

1,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で、6時間/日の条件で7日間連続曝露し、心血管系への影響を検討した。明期の心拍数は、対照群では実験開始前から低い値を示していたが、曝露群では曝露中に有意に高値を示した。ラット(雌)の対照群の明期の心拍数は平均265 \pm 5bpmで、曝露群のそれは290 \pm 7bpmであった。ラット(雌)で観察されたこの群間差は、曝露期間中の夜間(22:00~02:00)まで観察されたが、曝露前及び曝露終了後の期間では観察されなかった。房室結節の感受性の指標であるPQ間隔は、曝露濃度に依存して有意な延長を認めた。PQ間隔の延長を伴う心拍数の増加は、心室性不整脈の存在を示している。心病理所見では、幾つかの心標本で散在する筋細胞の変質病巣と組織球性炎症を認めたが、対照群と高濃度群で比較した場合には類似した軽度な所見であった。光顕的には、心病変内や肺外に粒子は認めなかった。以上の結果は、これまで報告されている実際の大気中濃度の曝露が、ラットの心拍調節機能に影響を与える可能性を示している。

Harderら(2005)は、循環器系への影響を検討するため、急性実験を行った。ラットに対して、粒径の中央値が37.6 \pm 0.7nmの超微小カーボン粒子(UCP)を吸入曝露した。曝露濃度は180 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、曝露時間は、2時間と24時間であった。UCP曝露により心拍数が増加したが、回復期における心拍数は対照群とUCP処置群で差は認められなかった。UCPの吸入により、BALF中の多核白血球(PMN)数に増加が認められ、肺に軽度の炎症が認められた。以上のことから、本研究ではUCPは心臓機能に悪影響を与えることを示し、さらに心臓機能への影響には自律神経系活動が関与している可能性が考えられたと述べている。

Tankersleyら(2004)は、カーボン粒子の心臓影響を高年齢マウスで調べるため、急性実験を行った。マウスにテレメトリー送信機を装着し、CBを吸入曝露した。CB(Regal660;density1.95g/cm³ surface area 112m²/g)の曝露濃度は160 \pm 22 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、曝露時間を3時間/日とし、3日間の反復曝露を行った。①健康な高年齢マウスに比べ、終末期高年齢マウスは体重、体温が低下した。②健康な高年齢マウスの心拍数、心拍変動はFA(ろ過空気)、CB曝露最終時間の心電図を見ると、FA、CBの吸入で減少したが、終末期にある高年齢マウスには一定の傾向が認められなかった。③FA、CB曝露中の心拍数変化を見ると、健康な高年齢マウスはFAの吸入で心拍数が減少し、4日目のCB吸入でさらに心拍数は減少した。一方、終末期にある高年齢マウスは、健康なマウスに比較してFA吸入時でも心拍数の低下の程度が大きかった。CB吸入時の心拍数低下では生命の危機的な減少が認められた。④終末期の高年齢マウスは、健康な高年齢マウスよりも副交感神経活動のインプットが大きいことを示した。⑤健康な高年齢マウスは、RMSSD(RR間隔の分散)と心拍数の関係性がFA、CB曝露ともに強かったが、終末期の高年齢マウスには関係性が認められなかった。⑥健康な高年齢マウスは、PM曝露中の交感神経活動が増加したが、終末期の高年齢マウスは心拍数を調整する副交感神経活動の増加が見られた。これらの結果から、PMによって引き起こされる

心拍数の調節変化が究極的に生理的な加齢の影響を受けている可能性が示唆された。

3) その他の非がん影響

Campbell ら(2005)は、アレルギー感作(肺、OVA)の状態のマウスにロサンゼルス交通量の多い場所でのCAPsを曝露した。曝露濃度を20倍濃縮とし、 $0.18\mu\text{m}$ 以下の粒子を $282.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、 $2.5\mu\text{m}$ 以下の粒子を $441.7\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、4時間/日、5日/週、2週間曝露した。その後、OVA再曝露により肺での炎症を惹起させ、その時の脳における炎症性サイトカインおよび転写因子の増減を測定した。その結果、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、微粒子成分が脳内での神経変性を誘導すると報告している。

Veronesi ら(2005)は、Apo E (アポリポプロテイン E)は脳内で脂質のトランスポート分子として神経の栄養や防御機能に関わっており、Apo E^{-/-}マウスへのニューヨークのCAPs曝露が脳に神経病理学的障害を生じさせると報告している。曝露濃度はニューヨークの風上、西北西およそ50kmに位置するニューヨーク州タキシード(Tuxedo)における濃度の10倍であった。曝露中の平均PM_{2.5}濃度は $110\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、長期の濃度平均は $19.7\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。曝露条件は、6時間/日、5日/週であった。この遺伝子組み換えマウスは脳での高いレベルの酸化ストレスによって特徴付けられた。脳の冠状切片のドーパミンニューロンを免疫細胞化学的染色した結果では、黒質緻密核からのニューロンが曝露されたApo E^{-/-}マウスでApo E^{+/+}対照群に比較して有意に29%減少した。さらに、免疫細胞化学的に染色された星状細胞は統計的に有意に増加した。黒質緻密核のドーパミン作動性ニューロンはパーキンソン病で特異的な病変を示す場所である。この研究では、粒子状物質によって影響される系を脳まで拡大して検討し、酸化ストレス感受性の高い人における神経変性の誘導に環境が役割を果たしている可能性が示唆されたと報告している。

Finch ら(2002)は、F344ラットに13週間DE曝露をおこなった。曝露濃度を低濃度($0.04\pm 0.03\text{ mg}/\text{m}^3$)、中濃度($0.2\pm 0.1\text{ mg}/\text{m}^3$)、高濃度($0.5\pm 0.1\text{ mg}/\text{m}^3$)とし、6時間/日、5日/週の条件で曝露した。用量依存性に肺マクロファージ数の増加がみられたが、曝露終了4週間後には回復した。中濃度および低濃度で観察された唯一の所見は、粒子食マクロファージの増加であった。骨髄小核、末梢リンパ球SCE、催奇形性などには有意な変化はみられなかった。ラット(雌)の高濃度曝露群には、軽度の病理組織学的変化(末梢気管支の化生性変化)を認めたが、雄や低濃度群では曝露に関連する変化はほとんどなかった。

Yokota ら(2004)は、モルモットにDEおよび除じん排ガスを $0.2\text{mg}\sim 3.0\text{mg}$ の曝露濃度で、16時間/日、6日/1週間の条件で、6、12、18、24ヶ月間の吸入曝露を行い、BALF中炎症細胞数、各種生化学指標の解析を行った。その結果、BALF中の好酸球数は曝露12ヶ

月後から増加し、濃度依存性が 12 ヶ月、24 ヶ月曝露で認められた。また、除じん群では好酸球数の変動は認められなかった。BALF 中の LDH 量の結果も同様であった。粘液の成分であるフコース濃度、シアル酸濃度も中濃度・高濃度曝露群で有意に高く、除じん群は対照群と同程度であり、中濃度曝露群と比較して有意な低下が認められた。肺胞 II 型細胞が産生するリン脂質濃度も同様な傾向であった。気管支収縮作用を有する LTC₄ の血中濃度は DE 高濃度 18 ヶ月および 24 ヶ月曝露により有意な上昇が、また 24 ヶ月曝露では中濃度、除じん群においても有意な上昇が認められた。一方 BALF 中の LTC₄ 濃度は 24 ヶ月曝露の中・高濃度曝露群にて上昇が認められた。本研究結果から、モルモットに対する DE の吸入により、粘液構成成分やリン脂質濃度、さらに LTC₄ 濃度が上昇することが明らかにされ、一部は COPD の症状に一致することが示唆された。

Harrod ら(2005)は、DE を 30~1,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の曝露濃度で、6 時間/日の条件で、1 週間あるいは 6 ヶ月間マウスに吸入曝露し、肺の微生物感染に対するクリアランスと肺の病理組織像を解析した。1 週間の DE の吸入により、緑膿菌のクリアランスは低下し、その低下は低濃度領域(30~100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)では濃度依存的であった。1,000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の DE 濃度におけるクリアランスは 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と同程度であった。また、6 ヶ月間 DE 吸入を行い、同様の解析をしたところ、肺のクリアランスの低下は認められなかった。1 週間の DE 吸入曝露マウスの肺病理像を解析したところ、緑膿菌感染により炎症像が認められ、炎症症状は 30~100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の DE 濃度領域で濃度依存的な悪化が認められた。DE の免疫系への影響を微生物感染防御の視点から解析し、短期曝露後による免疫能の低下を微生物のクリアランス能が落ちていることから証明した。

Penney ら(1981)は、ラットとモルモットの 1 ヶ月齢のものを用いて、心臓、血液への DE 曝露の影響について検討した。DE 曝露は、250、750、1,500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で、20 時間/日、5.5 日/週の条件で、ラットは 13、16.7、25.7、42、52、78 週間、モルモットは 6、13、17、26、42、52、78 週間行った。平均粒径は、0.19 \pm 0.03 μm であった。各実験に供した動物数は、バラツキがあり 2~13 匹を用いた。その結果、ラットとモルモットとともに、清浄空気群に比べすべての曝露で心臓の湿重量、右心室、左心室、あるいは体重換算重量でも有意な差はみられず、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、血球数などの血液指標においても影響は認められなかった。

Somers ら(2004)らは、オンタリオ州(カナダ)の製鋼所と高速道路に近い場所(ハミルトンハーバー(Hamilton Harbour))と 30km 離れた郊外の 2 カ所でマウス(系統不明)への 9 週間の吸入曝露(全浮遊微粒子濃度 16.2~115.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を実施し、交配させた仔について ESTR loci の変異を検出した。また、それぞれの箇所で HEPA フィルターによる除じん曝露、雄マウスのみ曝露して交配した仔での同様の観察も行った結果、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、母系よりも父系の影響であることが示された。大気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。

Dorman ら(2004)は、CD(SD)BR ラット(雄、6 週齢、各群 8 匹)に対し、Mn 粒子(平均直径 1.03 ~ 1.12 μ m)を、1 群 :0mgMn/m³、2 群 :0.01mgMn/m³(0.01 \pm 0.001)、3 群 :0.1mgMn/m³(0.098 \pm 0.009)、4 群 :0.5mgMn/m³(0.478 \pm 0.042)、5 群 :0.1mgMn/m³(hureaulite)の曝露濃度で吸入曝露した。曝露時間は、6 時間/日、5 日間/週、13 週間であった。曝露終了直後および曝露終了後 45 日目で嗅球、線条体、小脳の glial fibrillary acidic protein(GFAP)量と Mn 濃度の測定を行った。GFAP 量は、いずれの部位でも変化は認められなかった。Mn 濃度は、嗅球で曝露直後に増加し、曝露から 45 日経過した後では、4 群(0.5mgMn/m³)以外では濃度差は認められなくなった。小脳では 4 群で曝露直後に、線条体では 3、4 群で曝露直後に増加が認められた。より溶解性の低い hureaulite 型との比較(3 群と 5 群)では、嗅球と線条体で通常型でのみ有意な増加が見られたことから、粒子の溶解性が Mn の脳移行性に重要と示唆された。病理学的検討では、呼吸上皮に穏やかな炎症が認められた。しかし、曝露後 45 日経過した後は、炎症反応の衰退が認められた。

4) 発がん

Takaki ら(1989)は、F344 ラットに軽量級ディーゼルエンジンからの DE を 0.1、0.4、1.1、2.3 mg/m³ の粒子濃度で 16 時間/日、5 日/週、30 ヶ月の曝露を行い肺腫瘍を観察した。曝露群の肺に腺腫、腺がん、腺扁平上皮がん、扁平上皮がんの発生を認めたが、対照群との明らかな差はなく、量反応関係もみられなかった。しかし、肺の過形成は曝露濃度に依存して病変の存在が高くなった。

2. 粒子状物質とオゾンとの複合影響に関する知見

Goldsmith ら(2002)は、CAPs(ボストン由来、PM_{2.5})の急性曝露効果を検討するために、OVA 感作若齢マウス(ヒトの喘息モデルを想定)に CAPs と O₃(PM_{2.5}:63.5~1,568.6 μ g/m³、O₃>:0.3%)を 5 時間/日、3 日間連続(生後 21、22、23 日目)曝露し、24 時間後の肺機能検査および炎症所見についての BALF および肺組織の形態学的検討を行った。その結果、一過性かつわずかであるが(0.9%/100 μ g/m³)CAPs 曝露群で気道狭窄の指標としての Penh: enhanced pause(肺気流抵抗)の有意な上昇が認められた。炎症性変化は認められなかった。CAPs の元素組成のうち、Al-Si の影響が示唆された。

<補足説明>

1. CAPs 単独、オゾン同時曝露群間で結果に違いがない (有意差が無い)

Kobzik ら(2001)は、OVA 誘発性喘息モデルマウスにおける CAPs と 0.3ppm O₃ の急

性曝露影響について検討した。用いられた粒径は $0.15\sim 2.5\mu\text{m}$ (粒子採集装置及びフィルターの性能からの予測値であり、測定値は記載なし) で曝露濃度は高用量 ($63.3\sim 1,568.6\mu\text{g}/\text{m}^3$) と低用量 ($1.6\sim 133.1\mu\text{g}/\text{m}^3$) の 2 種類であった。7 日齢及び 14 日齢に OVA 感作後、21 日齢より実験を開始した。OVA 誘発性喘息モデル群及び対照群に対し、5 時間/日で、3 日間連続し、CAPs (Harvard Ambient Particle Concentrator を使用) 及び O_3 又は清浄空気を吸入させた。その結果、①CAPs 単独曝露により、メサコリン応答性 Penh: enhanced pause (メサコリン誘導肺気流抵抗) の濃度依存的な上昇が認められた ($100\mu\text{g}/\text{m}^3$ につき 0.86% 上昇)。② $300\sim 500\mu\text{g}/\text{m}^3$ CAPs と O_3 の複合曝露により、メサコリン誘導肺気流抵抗の上昇が認められた。①と②は CAPs 曝露直後にのみ認められ、曝露 24 時間後では認めなかった。③CAPs 中の元素組成と Penh との相関を検討した結果、CAPs 中の Al-Si 含有率に相関して Penh (ベースライン: メサコリン刺激無し) の上昇が認められた。④CAPs 単独曝露又は CAPs + O_3 複合曝露 48 時間後において、BALF 中の全細胞数及びマクロファージ数の減少が認められた。

さらに本研究では、LPS と IFN- γ で前刺激した肺胞マクロファージによる TNF- α 及び MIP-2 産生量に対する CAPs の影響を *in vitro* で検討したが、CAPs の元素組成と産生量の変化との間に相関は認めなかった。CAPs 曝露の直後において、比較的小さな気道反応性の亢進が短時間 (<24 時間) 見られることが示された。また、明瞭ではなかったものの、気道反応性亢進の程度は CAPs 中の Al-Si 含有率と正相関することが示された。

< 補足説明 >

浮遊粒子状物質と O_3 の共曝露により、肺機能の低下や喘息時炎症反応の亢進が起る可能性が考えられる。しかし、本研究からは、浮遊粒子状物質の呼吸器に対する影響において PM_{2.5} の寄与は大きくない可能性が示された。

Vincent ら (1997) は、ラットにオタワ標準粉じん (EHC-93) と O_3 に、4 時間/日、1 日、それぞれの単独、または複合曝露 (EHC-93: 低濃度: $5\sim 6\text{ mg}/\text{m}^3$ 、高濃度: $48\text{ mg}/\text{m}^3$ 、MMAD = $4.6\text{ }\mu\text{m}$ 、 O_3 : 0.8 ppm) させ、曝露終了 32 時間後に [^3H]-チミジンを投与して 90 分後の組織のラベル率 (細胞増殖) を調べた。EHC-93 の約 20% は PM_{2.5} を反映していた (硫酸塩の量などから推測)。一度捕集した粒子を吸入実験のために分散させてエアロゾル化したので、吸入チャンバー内の空気をフィルターで捕集し分析すると、アントラセン、フェナンスレンなどの低分子量の PAH が揮発してフィルターに吸着されるため、見かけ上は吸入チャンバー内のアントラセン、フェナンスレン濃度が高まっているような測定値となった (18~19.2 倍)。粒子単独曝露群では変化はみられなかったが、 O_3 単独曝露群では終末細気管支と第一肺胞道のラベル率が有意に上昇した。粒子 (低濃度、高濃度ともに) と O_3 の複合曝露群では、 O_3 の影響がさらに強く見られた。第一肺胞道より抹消の気道に影響は見られなかった。粒子状物質が O_3 などのガス状都市大気汚染物質の呼吸器への影響を増悪させているこ

とがはっきり示された。

Bouthillier ら(1998)は、ラットに一度捕集したオタワ標準粉じん(EHC-93)と O₃ に、4 時間/日、1 日、3 日、それぞれの単独、または複合曝露(EHC-93 : 40 mg/m³、O₃ : 0.8ppm)させ、肺の病理組織、BALF 中の炎症性細胞やフィブロンectin、BALF 中に回収したマクロファージを培養した上清の亜硝酸(LPS 誘導)、TNF- α 、MIP-2、エンドセリン(ET)-1 ならびにマクロファージの貪食活性を測定した。また、血清中の ET-1 も測定した。隔壁ならびに 2 型上皮細胞の形態計測学的変化(表面に対する体積)は複合曝露群においてのみ上昇した。BALF 中の炎症パラメーターは O₃ 単独曝露群と複合曝露群においてのみ上昇が見られた。マクロファージの貪食活性は、O₃ 単独曝露群と複合曝露群においてのみ低下が認められた。マクロファージ培養上清中の MIP-2 ならびに血清中の ET-1 は、粒子単独曝露群、ならびに複合曝露群に於いて上昇が認められた。

Thomson ら(2004)(Thomson *et al.*,2004,Tox_Report9_162)は、オタワ標準粉じん(EHC-93、Environmental Health Care Center at Tunney's Pasture in Ottawa, Canada、粒径 : 1.3~3.6 μ m、曝露時間 : 4 時間、曝露濃度 : 0.8 ppm O₃ + 49 mg/m³)を吸入した 2 時間後に、肺の preproET-1 および endothelin-converting enzyme (ECE)-1 の mRNA の発現を検討しこれらの増加を認めた。一方、preproET-3 の mRNA の発現は逆に低下した。O₃ と SPM の曝露により肺のエンドセリン遺伝子の発現が増加した。

Thomson ら(2006)は、F344 ラットにオタワ標準粉じん(EHC-93)、O₃ を 4 時間吸入させた。血中エンドセリン (ET)-1、ET-3 は EHC-93、O₃ 曝露後すぐ上昇した。吸入直後の肺の preproET-1 mRNA は増加したが、preproET-3 mRNA は減少した。血中 ET-2 は曝露により変化はなかった。この結果から肺での ET-3 合成は粒子吸入による血中 ET-3 の増加とは関連がなく、preproET-3 の調節は肺以外の他の部位で行われている可能性があると考えられた。粒子曝露により肺の preproET-1 の upregulation と preproET-3 の downregulation が同時に起こっているため、肺局所の ET-1/ET-A 受容体による血管収縮と ET-3/ET-B 受容体による血管拡張が整合していないと述べている。

<補足説明>

O₃ と粒子状物質を同時曝露した場合は、肺組織の Prepro ET-1 mRNA, Prepro ET-3 mRNA とも O₃ 単独曝露時と同様に変化しているが相加的な増加はなく、また血中の ET は逆に減少したと述べており、相加的な影響はなかったとしている。

Kleinman と Phalen(2006)は、ラットで O₃ ガスと硫酸エアロゾルの混合物の急性曝露効果(曝露時間 4 時間)を検討した。粒径は 0.23~0.28 μ m(硫酸粒子 MMD、GSD=2.1~2.3)