

粒子状物質の健康影響に関する文献調査の概要について（毒性）

本まとめにおいては、毒性情報のうち、動物実験に関する知見を基に、(1) 肺及び呼吸器系への影響、(2) 心血管系への影響、(3) 免疫系、血液への影響、(4) その他（非発がん）の影響、(5) 発がん影響及び遺伝子障害性、(6) 粒子成分と健康影響の関係、(7) 粒径と健康影響の関係、の分野ごとに、影響メカニズムの解明に役立つ知見の整理を行った。

1) 呼吸器系への影響

(1) 吸入曝露に関するまとめ

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

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

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

亜硫酸誘導慢性気管支炎ラットへのCAPs曝露では、肺機能やBALF細胞及び生化学検査に炎症所見が認められたが、その程度は正常ラットと比較して差を認めないとする報告や相乗効果を認めたとする報告が混在していた。肺病理、細胞及び生化学的指標と曝露成分

との関連性については、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Siと相関を認めたとする報告が見られるのに対して、正常ラットで認められたV、Br、Pb、Cl、元素状炭素、有機炭素との関連性が、慢性気管支炎ラットでは低いという報告も見られた。細菌感染との関係については、CAPs吸入前の肺炎球菌投与やDE吸入後のリステリア菌や結核菌の気管内投与で、感染症の増悪への粒子の関与が認められていた。

アレルギー疾患モデルとしてのアレルゲン感作マウスやラットへのCAPs吸入曝露では、肺気流抵抗の上昇や気道炎症の増悪を認め、曝露成分のAl、Si、La、V、Sの間に関連性を示すと述べていた。アレルゲン感作マウスを用いたPMのアジュバント効果は、PMの採取地域や採取時期で差が認められ、coarse PM (粒径2.5 μm以上)よりもfine PM (粒径2.5 μm未満)でその効果は高く、不溶成分及び溶解性成分にも活性を認めた。アレルゲン感作マウスへのDEP、EHC-93吸入曝露でも、IgE生産や気道過敏性の亢進が認められていた。アレルギー性炎症モデルマウスにROFA溶出液をネブライザーによって投与すると、気道過敏性と炎症を認めた。

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

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

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

超微小粒子のカーボンブラックの影響については、若齢・老齢ラット、起炎物質(LPS)処置マウス、早老肺気腫マウスを用いた研究報告が見られた。疾患マウスや老齢ラットでは、O₃との複合曝露で肺炎の増悪が認められ、アレルギー性気道炎マウスではカーボン粒子がアジュバント効果を示すとされていた。金属粒子の影響では、正常ラットへの超微小粒子Cd、Ni、V、Feなどの曝露実験が見られるが、これらの金属粒子はいずれも肺傷害を引

き起こしており、単独よりもVとNi、Feとsootの複合曝露によりその影響はさらに増大していると報告されている。

一方、硫酸エアロゾルの影響については、モルモット、マウス、ラット、カニクイザル、ロバ、イヌで短期あるいは長期吸入実験の報告が示されている。低濃度短期曝露では、モルモットで肺気流抵抗の上昇や肺コンプライアンスの低下が認められるが、ロバやラットでは影響はほとんど認められず、ラットへの高濃度曝露において肺気流抵抗と呼吸数の増加が観察されていた。一方、低濃度長期曝露では、モルモット、イヌでは肺機能への明確な影響を認めず、カニクイザルへの長期高濃度曝露で呼吸数増加や肺換気分布の悪化が報告されている。また、ラットへの硫酸エアロゾルとO₃との複合曝露では、肺への急性効果が出ていない報告もある。硫酸塩に関して、硫酸亜鉛アンモニウム、硫酸アルミニウムエアロゾルの曝露実験では、モルモットおよびラットで肺気流抵抗の上昇が報告されているが、マウスへの硫酸アンモニア粒子、イヌへの亜硫酸水素ナトリウムまたは硫酸水素ナトリウム粒子の曝露では、肺への急性影響が出ていない報告もある。

(2) 気管内投与に関するまとめ

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

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

ROFAや燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響に関しては、ラットの気管内にROFAを投与した実験では、肺の炎症細胞浸潤や浮腫性・出血性変化とともに、心筋伝導障害(AV

ブロック)や深部体温の低下などの自律神経反応の障害が観察された。ROFA の含有金属成分について検討した成績では、肺の炎症細胞浸潤や炎症性遺伝子の誘導作用については Fe や V に比べて Ni の効果が大きいことが知られた。一方、ROFA による BAL 液中のタンパク、ヘモグロビン、LDH の増加作用は Ni や Fe 量と関連し、好中球数とマクロファージの増加は V 量、肺の傷害作用は Ni 量と関連するという成績も報告された。さらに ROFA の気管内投与により肺のアセトアルデヒド量が増加し、ERK1/2、p38-MAPK、JNK のリン酸化が生じることも見出された。また ROFA の気管内投与により BAL 液中のトランスフェリン、フェリチン、ラクトフェリンが増加したが、トランスフェリン欠乏マウスでは肺の炎症性変化が軽減されていた。さらに BAL 液中の PGE2 も増加したが、COX2 阻害薬を投与しても ROFA による肺の炎症は抑制されなかった。また TLR4 欠損マウスと野生型マウスにおいても ROFA による肺の炎症の程度に差は見出されなかった。一方、ROFA を投与された SHR では対照ラット(WKY)と同程度以上の肺の炎症や血液粘度の亢進が生じること、さらに ROFA を投与されたモノクローリン誘導肺高血圧ラットでは死亡率が増加することが報告された。アレルギー性炎症に対する ROFA の影響については、ROFA、Ni、V、Ni+Fe+V の気管内投与により抗原特異的 IgE の産生や IL-5 遺伝子発現が増強し、Ni 投与により気道過敏性が亢進し、好酸球浸潤は ROFA と Fe により増悪した。EPM の影響に関し、ラットの気管内に EPM を投与した実験では、BAL 液中のタンパク濃度や炎症細胞数が増加したが、その機序として含有 Zn 成分の重要性が示された。CFA の影響に関し、マウスの気管内に CFA を気管内投与した実験では、より微小なサイズの粒子の毒性が強く、含有 S 成分や微量元素と毒性の間に関連性が示された。

DEP やガソリン排気による影響に関しては、次のような報告がある。

① 一般毒性

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

マウスやラットの気管内に DEP を投与すると cytochrome P450 1A1 の発現が増加し、GST およびカタラーゼ活性が減少することが明らかにされていた。

② 気道炎症への影響

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

た。

③ 非アレルギー性気道炎症への影響

マウスの気管内に DEP を反復投与すると気道壁の好酸球浸潤や粘液細胞の増生、気道過敏性の亢進がみられた。これらの病態形成には O_2 、NO、ONOO \cdot の関与が示唆された。また、DEP 投与によるリモデリングには血小板由来増殖因子の関与も示唆された。

今回レビューした報告では、NC/Nga マウスに対する DEP の気管内投与後に生じた気道の炎症細胞浸潤と IL-4、KC、MIP-1 の産生についての成績が公表されていた。

④ アレルギー性気道炎症(喘息)への影響

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

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

⑤ アレルギー性気道炎症(アレルギー性鼻炎)への影響

DEP と DE のアレルギー性気道炎症への影響については、DEP はヒスタミンレセプターを増加させるとともに、ヒスタミンによる IL-8 と GM-CSF 産生を増加させることが観察されている。DEP に曝露したモルモットに抗原を点鼻投与するとアレルギー性鼻炎の病態が悪化することが観察された。

⑥ 気道・肺組織への影響

DEP と DE の気道・肺組織への影響については、DE 曝露の呼吸器組織への非発がん影響として、肺胞マクロファージ集合体の増加、組織炎症、好中球の増加、細気管支および肺胞細胞の過形成、肺胞中隔の肥厚、浮腫、線維化、気腫病変、肺胞孔の増大などが観察された。

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

⑦ 感染モデルへの影響

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

酸性物質・炭素などによる影響については、マウスの気管内に超微小 CB 粒子(径 14 nm)を投与した実験では、BAL 液中のマクロファージ、リンパ球、好中球および炎症性ケモカイン・サイトカインの増加、縦隔リンパ節における粒子貪食細胞の増加が見出された。径 95 nm CB 粒子の気管内投与ではこれらの変化は軽度であった。Respiratory Syncytial Virus を接種したマウスに超微 CB 粒子を気管内投与した実験では、気道・肺の炎症の増悪、

気道過敏性の亢進、RANTES、MIP-1 α 、MCP-1発現の増加がみられた。この成績から超微小粒子の曝露がウイルス感染による肺の炎症や組織傷害を増悪させる可能性が示された。

金属成分による影響について、ラット気管内に酸化イットリウム(Y₂O₃)、酸化ランタン(La₂O₃)、酸化ネオジム(Nd₂O₃)、酸化セリウム(CeO₂)、CeO₂などの金属微粒子を投与した実験が行われた。急性影響に関する実験においては、CeO₂投与群以外の動物でBAL液中のマクロファージ、好中球、LDHが増加した。慢性影響に関する実験の動物ではY₂O₃群において高度の肺の線維化がみられた。ラットにFe、Ni、Vの微粒子を気管内投与した実験では、不整脈や深部体温の低下などの自律神経障害が生じることが確認された。

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

以上のように、CAPs、ROFAなど各種粒子状物質及びその成分の短期、長期吸入曝露は、実験的に正常動物及び呼吸器疾患モデル動物で、肺の炎症など種々の影響が報告されている。特に、気管支炎モデル、喘息モデル、感染症モデル、肺高血圧モデルやO₃等、他の汚染物質の影響を増幅しうることは注目に値する。ただし、一般環境中の濃度に比較して、高濃度の曝露濃度を適用した研究が多いこと、成分や濃度に関して同一条件で行った研究ではないことに関し留意する必要がある。また、動物を用いたCAPs、都市大気微粒子、ROFA、EPM(石油燃焼由来粒子)、CFA(石炭燃焼由来粒子)、DEP、カーボンおよび金属微粒子の気管内投与実験により、気道や肺の炎症細胞浸潤と透過性亢進、炎症性ケモカイン・サイトカインの誘導、酸化ストレスの増大、細胞内シグナル物質の活性化、気道過敏性亢進等もたらされうると報告されている。さらにこれら微粒子の投与により喘息や感染症の動物モデルの病態が悪化することも報告されている。

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

2) 循環器系への影響

(1) 吸入曝露に関するまとめ

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

虚血性心疾患モデル犬では、CAPs曝露により、正常犬に比べて心拍変動解析のHF成分の上昇がより顕著であり、ST上昇もより早期に出現した。この心電図ST上昇は、清浄空気