

瘍誘発における肺粒子負荷の重要性は、ラットの経気道肺内投与によっても立証されていた。PAHs を含まない CB は、肺内投与後に肺腫瘍を誘発しており、このことから CB と、生体内における吸着有機化合物を溶出した後の DEP の極めて広い表面積が、腫瘍発生のメカニズムに関わっていると考えられた。ラットにおける腫瘍誘発は、PAH 含有量に関係なく、粒子質量、粒子容積、粒子数などよりも、肺内に滞留した粒子の表面積に最も高い関連性を示した。

低イオウ軽油を燃料とした DEP と通常軽油による DEP をラットに投与して検討した報告では、低イオウ軽油群での肺腫瘍発生率が通常軽油に比べて高くなったが、低イオウ軽油の DEP は粒径が小さいために肺内への貯留粒子量も多いことが影響していると考えられている。

また、ハムスターに DEP 抽出タールを投与して観察した結果では、マウスにおいては皮膚腫瘍イニシエーターとなる DEP 抽出タールが、ハムスターの経気道投与においては、肺腫瘍の発生率に有意な影響がみられなかった。

DEP の気管内投与でも DE 曝露と同様に、肺組織 8-OH-dG の増加を認めているが、8-OH-dG の修復酵素であるオキソグアニングリコシレース(OGG1)の変化を調べたところ、投与後、徐々に活性が低下することから、DEP による 8-OH-dG の変化には、活性酸素種の生成だけでなく、修復酵素の低下が関わっていることを示唆した。

(3) その他の曝露経路

DEP やガソリン排気による影響に関し、マウス等を用いた DEP 抽出成分の皮膚塗布による腫瘍発生の観察結果では、ほとんどの検討例で DEP 抽出物の発がん性を示唆する結果を得ている。DEP、ガソリンエンジン排気、石炭オープン、屋根用タールについて皮膚腫瘍発生に対する影響の差を比較した結果では、石炭オープンと屋根用タールは腫瘍プロモーター、イニシエーター、完全発がん物質としての作用を、DEP は腫瘍イニシエーターとしての作用を示し、皮膚乳頭腫発生に対する作用は、石炭オープン DEP(A 社製)>屋根用タール>DEP(C 社製)=ガソリンエンジン排気(F 社製)の順であった。また、タバコ煙濃縮物(CSC)と比較した結果では、DEP 抽出タール(DET)は、PAH 低感受性の C57Bl マウスで、CSC で低濃度から用量依存的に腫瘍発生を認めたのに対して、DET では最高用量でのみ有意な腫瘍発生となった。

以上のように、DEP やそれ以外の粒子についても、実験的には、ラットで肺腫瘍の増加を認める知見もあり、発がん性を示唆するものがある。遺伝子障害性の検討結果は、DEP、CAPs などいずれも DNA 付加体生成や遺伝子の変異につながる DNA 変異を観察しており、粒子を構成する成分との詳細な検討がないものの、発がん機構を説明できる所見が報告されている。しかし、これらの成果には、実験動物の種差が大きいこと、高濃度曝露であることなどから、ヒトへの外挿にあたっては十分に留意する必要がある。

6) 粒子成分と健康影響の関係

(1) 吸入曝露に関するまとめ

正常イス、正常ラット、正常マウス、冠動脈閉塞モデル(イス)、慢性気管支炎ラット、アレルギー性喘息モデルマウスなどを用いて、微小粒子状物質を吸入曝露し、粒子成分による影響を比較した研究が行われている。粒子成分としては、CAPs、carbon black particle(CBP)、CAPs に含まれる金属成分、元素状炭素や有機炭素、硫酸塩、Si、TiO₂、DEP、PAH などの DEP 抽出物などが検討されている。

CAPs を正常イスに曝露した報告では、BALF 中の好中球の割合、末梢血の総白血球数、好中球、リンパ球の増加が Al や Si の増加と関連し、血中の好中球と肺胞洗浄のマクロファージの増加は V や Ni と関連していた。肺胞洗浄液の好中球の増加は、Br/Pb と CAPs 曝露の一部データ のみで関連性がみられた。赤血球数やヘモグロビンレベルは S(イオウ)濃度との間に負の相関がみられた。ラットに CAPs を曝露すると、thiobarbituric 反応物質と CAPs 中の Al、Si、Fe 濃度との間に相関がみられた。また、ラットに CAPs を吸入曝露した他の研究では、肺と心臓の化学発光量(酸化ストレスの指標)が上昇し、肺の化学発光量は CAPs 中の Ca、Mn、Cu、Fe、Zn 濃度と、心臓の化学発光量は Si、Al、Ti、Fe 濃度と相関がみられた。

オタワ標準粉じん EHC-93 とそれを水ろ過した EHC-93L、Diesel soot(DS)、CBP をラットに吸入(鼻部)曝露すると、EHC-93 曝露後、血圧、Endothelin(ET)-1、ET-3 が上昇した。EHC-93L では血圧に明確な影響はなかったが、ET-1 及び ET-2 では増加した。DS 曝露では ET-3 が増加したが血圧への影響はなかった。CBP 曝露ではいずれの指標に関しても明確な影響は見られず、都市大気や自動車に由来する粒子成分の強い影響が示唆されていた。

犬の冠動脈閉塞(虚血性心疾患)モデルを用いた検討では、冠動脈閉塞による V4、V5 誘導における ST 上昇は、粒子濃度には相関はなく、Si もしくは Pb の濃度との間に相関を認めた。多変量解析では、ST 上昇と Si 濃度との間のみ相関を認めた。

正常ラットと SO₂ による慢性気管支炎ラットに CAPs を吸入曝露すると、BALF 中の好中球が増加し、V、Br、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関したが、塩素濃度とは相関しなかった。この結果は慢性気管支炎動物において顕著であった。BALF 中のタンパク濃度も、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si 濃度と相関した。全体においては V および Br と組織所見、正常ラットにおいて Pb、Cl、元素状炭素、有機炭素と組織所見の間に相関を認めた。正常ラットにおいては V 濃度と組織所見の間に量反応関係が認められた。一方、慢性気管支炎ラットに CAPs を吸入曝露したところ、肺胞洗浄液中タンパク質、アルブミン、NAG 活性、好中球数が増加したが、CAPs 濃度、硫酸塩または基本的構成要素(S、Zn、Mn、および Fe)には関連が見られなかったという報告もある。Al や Cu と生体影響との影響が示唆されていた。また、慢性気管支炎ラットおよび正常ラットの

小肺動脈の形態変化を検討した報告では、全てのラットの解析で、粒子の質量、Si、Pb、 H_2SO_4 、元素状炭素、有機炭素が多いほど、管腔/壁の割合(L/W比)が減少した。単変量解析では、 H_2SO_4 との関連は正常ラットにのみ有意であり、Siは慢性気管支炎、正常ラット共に有意に関連していた。多変量解析では、Siとの関連が有意であった。

アレルギー性喘息モデルマウスへCAPsと O_3 を曝露した検討では、CAPs単独曝露によりメタコリン応答性Penhの濃度依存的な上昇が見られ、Al、Si含有率とPenhの上昇の間に相関が認められた。

DEPやガソリン排気成分の影響については、DEPの成分として、固形成分の炭粉と有機溶媒可溶成分の各々について検討されている。炭粉または有機溶媒で洗浄したDEPの吸入または経気道投与によってラットに肺腫瘍の発生が確認されているが、DEまたはDEP曝露による肺腫瘍発生率との差はなく、生物学的には不活性である TiO_2 粒子曝露によっても同様の肺腫瘍発生状況であった。さらに、DNA付加体等の発がんに関わるDNA損傷に関する検討では、DEPまたは不活性粒子(炭粉、 TiO_2)をマウス、ラットへ曝露することによって、肺組織のDNAに酸化的損傷の指標である8-OH-dGが増加することが報告されていることなどから、粉じんの過剰曝露(overload exposure)によるラットに特異的な反応であるとの指摘もある。

一方、有機溶媒可溶成分は、マウスへの皮膚塗布などにより発がん性が認められ、また、DEあるいはDEP曝露によって、PAHやニトロPAHと肺組織DNAが結合したDNA付加体の形成も認められており、含まれるPAHとニトロPAHが肺発がんの原因として重視すべきであるとされている。DEP成分には代謝活性化を必要としない直接変異原物質が多く含まれ、DEP直接変異原性はより強い変異原活性を有している。細菌や哺乳類の培養細胞の研究から、DEPの直接変異原物質の大部分は強変異原性を示す物質を多く含むPAHsや多環芳香族ケトン等のニトロ誘導体であることは明らかである。

DEPによるアジュバント効果はそれを構成するカーボンのみでも、PAH類のみでもみられている。また、DEP抽出物が試験管の中で非常に微量でヒトの精子の運動能力を低下させることが報告されている。

(2) 気管内投与に関するまとめ

正常ラット、正常マウス、アレルギー性喘息モデルマウスなどを用いて、粒子成分による影響の差異を比較する研究が行われている。粒子成分としては、TSP、ROFA、DEPや、それら微小粒子状物質に含まれている金属成分、硫酸塩、エンドトキシンなどに着目されている。

ラットの気管内にTSP抽出物を投与すると、BALF中のタンパクやLDHは増加した。金属類除去TSP抽出物ではこの変化は減弱し、金属類除去TSP抽出物に金属類を加えると増悪効果は復活した。また、アレルギー性炎症モデルとしては、マウスにアレルギー体質の子供がより多い都市由来の $PM_{2.5}$ を気管内投与すると、少ない都市由来のそれに比較し、

気道反応性と肺の炎症所見がより強く観察され、Zn、Mg、Pb、Cu、Cd など金属含量に違いがアレルギー反応の違いに関与していることが想定されていた。一方、都市部工業地帯と郊外より採集した PM(coarse, fine)をラットの気管内に投与したところ、fine より coarse のサイズの PM が肺に強く炎症を誘導し、メカニズムとして、金属成分ではなく、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)の関与を示唆する報告もある。

ROFA など燃焼に伴って発生する粒子状物質成分の影響に関しては、2 種類の ROFA の上清をラットに気管内投与した試験の結果から、ROFA 中の可溶性金属の組成の違いが肺の傷害や気道の過敏の進行に影響を与えることが想定されている。火力発電所の異なる部位から採集された ROFA をラットの気管内に投与した検討では、BALF 中のタンパク、ヘモグロビン、LDH 量は Ni や Fe の含量と関連し、好中球数とマクロファージの活性化(活性酸素の産生)は V 含量の高い ROFA で観察され、ROFA による肺の炎症作用、マクロファージの活性化と V の関連と ROFA による傷害作用と Ni の関連が示唆されている。ROFA または ROFA に含有される金属(Fe、V、Ni)をラットの気管内に投与すると、気道・肺野領域の浮腫および出血性変化、炎症細胞(好酸球、好中球、マクロファージ)の浸潤が出現し、金属に関しては、Fe や V に比べて Ni による肺の炎症や傷害が高度であった。金属を混合した場合にはむしろ炎症・傷害の誘導作用は減弱したという。ROFA 投与後、MIP-2、IL-1β、IL-5、IL-6、VCAM-1、E-selectin の遺伝子発現が増加し、特に Ni の影響が長期間にわたってみられ、ROFA に含有される金属による肺の炎症作用は Ni>V>Fe の順に大きいことが示唆されている。

アレルギー性炎症モデルとしては、アレルギー特異的 IgE 産生が、ROFA、Ni、V、金属混合の気管内投与により増悪した。気道反応性は Ni により増悪し、好酸球浸潤は ROFA と Fe により増悪した。肺における IL-5 は ROFA、Ni、V で増加が認められた。

ラットに EPM 全体と EPM 水溶性成分の成分、ZnSO₄ 水溶液の気管内投与をした検討では、BALF 中へのタンパク漏出や炎症細胞(好中球)浸潤が誘導され、水溶性 Zn 成分の重要性が示唆されていた。

DEP あるいは CB を感染モデル動物へ気管内投与した検討では、リステリア菌のクリアランスが CB 投与では影響がみられなかったが、DEP 投与では、クリアランスに遅延がみられた。DEP と CB の反応性の違いは有機成分の違いにあり、DEP はマクロファージの異物に対する反応性を減弱させ、呼吸器感染症のリスクを増加させる可能性があることが示唆されていた。

以上、粒子(粒子量)、また、その成分として元素炭素、有機炭素、H₂SO₄、Br、Cl、NH₃、ピレン、金属(Al、V、Ni、Fe、Si、Pb、Ca、Mn、Cu、Zn、Mg、Ti、La、Cd、In、Co 等)、あるいは、エンドトキシンの重要性を示唆する論文や、都市、工業地域、交通に由来する汚染物質の強影響性、O₃、NO₂、SO₂ 等の他の大気汚染物質と粒子成分の相加、相乗影響の存在を示唆する論文もある。しかし、結果は必ずしも一様ではない。

7) 粒径と健康影響との関係

(1) 吸入曝露に関するまとめ

大気中粒子状物質の吸入曝露による影響に関しては、OVA 感作したマウスを用い自動車排気粒子を含む濃縮 fine (<2.5 μ m) 及び濃縮 ultrafine (<0.15 μ m) PM に曝露し、アレルギー反応への影響を検討した結果からは、曝露群でのアレルギー反応指標の増加および道路からの距離が近いほど強い影響が認められ、自動車排気粒子は気道アレルギー反応を引き起こすことが示唆された。道路からの距離が近いほど超微小粒子を多く含むことからより粒径の小さい粒子の方がアレルギー反応を増悪する作用が強いことが示唆された。

(2) 気管内投与に関するまとめ

① 化学組成はおなじだが粒径が異なる粒子

超微小 CB 粒子の気管内投与による反復投与は、粒子サイズに依存した肺の炎症、縦隔リンパ節への粒子の移動、肺及びリンパ節での各種サイトカイン mRNA 発現の増加を引き起こし、その結果、より微小な粒子ほど縦隔リンパ節への移動を介して免疫調節機構に影響を与えている可能性があることや、超微小 CB 粒子の気管内投与は、CB 粒子では認められない強い炎症を誘導することが示唆された。

② 粒径により化学組成が異なると考えられる粒子

ROFA の気管内投与による影響に関しては、マウスに石炭燃焼粒子を気管内投与したところ、毒性はより小さいサイズの粒子の方が大きいとの結果が示されていたが、用いた石炭の産地により、成分が異なる可能性が有ることに留意する必要があると、毒性に S 成分と微量元素成分の違いも関連することが示唆された。

大気中粒子状物質による気管内投与の影響に関しては、都市部工業地帯と郊外より採集した CAPs(coarse, fine)をラットの気管内に投与したところ、fine より coarse のサイズの PM が肺に強く炎症を誘導し、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。また、アレルギー感作マウスモデルを用い、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検討した結果では、CAPs の効果は、ウッチ(Lodz)、ローマ、オスロ、アムステルダム順にアジュバント効果が高く、fine PM の方が coarse PM より増強効果が高いこと、PM を採取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た。このヨーロッパ 4 都市で採取した PM の生体影響の解析を化学成分などにより分類し、検討した結果からは、PM は多方面の生物学的反応と関連し PM の健康影響には多くの機構が関与している可能性があること、fine PM に多くみられる燃焼由来の PM は気道のアレルギーと、また、coarse PM に多く見られる地殻に含まれる成分を含む PM は肺の炎症や毒性と関係している可能性が示唆された。

以上のことから、より微小な粒子がより強い生体影響を發揮しうることを示唆する報告

が複数みられた。しかし、逆に、粗大な粒子の影響が強いという報告も存在した。特に、現実の大気中粒子に関しては、その粒径が異なる場合には、化学的組成や生物学的組成が同時に異なることもありうるため、粒径と共にその組成が生体影響および影響機構に寄与している可能性があることを考慮する必要がある。