルギー感作と自動車排ガスとの関連性に関する調査を実施している。SAPALDIA調査(呼吸器症状およびアレルギー症状)の対象者成人1,075人の中で948人についてアレルギー検査が実施され、さらに820人について交通量に関する情報が得られた。アレルギー検査は8つの空中アレルギーに関する皮膚プリックテストおよびPhadiatopによる血清検査である。交通センサスデータに基づいて各対象者の居住地の交通量を評価した。居住年数が10年以上の対象者について教育レベル、喫煙状況、兄弟姉妹数、年齢、性、アトピーの家族例を調整した後で、花粉への感作と交通量との関連性がみられた。しかし、花粉症や季節性アレルギー症

症状や屋内アレルゲンへの感作と交通量の関連性はみられなかった。

Steerenberg ら(2001)はオランダ, ヌトレヒトの1小学校の児童38名(都市部)とビルトーベンの1小学校の児童44名(郊外部)について, 1998年2月~3月の7週間, 毎日のピークフロー測定, 呼気中NO濃度測定, 鼻洗浄液中のIL-8, アルブミン, 尿酸, 尿素, 硝酸塩, 亜硝酸塩の測定を行った。調査期間中の両地域の大气汚染濃度については, NO₂濃度はヌトレヒトが53µg/m³, ビルトーベンが41µg/m³, NO濃度はそれぞれ46µg/m³, 17µg/m³, 黒煙(Black Smoke)濃度はそれぞれ29µg/m³, 13µg/m³であった。測定期間中の平均値を両地域で比較すると鼻洗浄液中の各種マーカー濃度に差がみられた。毎日の大气汚染濃度と各測定値の関連性を検討した結果では, ピークフローと呼気中NO濃度は都市部の児童では大气汚染との関係がみられたが, 郊外部の児童では明確ではなかった。鼻洗浄液中のいくつかのマーカー濃度は大气汚染濃度との関連性がみられ, 都市部の児童では大气汚染の単位濃度の変化が郊外部の児童よりも大きかったと報告している。

3.2.3. 非発がん影響に関する実験的研究

3.2.3.1. 一般毒性

DE(粒子)曝露が成長, 生存率(死亡率), 臓器重量に及ぼす影響について記載した報告例を表3-13に整理した。

3.2.3.1.1. DEPの急性毒性

DEPの急性毒性に関する知見は少ない。Sagai(1993)らは, ICRマウスに0.9mg/匹のDEPを気管内投与したところ24時間以内に全例が死亡した。この実験から, DEPのLD₅₀は0.6mg/匹(20mg/kg体重)と推定した。さらに, メタノールで洗浄したDEP 1mgをマウスに投与しても死亡しなかったことから, DEPの毒性は溶媒で抽出される有機化合物にあり, これら化合物により産生されるスーパーオキシドラジカルによる内皮細胞への傷害の可能性を指摘している。Pereira(1982)らは, ハムスターへの腹腔内投与で, DEP抽出物のLD₅₀を1,208mg/kg体重と報告している。

3.2.3.1.2. DEの急性曝露影響

DEの急性曝露に関しては, Pattle(1957)らの報告があるのみである。彼らは, マウス, モルモット, ウサギを用いて, 4種類の運転条件による直接DEの急性曝露(5時間曝露)影響を評価した。その結果, 100%の死亡率を観察した曝露条件(DEP: 1,070mg/m³, CO: 1700 ppm, NO₂: 2 ppm)での主な死因はCOであり, 他の3条件での肺の傷害と死亡の原因は, NO₂によるものと考えられた。

3.2.3.1.3. DEの短期曝露影響

Kaplan(1982)らは, 雄のF344ラット(168匹/群), A/Jマウス(672匹/群), シリアンゴールデンハムスター(236匹/群)に1.5mg/m³のDEを20時間/日, 7日/週の頻度で3ヶ月間曝露した。全ての種で死亡率や体重増加に有意な影響が認められなかったが, ラットの肺の相対重量が有意に増加したことを報告している。

表3-13 成長，生存率（死亡率），臓器重量に及ぼす影響

投与物質	実験動物	影響	出典	
単回投与				
ディーゼル排気粒子抽出物腹腔内投与	成獣，Cyrianハムスター	LD ₅₀ ：1,280 mg/kg体重	Pereira ら(1982)	
ディーゼル排気粒子気管内投与	雄，ICRマウス	LD ₅₀ ：20 mg/kg体重	Sagai ら(1993)	
曝露濃度 (mg/m ³)	曝露期間	実験動物	影響	出典
急性曝露				
(1)DEP:74 mg/m ³ , CO:560 ppm NO ₂ :23 ppm, アルデヒド:16 ppm			(1)：致死的ではなく，気管と肺に軽いダメージ．	
(2)DEP:5 mg/m ³ , CO:380 ppm NO ₂ :43 ppm, アルデヒド:6 ppm	5時間		(2)：10%以下の死亡率と中程度の肺のダメージ．	
(3)DEP:122 mg/m ³ , CO:418 ppm NO ₂ :51 ppm, アルデヒド:6 ppm	曝露終了後7日間観察	マウス，モルモット，ウ	(3)：50%以上の死亡率と激しい肺のダメージ．	Pattle ら(1957)
(4)DEP:1070 mg/m ³ , CO:1700 ppm NO ₂ :12 ppm, アルデヒド:154 ppm			(4)：全ての種で100%の死亡率． (4)の死亡原因はCO，(1)，(2)，(3)での肺のダメージと死亡の主原因は，NO ₂ と推定．	

短期曝露				
1.5	20時間/日，7日/週，3ヶ月 曝露終了後，6ヶ月回復	雄，F344ラット 雄，A/Jマウス 雄，Cyrianハムスター	全ての種で死亡率，体重に影響なし． ラット肺の相対重量が有意に増加． 肝臓，腎臓，脾臓，心臓重量に影響なし．	Kaplan ら(1982)

長期曝露				
0.25，1.5	20時間/日，5.5日/週，36週	雄，F344ラット	実験初期に1.5 mg/m ³ 群の肺相対重量が増加．	Misorowski ら(1980)
6.0，12.0	8時間/日，7日/週，124週	雄，純系猫	肺，腎臓重量が減少．	Pepelko ら(1981)
0.25，0.75，1.5	20時間/日，5日/週，106週	雄，F344ラット 雄，Hartlyモルモット	1.5 mg/m ³ 群のラット体重が減少．	Schreck ら(1981)
6.0，12.0	8時間/日，7日/週，26週	雄，Chineseハムスター	成長に影響なし． 肺の絶対重量および相対重量増加．	Vinegar ら(1981)
8.3	6時間/日，5日/週，87週	雄，Wistarラット	成長，死亡率に影響なし．	Karagianes ら(1981)

表3-13 成長，生存率（死亡率），臓器重量に及ぼす影響（続き）

曝露濃度 (mg/m ³)	曝露期間	実験動物	影 響	出典
長期曝露				
0.25, 0.75, 1.5	20時間/日, 5.5日/週, 78週	雄, F344ラット 雄, Hartlyモルモット	心臓重量に影響なし.	Penney ら(1981)
0.25, 0.75, 1.5	20時間/日, 7日/週, 15ヶ月	雄, F344ラット, A/Jマウス 雄, Syrianハムスター	全ての種で死亡率に影響なし.	Kaplan ら(1982)
2.0	7時間/日, 5日/週, 52週	雌雄, F344ラット	肺, 肝臓, 心臓, 脾臓, 腎臓, 精巣重量に影響なし.	Green ら(1983)
0.7, 2.2, 6.6	16時間/日, 5日/週, 2年	雌雄, F344ラット	6.6 mg/m ³ 群で体重減少. 2.2, 6.6 mg/m ³ 群で肺絶対重量増加. 6.6 mg/m ³ 群の心臓相対重量が増加.	Brightwell ら(1986)
5.0	8時間/日, 7日/週, 24ヶ月	雌, F344ラット	有意な体重減少, 肺相対重量増加.	Iwai ら(1986)
4.4	19時間/日, 5日/週, 120-140週	雌雄, Syrianハムスター 雌雄, NMRIマウス・Wistarラット	いずれの種も体重が減少. マウスの死亡率増加. ラットとマウスの肺重量は2~3倍, ハムスターは50~70%増加.	Heinrich ら(1986)
0.1, 0.4, 1.1, 2.3 (LD) 0.5, 1.0, 1.8, 3.7 (HD)	16時間/日, 6日/週, 30ヶ月	雌雄, F344ラット	濃度依存的に体重減少. 3.7 mg/m ³ 群の雌のみ実験初期に死亡数増加.	Ishinishi ら(1986)
2.0	7時間/日, 5日/週, 104週	雌, F344ラット	心臓重量に影響なし.	Vallyathan ら(1986)
0.35, 3.5, 7.1	7時間/日, 5日/週, 30ヶ月	雌雄, F344ラット 雌雄, CD-1マウス	両種の雌雄とも生存率, 体重に影響なし.	Mauderly ら(1987)
2.0	7時間/日, 5日/週, 104週	雌雄, F344ラット 雄, カニクイザル	成長, 生存に影響なし.	Lewis ら(1989)
0.8, 2.5, 7.0	18時間/日, 5日/週, 24ヶ月	雌, Wistarラット 雌, NMRIマウス (7 mg/m ³ のみ)	2.5, 7.0 mg/m ³ 群のラットで体重減少. マウスには影響を認めず. 両種の肺重量は, 7 mg/m ³ で6ヶ月目から, 2.5 mg/m ³ 群で22か月目から増加.	Heinrich ら(1995)
2.4, 6.3	16時間/日, 5日/週, 23ヶ月	雄, F344ラット	6.3 mg/m ³ 群で生存率, 体重低下. 両曝露群で, 有意な肺重量の増加.	Nikula ら(1995)
0.35, 3.5, 7.1	7時間/日, 5日/週, 104週	雌雄, CD-1マウス	成長, 死亡率に影響なし.	Mauderly ら(1996)

3.2.3.1.4. DE の長期曝露影響

DE の長期曝露による成長、生存率(死亡率)、臓器重量に及ぼす影響に関しては多くの報告がある。個々の実験結果の詳細は、表 3-13 を参照して頂くとして、ここでは総括的に述べることとする。

3.2.3.1.5. 成長への影響

成長(体重)への影響に関する報告例を最高曝露濃度と曝露条件をもとに以下に整理した。

(1) 成長への影響を認めた報告

- ・Schreck ら(1981):1.5mg/m³, 20 時間/日, 5 日/週, 106 週
- ・Brightwell ら(1986):6.6mg/m³, 16 時間/日, 5 日/週, 2 年
- ・Iwai ら(1986):5.0mg/m³, 8 時間/日, 7 日/週, 24 ヶ月
- ・Heinrich ら(1986):4.4mg/m³, 19 時間/日, 5 日/週, 120 ~ 140 週
- ・Ishinishi ら(1986):3.7mg/m³, 16 時間/日, 6 日/週, 30 ヶ月
- ・Heinrich ら(1995):7.0mg/m³, 18 時間/日, 5 日/週, 24 ヶ月
- ・Nikula ら(1995):6.3mg/m³, 16 時間/日, 5 日/週, 23 ヶ月

(2) 成長への影響を認めなかった報告

- ・Vinegar ら(1981):12.0mg/m³, 8 時間/日, 7 日/週, 26 週
- ・Karagianes ら(1981):8.3mg/m³, 6 時間/日, 5 日/週, 87 週
- ・Mauderly ら(1987):7.1mg/m³, 6 時間/日, 5 日/週, 30 ヶ月
- ・Lewis ら(1989):20mg/m³, 7 時間/日, 5 日/週, 104 週
- ・Mauderly ら(1996):7.1mg/m³, 7 時間/日, 5 日/週, 104 週

これらのデータから、曝露濃度が 1.5mg/m³ 以上、1 日の曝露時間が 8 時間以上、1 週間の曝露日数が 5 日以上、全曝露期間が 2 年以上の条件で成長への影響が見られることが示唆される。

3.2.3.1.6. 生存率(死亡率)への影響

マウス、ラットの生存率(死亡率)への影響が見られたのは、上記 3.2.3.1.5. 項の(1) 成長への影響を認めた報告例のうち Heinrich ら(1986)、Ishinishi ら(1986)、Nikula ら(1995) の 3 研究のみであった。これら 3 研究のみに共通した要因は見当たらず、現時点では、生存率(死亡率)に及ぼす影響は明確ではないと考えられる。

3.2.3.1.7. 臓器重量への影響

げっ歯類の肺の絶対重量や相対重量は、概ね曝露濃度と曝露期間に依存して増加する。1.5mg/m³ の DE に雄性 F344 ラットを 36 週(20 時間/日, 5.5 日/週)曝露したとき実験初期に肺相対重量が増加した。猫の肺と腎臓重量は逆に減少したこと、一例ではあるがラット心臓の相対重量が増加したことなども報告されている。その他の臓器には、DE 曝露の影響を示す証拠は見出されていない。

まとめ(一般毒性)

慢性の曝露においては $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ の DE の曝露が体重減少をもたらすことや肺重量を増加させることが報告されている。粒子濃度が $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ 以上, 1 日の曝露時間が 8 時間以上, 1 週間の曝露日数が 5 日以上, 全曝露期間が 2 年以上の条件で成長への影響が見られることが示唆される。

3.2.3.2. 呼吸機能への影響

DE 曝露が呼吸機能に及ぼす影響に関する報告を表 3-14 にまとめた。

DE 曝露が呼吸機能におよぼす影響については, 急性, 亜慢性あるいは慢性曝露をラット, ハムスター, ネコ, モルモット, サルに行った結果が報告されている。曝露期間が異なるため濃度と曝露期間をともに考慮した比較が必要である。

以下に呼吸機能におよぼす影響について概観する。

Abraham ら(1980) は, 低濃度急性の DEP 曝露が覚醒しているヤギの呼吸機能に及ぼす影響について検討した。DEP は流動化床(ベット)のダスト発生器によってエアロゾル化された。ダスト質量濃度レンジは $400 \sim 500\mu\text{g}/\text{m}^3$ で質量平均空気力学的直径(MMAD)は $2.8\mu\text{m}$ であった。ヤギには 30 分間のプレキシグラスヘルメット法で DEP を吸入させた。粒子(DEP)は曝露の前の値と比較して肺抵抗, エアロゾルカルバコールに対する気道反応, 静的肺コンプライアンス, 気道粘液速度に影響を与えなかった。

Pepelko ら(1980) は, 28 日間の DE 曝露が呼吸器系に及ぼす影響を明らかにするため, 呼吸機能の検討を行った。雄ネコを 14 倍希釈した DE に 1 日 20 時間ずつ 28 日間曝露した。曝露後に呼吸機能: 肺容積と最大呼気流量 (MEF), 肺活量 (VC) が 50 および 25, 10%のときの MEF などを測定した。その結果, 有意な機能的変化は, VC が 10%のときの MEF における減少だけであった。

Gross ら(1981) は, 雄性 F344 ラットに $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ の DEP を含む DE に 38 週間(20 時間/日, 5.5 日/週)の時点では呼吸機能には有意な影響はみられないが, 87 週間(20 時間/日, 5.5 日/週)曝露した場合, 機能的残気量が増加することを見いだした。一方, 40%および 20%FVC における最大呼気流量と $\text{FEV}_{0.1}$ は DE 曝露した動物では増加することが見いだされた。この変化は機能的残気量の増加と互いに相反する可能性がある。

一方, Lewis ら(1989) は, F344 ラットに $2.0\text{mg}/\text{m}^3$ の DEP を含む DE を曝露し 104 週間目(7 時間/日, 5 日/週)の時点では呼吸機能には有意な影響はみられないことが報告されている。濃度と曝露期間をともに考慮する指標として濃度 × 期間を用いると Gross らの結果は $14,355\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$ の曝露の結果であり, Lewis らの結果は $7,280\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$ の結果であることから曝露濃度と期間に依存した影響が出ている可能性がある。一方, 同様の条件($2.0\text{mg}/\text{m}^3$ の DEP を含む DE, 7 時間/日, 5 日/週, 104 週間, $7,280\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$)でサルを用いた実験(Lewis ら(1989))では 25%の肺活量のところでの努力性呼気流量が減少した, また, 40%の全肺気量のところでの努力性呼気流量の減少が見られたが肺の体積, 拡散能または換気の分布(ventilation distribution)に影響は見られなかった。

Mauderly ら(1988) および MacClellan ら(1986) は, F344 ラットを 0.35, 35, $71\text{mg}/\text{m}^3$ の DEP を含む

表3-14 呼吸機能への影響

粒子濃度 (C) (mg/m ³)	曝露期間 (T)	C×T (mg.h/m ³)	NO ₂ (ppm)	SO ₂ (ppm)	CO (ppm)	動物種, 性	影 響	出典
(1)急性, 亜慢性曝露影響								
6.4	20時間/日 5日/週 4週	3,584	2.1	2.1	14.6	Cat, Inbred,雄	残気量, 肺重量に影響なし 肺活量と肺気量が増加	Pepelko ら (1980a)
6.4 6.8 (irradiated)	20時間/日 7日/週 4週	3,584 3,808	2.49 2.76	2.1 1.86	16.9 16.1	ラット, SpragueDawley, 雄	体重減少, 動脈血のpH低下 肺活量と全肺気量が増加	Pepelko ら (1982a)
6.8(irradiated)	20時間/日 7日/週 4週	3,808	2.9 <0.01ppm03	1.9	16.7	モルモット Hartley,雄雌 4日齢から曝露	肺気流抵抗, 洞性徐脈の増加	Wiester ら (1980)
0.21 1 4.4	7時間/日 5日/週 19週	140 665 2,926	-	-	-	ラット, F344,雄 マウス, CD-1,雄雌	呼吸機能に影響なし(ラット) マウスでは呼吸機能の測定して いない	Mauderly ら (1981)
(2)慢性曝露影響								
1.5 0.19µm MMD	20時間/日 5.5日/週 87週	14,355	0.5	-	7	ラット, F344,雄	機能的残気量、呼気量、気流量 の増加	Gross (1981)
2 0.23-0.36µm MMD	7時間/日 5日/週 104週	7,280	1.5	0.8	11.5	ラット, F344,雄雌	呼吸機能に影響なし	Lewis ら (1989)
2 0.23-0.36µm MMD	7時間/日 5日/週 104週	7,280	1.5	0.8	11.5	Monkey,雄, Cynomolgus	呼気流量の減少; 肺活量と拡散 能には影響なし	Lewis ら (1989)
0.35 3.5 7.1 2.03-0.26µm MMD	7時間/日 5日/週 130週	1,593 15,925 31,850	0.05 0.34 0.68	-	2.9 16.5 29.7	ラット, F344,雄雌	3.5及び7mg/m ³ で拡散能, 肺コン プライアンス減少	Mauderly ら (1988) McClellan ら (1986)
3.9 0.19µmMMD	7-8時間/日 5日/週 104週	14,196~16,224	1.2	3.1	18.5	ラット, Wistar, 雌	1分量, コンプライアンス気道抵 抗に影響なし	Heinrich ら (1982)
6 12	8時間/日 7日/週 26週	8,736 17,472	-	-	-	ハムスター, Chinese,雄	肺活量, 残気量, 拡散機能の減 少、静的deflation lung volumeの 増加	Vinegar ら (1980, 1981a,b)
0.7 2.2 6.6	16時間/日 5日/週 104週	5,824 18,304 54,912	-	-	-	ラット, F344, 雄雌; ハムスター, Syrian, 雄雌	6.6mg/m ³ で様々な呼吸機能障害 (特異的データなし)	Brightwell ら (1986)
4.24 35µm MMD	19時間/日 5日/週 120週	48,336	1.5	1.1	12.5	ハムスター, Syrian, 雄雌	気道抵抗の著しい増加	Heinrich ら (1986a)
0.35 3.5 7.1 2.03-0.26µm MMD	7時間/日 5日/週 130週	1,593 15,925 31,850	0.05 0.34 0.68	-	2.9 16.5 29.7	ラット, F344, 雄雌	3.5及び7mg/m ³ で拡散機能、肺コ ンプライアンス減少	Mauderly ら (1988) McClellan ら (1986)
4.24 35µm MMD	19時間/日 5日/週 140週	56,392	1.5	1.1	12.5	ラット, Wistar, 雌	気道抵抗の増加、動的肺コンプ ライアンスの減少	Heinrich ら (1986a)
6.0 ^{a)} 12.0 ^{b)}	8時間/日 7日/週 124週	41,664 83,328	2.7 4.4	2.1 5	20.2 33.3	Cat, inbred,雄	2年後に肺活量, 全肺気量, 拡散 機能の低下がみられた。呼気量 に影響なし	Pepelko ら (1980b, 1981) Moorman ら (1985)

a) 曝露開始後1~61週

b) 曝露開始後62~124週

DE に 130 週間(7 時間/日, 5 日/週) 曝露し呼吸機能に及ぼす影響を検討した。その結果, $7.1\text{mg}/\text{m}^3$ の曝露では 12 ヶ月後全肺気量(total lung capacity, TLC), 動的肺コンプライアンス(Cdyn), FVC, CO 拡散機能の低下が見られた。また, 24 ヶ月曝露後では TLC, Cdyn, quasi-static chord compliance, CO 拡散能が低下することが見いだされた。 $3.5\text{mg}/\text{m}^3$ でも同様の影響があることが見いだされた。 $0.35\text{mg}/\text{m}^3$ ではこのような影響は見いだされなかった。

Heinrich ら(1982)は, Wistar ラットに $3.9\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE に 104 週間(7~8 時間/日, 5 日/週, $14,196 \sim 16,224\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$) 曝露すると呼吸速度, 1 分量, コンプライアンス, 気道抵抗に影響はないことを見いだした。

Vinegar ら(1980, 1981a, b)は, Chinese ハムスターに $6.0\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE に 26 週間(8 時間/日, 7 日/週, $8,736\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$) 曝露すると, 肺活量, 肺重量, 肺残気量, CO_2 拡散能が低下することを見いだした。静的 deflation volume は増加した。同様の影響が, $12.0\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE に 26 週間(8 時間/日, 7 日/週, $17,472\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$) 曝露した場合にも見いだされた。

Brightwell ら(1986)は, F344 ラットに $0.7, 2.2, 6.6\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE に 104 週間(16 時間/日, 5 日/週, $5,824, 18,304, 54,912\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$) 曝露すると $6.6\text{mg}/\text{m}^3$ の場合では呼吸機能に濃度依存的な影響があることが見いだされている。

Heinrich ら(1986a)は, Syrian ハムスターに $4.24\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE に 120 週間(19 時間/日, 5 日/週, $48,336\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$) 曝露すると気道抵抗に著しい増加が見られることを見出した。

まとめ(呼吸機能への影響)

急性曝露の場合, DE そのものの曝露では $6\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度において 4 週間の曝露においても影響はほとんど認められなかった。一方, 紫外線を照射した DE への曝露では $6\text{mg}/\text{m}^3$ 付近の濃度においてラット(20 時間/日, 7 日/週, 4 週間)では動脈血の pH の減少が見られた。また, ほぼ同じ濃度でモルモットにおいても(20 時間/日, 7 日/週, 4 週間) 肺気流抵抗の増加や徐脈の増加などの影響があることが見いだされた。それ以下の濃度における知見は得られていない。

亜慢性曝露の場合, 0.21 から $4.4\text{mg}/\text{m}^3$ の DEP を含む DE ($0.21, 10, 44\text{mg}/\text{m}^3$) にラットを曝露(7 時間/日, 5 日/週, 19 週間)したときにおいても, 呼吸パターン, 動的な肺の機能, 肺の体積, 努力性呼気量, CO 拡散機能などを指標とした呼吸機能に影響がないことが報告されている。

慢性曝露の場合, $0.7\text{mg}/\text{m}^3$ 以下の粒子を含む DE は呼吸機能には影響を及ぼさないと考えられる。 $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ の DEP を含む DE に 38 週間曝露(20 時間/日, 5.5 日/週)の時点では呼吸機能には有意な影響はみられないが, 87 週間(20 時間/日, 5.5 日/週) 曝露した場合, 機能的残気量が増加することと 40%および 20%FVC における最大呼気流量と $\text{FEV}_{0.1}$ が増加することが見いだされた。この変化は機能的残気量の増加と相反する可能性があるが, 影響が観察された最低の濃度である。一方, ラットでは $2.0\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE に 104 週間曝露(7 時間/日, 5 日/週)した時点で呼吸機能には有意な影響はみられないが, 同様の条件($2.0\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含む DE, 7 時間/日, 5 日/週, 104 週間, $7,280\text{mg} \times \text{h}/\text{m}^3$) でサルを用いた実験では 25%の肺活量のところでの努力性呼気流量の減少したことと 40%の全肺気量のところでの努力性呼気流量の減少が見られた。しかし, 肺容積, 拡

散能または換気の分布(ventilation distribution)には影響は見られなかった。それ以上の濃度の慢性曝露では概ね呼吸機能に影響がでてくるといふ報告があるが $3.9\text{mg}/\text{m}^3$ のDEPを含むDEに吸入曝露(104週間, 7~8時間/日, 5日/週, $14,196\sim 16,224\text{mg}\times\text{h}/\text{m}^3$)しても影響が見られないといふ報告もある。これらのことから慢性曝露では 1.5 から $2.0\text{mg}/\text{m}^3$ の粒子を含むDEは呼吸機能に影響を及ぼす可能性が示唆される。今後, 抗原曝露や感染などによる呼吸機能への影響にDEがどのような影響を及ぼすかといった増悪作用, 複合作用についての検討も必要になると考えられる。

3.2.3.3. 気道への影響

3.2.3.3.1. 気道炎症の機構

3.2.3.3.1.1. 気道上皮細胞や末梢血中細胞による気道炎症の機構

気道とくにその粘膜上皮は外界に開かれた呼吸器系の門戸として, 常に, 細菌由来物質, 大気汚染物質, 抗原や薬物などの様々な刺激・障害因子にさらされている。粒子状物質もさまざまな太さの気管支の内腔に沈着して, 生体に作用を及ぼすと考えられる。近年, 気道上皮細胞が, 気道の炎症に能動的かつ重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。まず, 気道上皮細胞はサイトカインをはじめとする活性因子を産生することを通じて気道の炎症反応に能動的に作用しうることが知られてきた。さらに, 各種の慢性気道炎症特に気管支喘息においては気道粘膜の傷害とそれに引き続く修復あるいはリモデリングと呼ばれる組織反応が病態に深く関与していることが認められてきた。DEPによる気道炎症を誘導する機構については, DEPの細胞傷害毒性が活性酸素種によることが報告(Sagaiら(1993))されて以来, DEP由来の活性酸素種が炎症誘導に関与していると考えられた。実際, 低濃度DEPの気管内投与を繰り返すと粘液産生細胞の過形成, 粘液分泌の増加, 肺胞内や細気管支粘膜下への好酸球の集積, 気道過敏性の亢進等がみられたが, ラジカルスカベンジャーのPEG-SODの前処置で好酸球の浸潤や気道過敏性の亢進は抑制された(Sagaiら(1996))。ところで, 気道上皮細胞が産生, 遊離するサイトカインとしては, IL-6, IL-8, GM-CSF, RANTES, eotaxinなどがある。IL-8, eotaxinは, それぞれ好中球や好酸球の局所への集積や活性化を起し, またIL-6はB細胞, T細胞の活性化やヒートショックタンパクのような急性反応性タンパクの産生をもたらす, GM-CSFは各種白血球の増殖, 活性化, 寿命延長をもたらして, 気道の炎症成立と遷延化に重要な役割を果たしていると考えられている。事実, 気管支喘息患者の気道上皮では, GM-CSF, eotaxinなどが, また慢性気管支炎やびまん性汎細気管支炎では, IL-8の遺伝子発現の増強が認められている。これらサイトカインやケモカインの産生を増強するものとしては, 以前から内因性刺激物質として, TGF β , IL-1 α , IL-1 β , TNF α などが知られている。DEPのこれらに及ぼす作用メカニズムについては, 試験管内試験でヒトの培養細胞, 特に気道上皮細胞への影響について検討したものが多し。その他, ヒトのB細胞や, ケラチノサイトなどへの影響を含め表3-15にまとめた。

Takenakaら(1995)は, DEPから抽出されたPAHを用いてヒトのB細胞でのIgE産生に及ぼす影響を検討した。対象は健常な21歳と48歳の健康人から得た末梢単核球(PBMCs)と手術で得られた扁桃からの細胞とそれらのB細胞を95%以上の純度にしたものである。B細胞はIL-4とCD40により活性化する系にPAHを5あるいは50ng/well加えると, 有意にIgE産生の亢進が認められた。また, PAHを加

表 3-15 ヒト培養細胞への影響

細胞	DEP濃度(μg/ml)	曝露時間	影響	出典
ヒト末梢単核球B細胞	DEP由来PAH 5, 50ng/ml	2-21日	IL-4とCD40刺激で誘導されるIgE産生が亢進 濃度依存的でない	Takenakaら(1995)
ヒトB細胞株2C4/F3	DEP由来PAH 1-10ng/ml	72時間	IgE産生は亢進したが、濃度依存的でない	Tsienら(1997)
ヒト気道上皮細胞	10, 50, 100 0.4μm MMD	24時間	50, 100μg/mlで線毛運動の抑制 50μg/mlでIL-8, GM-CSF, sICAM-1の産生増加	Bayramら(1998a)
ヒト気道線毛上皮細胞	10, 50, 100	2-24時間	喘息患者由来の細胞では非喘息患者の細胞より低濃度でIL-8, GM-CSF, sICAM-1が増加 RANTESは喘息患者の細胞でのみ増加	Bayramら(1998b)
ヒト鼻部上皮細胞	SPM 2.5~2500 (7~10μm)	2-48時間	SPMはGM-CSF産生増加	Ohtoshiら(1998)
ヒト気道上皮細胞	DEP 10~100(0.4μm MMD)		ディーゼル排気粒子はGM-CSF, IL-8産生増加	
ヒト気道上皮細胞株BEAS-2B	BaP 2~40		BaPも同様の作用あり	
ヒト気道上皮細胞株BEAS-2B	40~330	24-48時間	110-190μg/mlの濃度でIL-6, IL-8産生の増加 前もってTNF-α処理すると、10-70mg/mlの濃度でIL-6, IL-8産生増加	Steenbergら(1998)
ヒト気道上皮細胞株BEAS-2B	1~50	12時間	IL-8mRNAの濃度依存的な増加 AP-1は不変だが、NF-κBの活性化	Takizawaら(1999)
ヒトクラチノサイト	0.4~20	24時間	20μg/mlでIL-1βの産生増加 PMAとディーゼル排気粒子の存在下でのIL-8の産生増加	Ushioら(1999)
ヒト気道上皮細胞株(16HBE140-)	5~10	24-48時間	時間依存的にIL-8, IL-1β, GM-CSF産生増加	Bolandら(1999)
ヒトトランスフォーム気道上皮細胞	10, 50, 100 0.4μm MMD	24時間	50, 100μg/mlでIL-8とRANTES産生の増加 MAPキナーゼの活性化	Hashimotoら(2000)
ヒト気道上皮細胞株(16HBE140-)	2.5-20	6-48時間	ディーゼル排気粒子結合有機化合物によるGM-CSFmRNA増強 ラジカルスカベンジャーによるGM-CSF産生の阻害 チロシンキナーゼ阻害によるGM-CSF産生の抑制	Bolandら(2000)
ヒト末梢単核球	ビレン 6.25, 12.5, 25, 200	9-72時間	IL-4のmRNAの発現、蛋白レベルでの産生を増強 IL-4プロモーターの転写活性亢進	Bömmelら(2000)
ヒト気道上皮細胞株BEAS-2B	5, 25, 50, 100	3-36時間	ICAM-1のmRNA発現増強、細胞表面でのICAM-1の発現増強 抗酸化剤とp38-MAPK阻害剤はDEPによる増強を阻止	Takizawaら(2000)
ヒト肺血管内皮細胞 マウスマクロファージ細胞株RAW264.7			DEP抽出物により濃度依存的な細胞増殖と細胞生存率の抑制	Baiら(2001)
ラット肺マクロファージ細胞株RAW264.7	DEP extract 25~200 DEP extract 12.5~50	18時間 16時間	DEP抽出物によるアポトーシスはミトコンドリア傷害によるcytochrome C遊離を介す DEPのaromaticと、polar分画に誘導活性、3,6-benzo(a)pyrene quinones (BPQ)に誘導活性 HO-1発現はDEPの細胞傷害を抑制	Hiuraら(2000)
ヒト鼻腔上皮細胞	DEP extract 0.5~50ng/ml	6時間	histamine H1 receptor mRNA (5,50ng/ml) が増強	Teradaら(1999)
ヒト鼻腔微血管内皮細胞			histamineによるIL-8, GM-CSF産生を増強	
ヒト末梢単核球 (ハウスダストにアレルギーのある喘息患者)	DEP-PAH (CH ₂ Cl ₂) DEP extract 0.5~50ng/ml	24時間	DEP-PAH単独でサイトカイン(TNFα, IL-8, RANTES)の産生を増強 ハウスダストアレルゲンDer p1刺激によるサイトカイン(TNFα, IL-8, RANTES)の産生を増強 mitogen-activated kinase (MAPK)阻害薬で抑制	Fahyら(2000)
ヒト気管支上皮細胞株Bet-1A	DE 希釈トンネル内 2.9mg/m ³	14時間まで	IL-8, TGFβ-1の遺伝子発現、タンパク産生増強	Abeら(2000)

えるタイミングをIL-4とCD40を加えた2日,5日後にするとさらにIgE量の増強がみられた。PAHによるB細胞からのIgE産生増強は他のIgMやIgGではみられなかった。PAH単独ではIgE産生増強はなくIL-4と抗CD40抗体を加えたときにIgE産生が増強されることからPAHは遺伝子転写やアイソタイプスイッチに作用するのではなく進行中のIgE産生を増強するものと考えられた。IL-4と抗CD40抗体にダイオキシン(TCDD)を 10^{-4} mol/l加えた場合にもIgE産生は増強された。

Tsienら(1997)は,DEPの主要な構成成分であるphenanthreneの影響を,エプスタイン - バアル - ウイルス(EBV)でトランスフォームしたヒトB細胞株2C4/F3を用いて検討した。1~10ng/mlの濃度でPAHと同様にphenanthreneもIgE産生を亢進したが,濃度依存的ではなかった。正常B細胞をIL-4とCD40で刺激してIgE産生を誘導する実験系でもphenanthreneは1~2ng/mlの濃度で増強した。また,PAH-DEPと同様にphenanthreneも鎖鎖の鎖鎖となるイソフォームを誘導した。しかしながら,2C4/F3細胞が持っているIL-4,IL-6,IL-10,TNF- α などのサイトカイン発現はphenanthreneにより増強されなかった。

Bayramら(1998a)は,ヒトの気道を介した疾病発症に及ぼすDEPの影響を検索するために,ヒト気道上皮細胞をDEPの存在下で培養し種々の炎症反応指標の変動を調べた。線毛運動の抑制が,50と100 μ g/mlのDEP(MMAD 0.4 μ m)でみられた。ヒトの気道上皮細胞を10 μ g/mlのDEPと24時間培養してもサイトカイン等の因子の産生には影響がみられなかった。しかしながら,50 μ g/mlのDEPと24時間培養するとIL-8,GM-CSF,sICAM-1産生が有意に増加する結果を得て,DEP曝露がヒトの気道上皮細胞に作用して炎症反応の誘導に関与する可能性が示唆された。

Bayramら(1998b)は,アトピー性喘息患者と非アトピー非喘息の人より採取した気道線毛上皮細胞を用いて,DEPの線毛運動,炎症性因子の遊離について検討した。線毛運動の指標であるciliary beat frequency(CBF)は喘息患者,あるいは非喘息者の細胞を10,50,100 μ g/mlで2時間から24時間培養するといずれも有意な低下がみられた。喘息患者の気道上皮細胞は生来IL-8,GM-CSF,sICAM-1の産生は非喘息者より高い値であり,RANTESの産生は,喘息患者でのみみられた。10 μ g/mlのDEPは,喘息患者の細胞ではIL-8,GM-CSF,sICAM-1らの産生を有意に亢進したが,50と100 μ g/mlの濃度ではIL-8とRANTESの産生を有意に抑制した。他方,非喘息者では,50と100 μ g/mlの濃度はIL-8とGM-CSF産生を亢進させ,非喘息者と喘息患者の気道上皮細胞のDEPに対する感受性に差のあることが示唆された。

Ohtoshiら(1998)は,ヒトの鼻部上皮細胞,ヒトの気道上皮細胞及び,ヒトの気道上皮細胞株BEAS-2Bを用いて,SPM(平均粒径7~10 μ m)とDEP(平均粒径0.4 μ m)のIL-8とGM-CSF産生に及ぼす影響について比較検討した。SPM投与は,すべての細胞でGM-CSF産生を増強したが,IL-8産生には影響がみられなかった。DEPは,細胞毒性のみられない濃度範囲でGM-CSFとIL-8産生ともに有意な増加を誘導した。DEPの構成成分であるBaPを同様に加えて調べるとGM-CSFとIL-8産生とも増加がみられた。なお,粒子状物質としてcharcoalとgraphiteを用いた実験では両サイトカイン産生は亢進しなかったことから,DEPの作用が単なる物理的作用によるものではないと解釈している。

Steenbergら(1998)は,ヒトの気道上皮株化細胞BEAS-2Bを用いて,DEPのサイトカイン産生への影響について検索した。DEP(粒径0.025~0.035 μ m)を40~330 μ g/mlの濃度で加えて24,48時間培

養し、上清中のIL-6とIL-8産生を測定した。DEPの110～190 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でIL-6とIL-8産生の有意な亢進がみられた。産生量は、陽性対照のシリカと陰性対照の TiO_2 の中間を示した。さらに、活性化したBEAS-2BへのDEPの影響を調べるために、前もってTNF- α 処理したBEAS-2BをDEPと共に培養すると10～70 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で両サイトカインの有意な産生亢進がみられた。

Takizawaら(1999)は、ヒト気道上皮細胞株BEAS-2Bを用いて、1～50 $\mu\text{g}/\text{mg}$ DEP(平均粒径0.4 μm)/mlの濃度でのIL-8産生に関する作用機序を探った。12時間培養では、濃度依存的にIL-8mRNAの増加がみられたので、核内での転写因子であるNF- κB とAP-1の特定のオリゴヌクレオチドへの結合の促進作用について検討した。その結果、AP-1については影響はみられなかったが、NF- κB の結合は促進がみられた。また、luciferase reporter gene assayでDEPによるNF- κB の活性化がIL-8の転写に参与していることも明らかにした。一方、抗酸化剤であるpyrrolidine dithiocarbamate (PDTTC)とN-acetylcystein (NAC)の添加でDEPによるBEAS-2BからのIL-8産生が抑制されたことから、DEPの有するオキシダント作用がNF- κB の活性化に参与している可能性も示唆している。

Ushioら(1999)は、ヒト皮膚のケラチノサイト(hKCs)を用いて、前炎症性サイトカイン(IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-8)産生に対するDEPの影響を検討した。hKCsを0.4, 0.8, 4, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のDEPと共に培養すると、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のDEPで細胞の増殖はみられないがIL-1 β が5～6倍増加した。PMAの添加でさらに増加がみられたが、PMAのみでは増加しなかった。IL-8は、DEPのみではほとんど増加は認められないが、PMAと0.4, 0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のDEPが存在すると有意な増加がみられた。

Bolandら(1999)は、株化されたヒトの気管支上皮細胞(16HBE14o-)を用いて、DEPの傷害作用について検討した。LDH放出やトリパンブルー取り込みでみた細胞傷害活性は、DEPの添加時間及び用量依存的に誘導された。DEPにより誘導されるサイトカイン産生においては、時間依存性にIL-8, IL-1 β , GM-CSF産生が増加した。電子顕微鏡観察から、DEPが気道上皮細胞に貪食され、DEP中の有機化合物がサイトカイン産生を誘導し、炎症反応へと向かうことが示唆された。

Hashimotoら(2000)は、ヒトのトランスフォームした気道上皮細胞を用いて、試験管内試験でDEP粒子(平均粒径0.4 μm)のサイトカイン産生への作用機序を解析した。10, 50, 100 μg DEP/mlで24時間培養するとIL-8とRANTESの産生亢進が50, 100 μg DEP/mlでみられた。DEP投与によりサイトカイン遺伝子の活性化に参与するp38MAPK発現がみられ、特異的なMAPK阻害剤であるSB203580でIL-8とRANTES産生が抑制されたことからこのキナーゼの関与を明らかにした。また、DEPによるIL-8やRANTESの産生が抗酸化剤であるNAC投与により阻害されたことから、MAPKの活性化に酸化・還元系の関与も示唆された。

Bolandら(2000)は、株化されたヒト気管支上皮細胞(16HBE14o-)を用いて、DEPによるGM-CSF遊離のメカニズムについて検討した。DEP量に依存したGM-CSF産生がみられ、GM-CSFmRNAの発現増加についてDEP, DEP抽出物, DEP抽出残渣で比較すると、DEP抽出物に最も高い活性がみられた。また、ラジカルスカベンジャーは、DEPによるGM-CSF産生を阻害した。さらに、チロシンキナーゼ阻害剤のゲニスタインはDEPによるGM-CSF遊離効果を阻止した。これらの結果は、DEPによるヒト気道上皮細胞からのGM-CSF遊離を増加させる作用の引き金のシグナル発現には、活性酸素とチロシンキナーゼが関与していることが示唆された。

Bömmelら(2000)は、健常人からの末梢単核球(PBMCs)を用いて、DEPのPAHs成分であるピレンのサイトカインIL-4産生に及ぼす影響について検討した。PBMCsをConAで活性化し6.25, 12.5, 25, 200 μ g/mlのピレンと共に48時間培養するとIL-4産生の亢進、IL-4mRNAの発現増強がみられた。他の炭化水素成分のアントラセン、フルオランテン、フェナントレンと共にIL-4プロモーターの転写活性を比較したところ、ピレンのみで転写活性化がみられ、アントラセンとフルオランテンは活性化はみられなかった。また、フェナントレンでは転写の抑制がみられた。これらの結果から、ピレンがIL-4産生を増強し、アレルギー疾患の増強に関与している可能性が示唆された。

Takizawaら(2000)は、ヒトの気道上皮細胞株(BEAS-2B)を用いて、DEPのICAM-1産生の亢進について検討した。BEAS-2BをDEP濃度5, 25, 50, 100 μ g/mlで12時間培養してICAM-1mRNAを調べると、5~50 μ g/mlまで濃度依存的にICAM-1mRNA発現の増加がみられた。この増加は、抗酸化剤であるNACとPDTC処理により阻害された。細胞表面でのICAM-1発現をFACSで調べると、濃度依存的な発現の増加がみられた。また、24時間DEP曝露による可溶性ICAM-1の増加も濃度依存的であった。細胞内シグナルの阻害剤を用いた検索では、p38-MAPK阻害剤であるSB203580でICAM-1mRNA発現の顕著な抑制が認められ、DEPによるICAM-1発現増加にp38-MAPK経路やNF- κ Bの活性化を導くオキシダント作用の関与が示唆された。

ヒトの細胞を用いてサイトカイン・ケモカイン産生へのDEPの影響を検索した報告がみられた。

Diaz-Sanchezら(2000b)は、鼻粘膜に存在する細胞からのCCケモカイン産生へのDEPの影響を調べるために、健常人に0.3mg DEPを点鼻投与して鼻洗浄液中のケモカイン量を測定した。RANTES, MIP-1 α , MCP-3の増加がみられたが、Eotaxinに変化はみられなかった。炎症性細胞の集積でも、リンパ球、単核球/マクロファージ、好中球の増加がみられたが、好酸球の増加はみられなかった。以上の結果から、アレルゲンの非存在下で、DEPが炎症反応を誘導し、炎症性細胞の集積に関与することが示唆された。

Bömmelら(2000)は、ヒトの末梢血中のT細胞を用いてDEPの成分であるPAH類の中のピレンのIL-4産生亢進作用について検討した。ConA刺激によりIL-4産生を誘導する実験系に、ピレン、Anthracene, fluoranthene, phenanthreneを加えてIL-4mRNAの発現、IL-4蛋白量を調べた。ピレンの投与ではどちらも有意に増加しIL-4プロモーター活性の亢進がみられたが、他の炭化水素類ではIL-4プロモーター活性の亢進は認められなかった。なお、ピレンのIL-4誘導によるSTAT-6経路の活性化は誘導されなかった。

Fahyら(2000)は、ハウスダストに感作されたアレルギー患者からのPBMCsを用いてDEPからのジクロロメタン抽出物(DEP-PAHs)とダニアレルゲン(Der p 1)のケモカイン産生作用への影響機構について検討した。DEP-PAHsとDer p 1はそれぞれ単独でIL-8, RANTES, TNF- α の産生を誘導したが、MCP-1産生においては、Der p 1は増加を誘導したが、DEP-PAHsは抑制を示した。DEP-PAHsとDer p 1の同時投与による相加効果もみられた。ケモカインmRNAの産生も蛋白レベルの変動と同様な結果が得られ、MAPキナーゼのアンタゴニストを用いてその産生誘導を調べると、MCP-1産生はErk1/2の阻害で、IL-8とRANTES産生はp38の阻害でそれぞれ抑制された。したがって、DEP-PAHsとDer p 1の曝露はMAPキナーゼ系を介してケモカイン産生の増強に関与すると考え

ると考えられる。

Abeら(2000)は、ヒトの気道上皮細胞に及ぼす DE の影響を調べるために、*in vitro* の培養系にフレッシュな DE を曝露するシステムを考案した、このシステムを使って、BET-1A ヒト気道上皮細胞でのサイトカイン遺伝子の発現を調べた。DE は BET-1A 細胞への ³H-チミジンの低下を引き起こしたが、IL-8 遺伝子の発現は顕著に促進した。IL-8 と transforming growth factor (TGF-β1) の mRNA 発現は DE 曝露時間に依存して増加した。DE からフィルターで粒子を除いたガスは IL-8 のタンパク質も mRNA 発現にも影響しなかった。このことは、DEP が IL-8 発現に重要な役割を果たしていることを示唆している。また、抗酸化剤の PDTC や NAC の添加は IL-8 の発現を阻害した。これらのことから、フレッシュに発生された DE 中の DEP が活性酸素の産生を介して気道炎症を誘起するサイトカインの IL-8 や TGF-β1 の発現に関与していることを示唆している。

Takizawaら(2000)は、実験的研究と同様に疫学的研究も DEP が近年の呼吸器疾患による死亡率や罹患率の増加に重要な役割を果たしていることを示唆していることから、ヒトの気道上皮細胞の培養系を用いて、DEP が IL-8 や GM-CSF などの炎症性サイトカインが増加することを見出した。

ヒトの正常気道上皮細胞とヒトの気道上皮株化 BEAS-2B 細胞では、DEP の細胞毒性がない濃度範囲でも、IL-8 の mRNA の定常的レベルを増加させた。また、DEP は NF-κB の特異的モチーフ (DNA) への結合を増加させた。しかし、AP-1 因子への結合は変わらなかった。さらに、抗酸化剤 (NAC と PDTC) は IL-8 の mRNA 発現におよぼす DEP の作用を低減した。このことは、オキシダント介在経路が IL-8 の mRNA 発現に関与していることと、NF-κB の活性化が IL-8 遺伝子発現にエッセンシャルであることを示している。

Kawasakiら(2001)は、疫学的研究や実験的研究から DEP が呼吸器疾患による死亡率や罹患率の増加と関連しているという事実との関連を検証するため、ヒトの気道上皮細胞培養系に DEP を添加し、呼吸器疾患発症の初期病態としての炎症性サイトカイン産生が増加すること、中でもベンゼン抽出画分が特にその活性が強いこととその発現メカニズムについて報告した。この前炎症反応のメカニズムを解明するために、著者らは、ヒトの気道上皮株化細胞の BEAS-2B 細胞と健常人の末梢気道から得た気道上皮細胞を用いて、DEP の各種有機溶媒による抽出画分(n-ヘキサン画分、ベンゼン画分、クロロホルム画分、エチルアセテート画分、メタノール画分) の作用を調べたところ、炎症性サイトカインの IL-8 と GM-CSF の発現増加はベンゼン画分で顕著であることを認めた。また、このサイトカイン発現の情報伝達系におよぼす Protein kinase C 阻害剤(staurosporin)、抗酸化剤(NAC、PDTC)、MAP kinase 阻害剤(SB203580)などの影響を調べたところ、抗酸化剤と MAP kinase 阻害剤がサイトカイン遺伝子の発現を抑制することを認めた。このことから、DEP による炎症性サイトカイン遺伝子の発現は NF-κB の活性化と p38MAPK 経路を経て増加していることが示された。

以上の細胞への DEP の影響をまとめると、a) 気道上皮細胞に直接作用して、IL-8、GM-CSF などのサイトカイン、ケモカインの産生を増強させる、b) これら炎症性細胞の局所集積と活性化に重要な接着分子の一つである ICAM-1 発現を増強する、などアレルギーの非存在下で、DEP が炎症反応を誘導し、炎症性細胞の集積に関与する。また、末梢血中の単核球が抗原刺激によるケモカイン産生を増加させる、c) 試験管内 DE 細胞曝露システムで TGFβ-1 遺伝子発現が増強されたと報告(2000)

(2000)しており、気道のリモデリングに重要な成長因子の一つであるTGFβ-1遺伝子の誘導を起こし、気道の修復過程にも影響している可能性が示唆されている。

3.2.3.3.1.2. 肺胞マクロファージによる炎症の機構

次に、気道に取り込まれたDEPは、貪食活性を有する肺胞マクロファージへの影響を介して炎症誘導に関与していることを示す報告がある。粒子状物質の気道からの排除に肺胞マクロファージが大きな役割を担っているわけであるが、この運搬、排除作用が阻害され、粒子が長く肺内へ沈着することにより、多形核白血球、血中単核球様細胞、肺胞間質マクロファージが増加、あるいは活性化され炎症へむけての病因的役割をになうようになる。また、DEPを貪食した肺胞マクロファージからIL-1やTNFαのような炎症性サイトカインや活性酸素が放出され炎症誘導に関与していると考えられている。肺胞マクロファージへの粒子曝露の影響についての報告を表3-16にまとめた。

AdamsonとBowden(1981)は、粒子に対する肺胞マクロファージの反応を明らかにするためにCD-1マウスに、0.1, 1, 2, 4, 8mgのカーボン(直径0.03μm)あるいは4mgポリスチレンラテックス(直径0.1と1μm)を気管内投与し、肺胞洗浄液中のマクロファージ数の変化を検討した。カーボン投与1日後から1mg以上の濃度では細胞数の増加がみられた。ラテックスによる肺胞マクロファージの増加のピークは、直径0.1μmの粒子では投与3日後、1μmの粒子では2日後であった。

Stromら(1984)は、6週齢のFischer-344ラット(一群6匹)を用いて、DE曝露の肺への影響を調べた。DEの曝露は、0, 250, 750, 1500, 6,000 μg/m³の濃度で、6と12ヶ月行った。肺胞洗浄液中の細胞数は、750μg/m³以上より濃度依存的に増加し、その内訳はマクロファージ、好中球、リンパ球の順であった。また、750μg/m³からマクロファージの総体積の有意な増加、肺胞洗浄液に含まれる細胞で酸性フォスファターゼ活性の増加がみられた。これらの結果から、250μg/m³のDE濃度が影響のみられない閾値に近い濃度と考えている。

Yangら(1997)は、ラット肺胞マクロファージ(AM)を0, 5, 10, 20, 50, 100μg/10⁶AM/mlのDEP濃度で24時間培養し、上清中へのサイトカイン遊離を測定した。DEP、DEPメタノール抽出物はIL-1産生を亢進したが、TNF-αでは亢進がみられなかった。LPSで前もって活性化したAMからのIL-1、TNF-α産生はDEPにより阻害された。この阻害効果は、DEPの有機溶媒抽出物によると考えられる。

Yangら(1999)は、ラットにDEP、カーボンブラック(CB)、シリカを5,あるいは35mg/kgBWで単回気管内投与し、1, 3, 7日後に肺胞マクロファージ(AM)の活性を調べた。DEP投与ラットからのAMはIL-1を産生しTNF-αではみられなかったが、CBとシリカ投与では反対の結果であった。DEP投与ラットからのAMを試験管内試験でLPS刺激するとTNF-αの減少がみられ、DEP投与ラットにLPSを投与して得たAMにおいてもサイトカイン産生の抑制がみられた。CBやシリカでは抑制反応はみられなかった。

Hiuraら(1999)は、初代マクロファージと株化されたマクロファージ(RAW264.7とTHP-1)を用いて、DEPのどの化学成分がどのような機序で影響を及ぼすか検討した。DEP、あるいはDEPより抽出した有機成分を50~400μg/mlの濃度でマクロファージと18時間培養して、アポトーシスが誘導されることを明らかにした。有機成分が抽出された残りのDEP残渣にはその活性がみられなかった。また、有

表 3-16 肺胞マクロファージへの影響

粒子濃度	曝露期間	動物種	影 響	参考文献
カーボン 0.1, 1, 2, 4, 8mg/マウス	気管内単回投与 1~14日	CD-1マウス	0.1mg以外の濃度では投与1日後より肺胞マクロファージ数増加	AdamsonとBowden (1981)
0.25 0.75 1.5 6.0(mg/m ³) 0.19µm MMD	20時間/日 5.5日/週 26, 52週	雄F344ラット	0.75mg/m ³ 以上より濃度依存的に肺胞マクロファージ数が増加 肺胞マクロファージの体積も増加	Strom (1984)
5, 10, 20, 50, 100µg/ml	24時間	ラット肺胞 マクロファージ	DEP, そのメタノール抽出物によるIL-1産生亢進 LPS活性化AMをディーゼル排気粒子処理するとサイトカイン産生は抑制	Yangら(1997)
5mg/kgbw 35mg/kgbw	1, 3, 7日	ラット	DEP投与ラットのAMはIL-1を産生, TNFαはなし DEP投与ラットにLPSを投与すると, AMからのIL-1産生は抑制	Yangら(1999)
50-400µg/ml	18時間	株化マクロファージ RAW 264.7 THP-1	DEP, その抽出有機成分によるアポトーシスの誘導 有機成分はストレス応答性蛋白質キナーゼを活性化 DEPの細胞傷害効果は抗酸化剤で阻止	Hiuraら(1999)

機成分はストレス性-活性化蛋白質キナーゼの活性化を誘導した。DEPやその有機成分による細胞傷害効果は抗酸化剤のNACによって阻止された。

以上の実験動物の肺胞マクロファージへのDEPの影響をまとめると、a)肺胞マクロファージに対しては、むしろサイトカイン産生を抑制する、b)肺胞マクロファージに対してそのアポトーシスを誘導する、等の機構で気道の慢性的な炎症反応を惹起していると考えられる。

まとめ(気道炎症の機構)

気道に取り込まれた DEP は、貪食活性を有する肺胞マクロファージへの影響を介して炎症誘導に関与していると考えられている。粒子状物質の気道からの排除に肺胞マクロファージが大きな役割をになっているわけであるが、この運搬、排除作業が阻害され、粒子が長く肺内へ沈着することにより、多形核白血球、血中単核球様細胞、肺胞間質マクロファージが増加、あるいは活性化され炎症へむけての病因的役割をになうようになってしまう。また、DEP を貪食した肺胞マクロファージから炎症性サイトカインや活性酸素が放出され炎症誘導に関与しているとも考えられている。

気道炎症の誘導メカニズムとしては、第一に試験管内試験の気道上皮細胞を用いた研究報告から明らかなように、生体内に取り込まれた DEP に結合、付着している PAHs が気道上皮細胞、肺胞上皮細胞や肺胞マクロファージなどに作用してそれらの細胞内での情報伝達シグナル、核内転写因子を活性化することにより炎症性サイトカイン、ケモカイン、接着分子などを発現する経路があると考えられる。ここで、注目すべきは DEP の核としての元素状炭素画分には気道上皮細胞などからの炎症性因子を誘導する活性はみられないが、IgE 抗体産生の亢進作用は有していることから、粒子としての物理的特徴が IgE 産生の別の経路を活性化している可能性が考えられる。第二に、DEP 粒子からの活性酸素、あるいは粒子を取り込んだ肺胞マクロファージが産生する活性酸素が、気道や肺の上皮細胞、肺胞マクロファージなどの構成細胞に傷害を与え、その傷害に起因して産生される炎症性サイトカインが炎症誘導に一役買っていることが明らかにされている。

DE 曝露中には高濃度のガス状物質も含まれており、粒子状物質との相加、相乗効果についての検討、感染などの気道炎症の増悪作用が肺炎などと結びつき死亡率を高める可能性の検討は今後の課題である。

3.2.3.3.2. 非アレルギー性気道炎症

DEP あるいは DE の曝露が非アレルギー性気道炎症に及ぼす影響に関する報告を表 3-17 にまとめた。

Chaudhari ら(1981) はモルモットとラットに DEP 濃度として 0, 0.25, 1.5mg/m³ の DE を 12 ヶ月間吸入させ、炎症反応に関するプロスタグランジン脱水素酵素活性の変化を調べ、0.25mg/m³ の濃度から有意に低下したことを報告している。

Dziedzic(1981) はモルモットに DEP 濃度として 1.5mg/m³ の DE を 1 日 20 時間ずつ、5.5 日/週、4 週間あるいは 8 週間吸わせ免疫系に及ぼす影響を調べている。B-リンパ球、T-リンパ球、気管支内リンパ球細胞、脾臓細胞および血液から分離された null 細胞数等に DE 吸入の影響はなかった。ま

表 3-17 非アレルギー性気道炎症に関する研究

粒子濃度	曝露期間	動物種	影 響	出 典
0, 0.25, 1.5 mg/m ³	1.5, 3, 6, 12 ヶ月	モルモット ラット	0.25 mg/m ³ で炎症反応に關与するプロスタグランジン脱水素酵素活性低下	Chaudhari ら(1981)
1.5 mg/m ³	20 時間/日, 5.5 日/週 4 or 8 週間	ハートレー系 雄モルモット	B-リンパ球, T-リンパ球, 気管支内リンパ節, 脾臓細胞および血液から分離された null 細胞数に影響なし	Dziedzic(1981)
2 mg/m ³	7 時間/日, 5 日/週 2 年間	F-344 雄 ラット	コンカナバリン A やファイトヘマグルチニンに対する脾臓の T リンパ細胞の増殖反応に変化なし	Mentnech ら(1984)
3.5 mg/m ³	7 時間/日, 5 日/週, 17 日間	F-344 ラット B6C3F1 マウス	ラットでは 2 日目に LTB ₄ , PGF _{2α} 増加, その後元へ戻る。マウスでは BAL 中総細胞数, マクロファージ数, 好酸球数増加	Henderson ら(1988)
0.1, 0.2 mg の DEP を毎週 気管内投与(it).	1 回/週, 16 週間	ICR 系雄マウス	気道への好酸球浸潤と BAL 中粘液成分著増。呼吸抵抗は 0.1mg 群で 4 倍, 0.2mg 群で 10 倍増, これらの所見は PEG-SOD の前投与で消失。	Sagai ら(1996)
0.1, 0.2 mg DEP を毎週気 管内投与(it)	1 回/週, 10 週間	ICR 系雄マウス	気道への好酸球浸潤は 0.1mg>0.2mg。0.1 mg DEP で気道上皮細胞での O ₂ 産生酵素と cNOS 酵素誘導上昇。SOD 酵素低下。気道の酸化ストレス増加を示唆。呼気中 NO 増加。呼吸抵抗も上昇し, NOS 阻害剤で消失。	Lim ら(1998)
0.1 mg DEP を毎週気管 内 投与(it)	1 回/週, 9 週間	ICR 系雄マウス	気道への好酸球数浸潤と杯細胞の増生は飲料水として L-アルギニンを与えると著増し, iNOS 阻害剤投与で消失。気道炎症に NO の関与を示唆	Takano ら(1999)
0.5 mgDEP を気管内投 与	1 回	ナイーブマウス	BAL 中炎症細胞の有意な増加, 気道過敏性の亢進は認めず。大気中 PM も同じく投与し, 気道過敏性亢進が 7 日間持続。その持続は BAL 中好酸球の劇的増加と相関。	Walers ら(2001)
0.025 mg DEP を点鼻投 与	2 回/週, 2 週間	A/J マウス C57BL/c マウス	気道狭窄が両系統マウスで有意に増加し, デルブタミン投与で回復。粘液分泌性クララ細胞増生。GM-CSF の mRNA 発現増加, GM-CSF 抗体投与で上記影響抑制	Ohata ら(1999)

た、トリンプルー排除法による細胞の生存率にも影響はなかった。

Mentnech ら(1984)は、ラットに DEP 濃度として $2\text{mg}/\text{m}^3$ の DE を 1 日当り 7 時間ずつ、5 日/週、2 週間吸入させ、脾臓中の抗体産生細胞数を測定することで免疫能を調べている。細胞分裂促進剤のコンカナバリン A やフイトヘマグルチニンに対する脾臓における T-リンパ細胞の増殖反応は、DE 吸入で変化は認められなかった。これらの結果から、DE は液性免疫にも細胞性免疫にも顕著な影響は及ぼしていないと述べている。これは、抗原投与や免疫処置をしていない、いわゆる非アレルギー反応系の実験なので免疫系に変化がないという結果は妥当と思われる。

Henderson ら(1988)は F-344 ラットと B6C3F1 マウスに $3.5\text{mg}/\text{m}^3$ の DE を 1 日 7 時間、5 日/週、17 日間吸入させ、炎症に關するロイコトリエン(LT)やプロスタグランジン(PG)の変化を調べている。ラットでは、DE 吸入 2 日目で好酸球遊走を引き起こす化学伝達物質である LTB_4 と血管拡張等に作用する $\text{PGF}_2\alpha$ 濃度が増加したが、その後対照レベルに戻った。マウスでは肺胞洗浄液(BALF)中の総細胞数、マクロファージ数および好酸球数が有意に増加したと報告している。

Sagai ら(1993)は、DEP の毒性メカニズムを調べる目的で DEP を 0.5% Tween80 を含むリン酸緩衝液(pH7.4)に懸濁して、0~1.0mg を ICR 系雄マウスに 1 回気管内投与している。この結果、DEP の気管内投与による LD_{50} は $0.6\text{mg}/\text{匹}$ ($20\text{mg}/\text{kg}$) であり、このマウスにポリエチレングリコールを結合させて体内半減期を長くするようにしたスーパーオキシドジスムターゼ(PEG-SOD)酵素を前投与すると死亡率が著しく低下することを見いだした。このことは、DEP が肺内でマクロファージによる貪食作用を受けたり、DEP 中の有機化合物が薬物代謝酵素等によって代謝されることによってスーパーオキシドをはじめとする活性酸素が多量に放出され、それらが血管内皮細胞を損傷して肺水腫を引き起こしたことによると述べている。

Ichinose ら(1995)は、上記と同様に 0.8mg の DEP をマウスに気管内投与し、0.8mg の活性炭の毒性と比較を行っている。肺の病理学的検討の結果、活性炭投与マウスでは肺胞マクロファージの集積が認められたが、肺水腫様変化は全く認められず、好中球の浸潤も極めて軽微であった。これに対して、DEP 投与群では肺水腫が顕著に見られると共に好中球の顕著な浸潤が認められ、急性炎症反応が起こっていることを報告している。

Kato ら(2000)は、Wistar 系雄ラット(5 週齢)に 0.21 、 1.2 および $3.1\text{mg}/\text{m}^3$ の DE を 6、12、18 および 24 ヶ月間吸わせ、呼吸器の病理標本から炎症性細胞の変化を調べている。気道及び肺組織に遊走した炎症細胞は、肺胞マクロファージ(Mp)、肥満細胞(M)、形質細胞(P)、好中球(N)、リンパ球(L)などで、肺胞マクロファージ(Mp)数は DE の曝露濃度および曝露期間の延長につれて増加していた。その他の炎症細胞の出現数の変化は明確ではない。しかし、好酸球の浸潤はどの濃度群、どの期間でも認められていない。

$1.2\text{mg}/\text{m}^3$ の DE 群から粒子を除いたガス成分のみの曝露の場合、炎症細胞反応はほとんど認められず、気道及び肺組織の形態変化も極めて軽微であった。これらのことより、炎症細胞の浸潤は DEP と DEP を貪食するために出現した肺胞マクロファージにより惹起されている可能性が示唆されている。

Borm と Driscoll(1996)は、活性炭のように発がん物質を全く含まない微粒子の吸入過剰負荷によ

る発がんメカニズムを検討した結果、微粒子を貪食したマクロファージ等が多量の活性酸素を産生し、その活性酸素が遺伝子を活性化し、その結果 TNF- α や IL-8 のような炎症性サイトカイン産生が促進され、それらサイトカインが多核白血球 (PMNs) の活性化や化学走化性を強化したり、細胞接着分子の発現や細胞増殖作用、細胞分裂作用などを発現し、がん化すると説明している。これは発がん過程で気道及び肺組織における炎症性サイトカインの重要性を指摘しているものであるが、これら炎症性サイトカインは気道炎症とも深く関わっていることが知られている。

また、前項(3.2.3.3.1.)において、DEP 抽出物が培養したヒトの気道上皮細胞に作用して IL-8 や GM-CSF 等の炎症性サイトカインを産生することを述べている。また、アレルギー性鼻炎の研究として、Nelら(1998)は、その概念をさらに拡大して、DEP が気道上皮細胞、肺泡マクロファージおよび肥満細胞などに作用して IL-4, IL-10, RANTES などをも産生し、これらが Th2 細胞や B 細胞を活性化することを示し、アレルゲンが共存す場合には IgE 産生を亢進するとしている。また、彼らは、DEP 中の PAHs が肺の細胞質内のアリルヒドロカーボン (PAHs) 受容体 (AhR) に結合して遺伝子を活性化し、薬物代謝酵素の CYP1A1 (チトクローム P-450 の分子多型の 1 種) 等を誘導し、PAH や多環芳香族ケトン等の代謝を促進して、その結果、活性酸素産生を増加させ、それが炎症性サイトカイン産生を亢進させているとしている。

Sagaiら(1996)は6週齢の ICR 系雄マウスに、0.1mg あるいは 0.2mg の DEP を週に 1 回ずつ 16 週間にわたって気管内投与し、気道周囲への好酸球の顕著な浸潤、粘液産生細胞の増生ならびに気道過敏性の 4~10 倍の亢進などを認めている。なお、これら 3 つの喘息様病態はポリエチレングリコールを結合させたスーパーオキシドジスムターゼ (PEG-SOD, 活性酸素消去酵素) の気管内への前投与で効果的に抑制されている。これらのことから、DEP は 0.1mg/匹レベルの濃度から喘息様病態を発現させることと共に、この気道炎症の発現に活性酸素が深く関与している可能性を示唆している。

Limら(1998)は8週齢の ICR 系雄マウスに毎週 1 回ずつ 10 週間にわたって 0.1mg あるいは 0.2mg の DEP を気管内投与し、気道粘膜下への好酸球浸潤の程度と気道炎症に関与するメカニズムについて検討している。気道粘膜下への好中球浸潤は濃度依存的であるが、好酸球浸潤は 0.1mg 投与群のほうが 0.2mg 群の値より高い。また、好酸球浸潤は PEG-SOD 前投与で 1/4 以下に低下している。一方、0.1mg DEP の繰り返し気管内投与で活性酸素を産生させる酵素である肺の NADPH cyt P-450 reductase 活性は有意に増加し、逆に活性酸素を消去する酵素である CuZn-SOD と Mn-SOD 活性は有意に低下し、特に Mn-SOD 活性は顕著に低下している。これら 3 種類の酵素は各々の特異抗体で免疫染色して、これら酵素は気道上皮細胞とクララ細胞内に存在していることが確認されている。このことは、DEP 投与は気道内で活性酸素産生を増加傾向にかたむけ、酸化的ストレスを亢進することを示唆している。また、気道上皮での NO 合成酵素 (NOS) の誘導も免疫組織染色法で調べ、気道上皮内の cNOS とマクロファージ内の iNOS が顕著に誘導されていることと共に、呼気中の NO が DEP 投与群で有意に増加していることが認められている。さらに、DEP 投与で呼吸抵抗 (Rrs) が 2.5 倍に増加し、NOS 阻害剤の投与で Rrs 増加は完全に抑制されている。これらの結果から、DEP による気道炎症の発現には、気道上皮細胞や肺泡マクロファージなどに由来する O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$,

H_2O_2 , $\cdot OH$, NO あるいは $ONOO^-$ 等の活性酸素が深くかかわっている可能性が示唆されている。

Takano ら(1999) は気道炎症の発現に NO が関与していることを別の角度から確認するために、ICR 系雄マウスに 1 週間に 1 回ずつ 9 週間にわたって $0.1mg$ の DEP を気管内投与しながら、 NO 合成の前駆物質(原料)である L-アルギニンを飲料水として与え、気道炎症が悪化するかどうかを調べている。L-アルギニン投与だけでは好酸球の浸潤を伴う気道炎症は全く認められないが、DEP 投与動物に L-アルギニンを飲ませると気道粘膜下への好酸球の浸潤と粘液産生細胞の増生が顕著に亢進し、また、この顕著な亢進は iNOS 阻害剤投与でほぼ完全に抑制されている。これらの結果から、気道炎症の発症には NO と $ONOO^-$ のような活性酸素関連分子種が重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。

Ichinose ら(1999) は、DEP 濃度として $0, 0.3, 1.0$ および $3.0mg/m^3$ の DE を ICR 系雄マウスに 8 ヶ月間吸入させた実験を行い、アレルゲンを吸入させないと気道粘膜下への好酸球の浸潤や粘液産生細胞の増生はどの濃度群でも認められなかったと報告している。一方、気道粘膜下へのリンパ球の浸潤や無線毛上皮細胞の増殖や肥大は $1.0/m^3$ 群から対照群より有意に増強されているとしている。なお、この検討は病理学的変化を 6 段階に点数化し、ANOVA テストで群間の有意差検定する方法で行っている。

大気中の粒子状物質濃度と死亡率、罹患率とは相関するといわれている。DEP は、都市大気中粒子状物質の中に存在する。DEP と共存するものにオゾンがあり、オゾンは DEP のいくつかの成分と潜在的に反応する。いくつかの報告では、粒子とオゾンの混合曝露がラットの肺傷害を増加させるとしているが、この傷害の増進が汚染物質と他のメカニズムとの直接的な相互作用によるものか否かについては明確にされていない。Madden(2000)らは、オゾンが直接粒子の生物活性と反応するのか、あるいは影響を及ぼすのかを検証するために、cell-free *in vitro* システムで DEP にオゾンを曝露し、肺傷害のラットモデルに対する DEP の生物活性を調べた。DEP の標準試料(2975)に $0.1ppm$ のオゾンを 48 時間曝露し、SD ラットに気管内投与した。24 時間後に肺胞洗浄液を用いてラット肺の炎症と傷害を調べた。オゾン曝露した DEP は、オゾン曝露しない DEP に比べ好中球、総蛋白および LDH 活性を増加させた。オゾン曝露による DEP 活性の上昇は、空気による変質ではなくオゾン曝露期間中によるものである。高濃度オゾン($1ppm$)の DEP への曝露は、粒子の生物活性を低下させた。これに対し、DEP に比べ有機物成分の低いカーボンブラックでは、 $0.1 ppm$ のオゾン曝露後に調べた如何なる生物活性も増加させなかった。DEP とオゾンの共存は、直線関係にあった。これらのデータは、大気濃度レベルのオゾンが DEP の生物学的効果を増加せしめることを示唆する。オゾン曝露された DEP は、大気粒子による肺の反応誘発に寄与するであろう。

Yamashita ら(2001) は、DEP の投与により起きる気道の過敏やリモデリングに血小板由来増殖因子(PDGF)がどのような影響を及ぼしているかについて検討した。雄性の A/J マウスに抗-PDGF- β の存在あるいは非存在下で $0.25mg/ml$ の DEP 懸濁液を 1 日おきに 2 週間点鼻投与した。麻酔下アセチルコリンに対する反応性を検討した。抗-PDGF- β iDEP の点鼻投与により起きるアセチルコリンに対する反応性の増加および気道壁の肥厚を抑制することが見いだされたが、気道洗浄液中の細胞の浸潤には影響を与えなかった。このことから、DEP 投与により起きるリモデリングの過程に

PDGF は重要な役割をしていることが示唆される。

まとめ(非アレルギー性気道炎症)

アレルギーを投与せず、DEP の気管内投与あるいは DE 吸入のみの実験による気道での炎症反応に関する報告をまとめた。F-344 系ラットでは $3.5\text{mg}/\text{m}^3$ の DE 吸入で、好酸球浸潤を誘発する LTB₄ やプロスタグランジンの増加が起こり、B6C3F₁ 系マウスでは好酸球の浸潤が報告されている。一方、Wistar 系ラットでは $3.1\text{mg}/\text{m}^3$ の DE の 24 ヶ月間の吸入でも好酸球浸潤は認められていない。また、ICR 系マウスでは $3.0\text{mg}/\text{m}^3$ でも好酸球の浸潤や粘液産生細胞の増生などは全く認められておらず、ラットとマウスとも系統の違いによって影響は異なることが報告されている。

一方、DEP の気管内投与では、ICR 系マウスに毎週 1 回ずつ、1 匹当たり 0.1mg の DEP を 10 回以上繰り返し投与することで気道粘膜下への好酸球の浸潤や粘液産生細胞の増生、あるいは気道過敏性などが有意に増加したことが報告されている。これらの病態は活性酸素消去酵素や NOS 阻害剤等の投与で消失したことから、その病態の発現には O_2^- 、NO、ONOO⁻ 等の活性酸素種の関与が示唆されている。また、DEP 投与により起きるリモデリングの過程に血小板由来増殖因子が関与していることが示唆されている。

3.2.3.3.3. アレルギー性気道炎症

3.2.3.3.3.1. 喘息

アレルギー性喘息様病態には即時型あるいは遅発型アレルギー反応、気道過敏性の亢進(気道平滑筋の収縮)、抗原特異的抗体産生の亢進、好酸球の浸潤、杯細胞の増生などがある。ヒトにおいては非アレルギー性の喘息も知られている。ヒトの喘息様病態全てを再現できる動物モデルはない。実験動物を使い、DEP の気管内投与あるいは DE 曝露がアレルギー性喘息様病態に及ぼす影響に関する報告を表 3-18 にまとめた。

(1) DEP の気管内投与による研究:

Takano ら(1997) は ICR 系雄マウスに 0.1mg の DEP を懸濁溶液として 1 週間に 1 回ずつ 16 週間にわたって気管内投与し、さらにこの間 3 週間ごとに卵白アルブミン(OA) $1\mu\text{g}$ を気管内投与した実験を行っている。その結果、OA+DEP 群のマウスの気道粘膜下への好酸球浸潤は対照(vehicle)群の 330 倍、OA 単独投与群の 7 倍、DEP 単独投与群より 35 倍増加していた。気道上皮の粘液産生細胞(杯細胞)の増生も各々 42 倍、13 倍、3.3 倍に増加していた。リンパ球浸潤は好酸球浸潤と類似の変化であった。また、好酸球浸潤を誘導したり、好酸球を活性化するサイトカインである IL-5 は OA+DEP 群でのみ対照群の 8 倍に増加し、他の群では対照群と全く変りがなかった。IL-5 産生は Th2 リンパ球に由来することが免疫染色法で確かめられている。GM-CSF も OA+DEP 群で若干増加していた。一方、このとき IL-4 と IgE 値は全く変化していなかったが、IgG1 抗体価が 8 倍以上に増加していた。これらの結果から、顕著な好酸球浸潤を伴う気道炎症は Th2 リンパ球に由来する IL-5 や GM-CSF によって誘導され、さらには IgG1 が好酸球に作用したり結合して、好酸球を活性化する