

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

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

(2) 気管内投与に関するまとめ

正常ラットおよび各種の循環器疾患モデル動物を用いて、CAPs、ROFAの気管内投与実験が行われている。循環器疾患モデル動物としては、心筋梗塞モデルラット、SHR、遺伝性高脂血症ウサギ(WHHLラビット)、肺高血圧症ラットが用いられている。

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

致死率は上昇した報告もある。なお、正常ラットへの CAPs 気管内投与によって心臓の酸化物の増加、心拍数の増加が生じるといった報告もある。

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

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

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

3) 免疫系、血液への影響

(1) 吸入曝露に関するまとめ

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

CAPs や都市大気の粒子状物質の影響に関して、感染モデルでは PM_{2.5} 曝露は感染ラット肺からの菌排出を遅らせ、Fe や Ni 粒子曝露でもクリアランス機能低下がみられた。アレルギー性炎症モデルに関しては、マウスに沿道で集めた CAPs を曝露したところ、アレルギー反応への影響(IL-5、IgE、好酸球)は道路からの距離に近いほど強いことが示唆された。ヨーロッパ各都市で採集した PM のアレルギー反応におけるアジュバント効果を調べた検討では、fine PMの方が coarse PMより増強効果が高いこと、PMを採集した季節ごとに効果が異なること、水溶性および不溶性の成分のいずれも効果を有することが示唆されていた。また、アレルギー感作状態のマウスにロサンゼルス(CA)の CAPs を曝露したところ、曝露群では炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 α)および転写因子(NF- κ B)の有意な増加が認められた。

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

また、新生児マウスに ROFA-アレルギーを曝露すると、メタコリンに対する気道反応性

の亢進がみられ、抗原特異的な IgE と IgG 産生も増強した。

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

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

(2) 気管内投与に関するまとめ

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

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

ROFA・燃焼に伴って発生する粒子状物質の影響に関しては、ラットへ ROFA を気管内投与すると、BALF 中の多核白血球数とアルブミン・LDH 濃度の上昇、肺胞マクロファージの活性酸素産生の増加が認められた。また、ROFA 投与群では細静脈内皮での白血球の接着およびローリングが顕著に認められ、微小血管機能の阻害が引き起こされている可能性が示唆されていた。

DEP やガソリン排気による影響に関しては、マウスに DEP を気管内投与すると、T 細胞とマクロファージを介した免疫抑制反応が示唆されていた。ラットに DEP を気管内投与すると、好中球の誘導が観察され、BALF 由来好中球の TPA 刺激下の活性酸素産生量はまず増加し、その後低下した。アレルギー性炎症モデルとしては、マウスにアレルゲンと

ともに DEP を気管内投与し、縦隔リンパ節細胞での細胞増殖の亢進と IL-4 の産生上昇が観察された。

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

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

4) その他(非発がん)の影響

(1) 生殖器への影響

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

ラットに DE を曝露すると、肝および前立腺の aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) 活性に増加がみられた。DE をマウスに曝露したが、精子の頭部異常、次世代への影響、全体の繁殖能力と生存率にも著しい変化はなかったが、唯一、卵巣黄体数の顕著な減少を認めたと報告もある。一方、DEP をマウスの腹腔内に注射すると、第 1 代 F₁ マウスで精子数の減少と睾丸重量の減少、精子奇形等を認め、成長期のラットに総 DE 排気ガス、除粒子 DE 排気ガスを曝露すると、血清中の男性ホルモン(テストステロン)と女性ホルモン(エストラジオール)濃度は曝露により増加し、卵巣刺激ホルモン(FSH)濃度は逆に低下したと報告されている。また、DE をマウスに曝露すると、ライディッヒ細胞の形態異常が観察され、黄体形成ホルモン(LH)受容体の mRNA の発現量も濃度に依存して低下した。さらに、妊娠ラットを DE、除粒子 DE および清浄空気に曝露すると、性器-肛門間距離は DE および除粒子 DE 群で長かったという報告もある。

以上のように、実験的には、DE やその成分による生殖機能への種々の影響を示唆する報

告がなされている。

(2) 神経・行動への影響

ラット、マウス、サルに CAPs、ガソリン自動車排ガス、metal-arc stainless steel 溶接蒸気などを曝露し、その行動や神経系への影響をみる研究が行われている。

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

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

5) 発がん影響及び遺伝子障害性

(1) 吸入曝露に関するまとめ

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

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

もう一つでは、製鋼所と高速道路に近い場所と郊外の 2 カ所でマウスへの 9 週間の吸入曝露を実施し、交配させた仔について ESTR loci の変異を検出したところ、都市工業地域での粒子状成分曝露が遺伝的な変異と強く関連し、大气浮遊粒子によりマウスの DNA 変異が起こることが示された。

DEP やガソリン排気による影響に関し、ディーゼル排気(DE)の実験動物への長期曝露による発がん影響に関して、経気道的な曝露を想定した多くの検討が実施され、ラットでは DE の吸入によって明らかな肺腫瘍の増加が観察されている。しかし、他のマウス、ハムスター等では肺腫瘍との関連を示唆する一致した知見がない。この種差については、過剰曝露

(Overload exposure)に対するラットに特異的な反応であろうとする見解がある。また、DE 吸入曝露ラットでの DNA の酸化的損傷や付加体形成などの観察結果が総括されており、炭粉など吸入粒子自体が DNA 傷害性を持つこと、DEP に付着した PAH や nitroPAH などの変異原成分が付加体を介して遺伝子障害性を示すことが証明されている。

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

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

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

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

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

バイオディーゼル排気についての曝露例は一例だけであるが、ラットへの 0.04~0.5 mg/m³、14 週間曝露で骨髄小核および末梢リンパ球 SCE の有意な変化は認められなかった。

(2) 気管内投与に関するまとめ

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

DEP やガソリン排気による影響に関し、DEP については数多くの検討例があった。肺腫