

2. 肺および呼吸器への影響

2.1 仮説の紹介

ヒトおよび実験動物における微小粒子状物質の吸入による一般的な呼吸器疾患の発現機序を解明するため、これまで世界中で基礎研究と臨床研究がなされて、膨大な科学的知見が蓄積されてきている。

今般、大気中の粒子状物質の曝露による肺への毒性学的影響を考察するために、以下の仮説をたて、その仮説に関する科学的知見に基づき、仮説の確からしさの程度に関する検証を行なう。

- (1) 肺傷害および炎症が悪化する
- (2) 気道反応性の増加および喘息の悪化がみられる
- (3) 呼吸器感染に対する感受性が増加する
- (4) 疾患モデル動物では粒子状物質の曝露による影響に差異が生じる
- (5) 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

2.2 論文の紹介

- (1) 肺傷害および炎症が悪化する

Rudell ら (1990) は 8 人の健康な非喫煙者 (年齢など記載なし) を DE に 1 時間曝露し曝露前および曝露後 18 時間目に BALF を採集した。Diesel exhaust (DE: ディーゼル排気) 濃度は、曝露チャンバー内の被験者の呼吸ゾーンで NO₂ の平均濃度が 1.6 ppm になるように希釈した (そのときの粒子濃度は $4.3 \times 10^6 / \text{cm}^3$ 、NO は 3.7 ppm、CO は 27 ppm、ホルムアルデヒドは 0.5 mg/m³)。その結果、BALF 中のマスト細胞の総数の有意な減少、好中球は僅かだが有意に増加した。T-helper/Suppressor-Cytotoxic 細胞比の上昇、マクロファージの食食能の有意な減少がみられた。

Salvi ら (1999) は、15 人の健康な非喫煙者の志願者 (男 11 人、女 4 人; 平均年齢 24 歳; 21~28 歳) を間欠的運動下 (分時換気量が 20 L/min/m² 体表面積の負荷で 15 分運動、15 分安静の繰り返し) で 1 時間、空気および希釈された DE に曝露した。DE は、Volvo TD45-1991 エンジンで発生させた。曝露は、PM₁₀ 濃度が 300 μg/m³ になるようにした。各成分濃度は、NO₂: 1.6 ppm、NO: 4.5 ppm、CO: 7.5 ppm、総炭化水素: 4.3 ppm、ホルムアルデヒド: 0.26 mg/m³、浮遊粒子状物質: $4.3 \times 10^6 / \text{cm}^3$ であった。各曝露の前後に肺機能 (PEFR、FVC、FEV₁、FEF_{25-75%}) を測定した。肺の炎症性反応を調べるために、採血および気道洗浄液と気管支粘膜の生検を得るために気管支鏡を各曝露後の 6 時間目に行った。標準的な肺機能検査は DE 曝露後変化しなかったが、気道洗浄液では、ヒスタミンと fibronectin の増加と共に好中球と B リンパ球の有意な増加がみられた。DE 曝露後 6 時間後に得られた気管支生検は、気管支組織における LFA-1+ 細胞の数の増加と共に、内皮接着分子である ICAM-1 と VCAM-1 の upregulation と共に好中球、マスト細胞、CD4+ と CD8+ T リンパ球の有意な増加を示した。好中球と血小板の有意な増加が、DE 曝露後末梢血で観察された。この研究は、高濃度で、急性の短期間の DE 曝露は、健康な志願者の標準的な肺機能測定では過小評価されるが、顕著な全身性および肺の炎症反応をひき起こすことを実証していると述べている。

Rudell ら(1999)は、DE の正常な健康者における気管支肺胞細胞への影響と溶解性成分への影響を明らかにするために、アイドリング・エンジン (Volvo TDIF-1990) からの排気管出口における粒子捕集が気道炎症の指標を減少させるかどうかを評価した。研究は、10 人の健康な非喫煙者 (男 8 人、女 2 人、平均年齢 27 歳 ; 22~35 歳) を対象に、空気、希釈された DE (粒子数 : $2.6 \times 10^6 / \text{cm}^3$, NO_2 : 1.3 ppm, NO : 3.4 ppm, HC : 4.2 ppm、ホルムアルデヒド : $0.32 \text{ mg}/\text{m}^3$)、およびセラミックの粒子捕集装置でろ過された希釈されたディーゼル排気の曝露を行った。被験者に、軽度の運動 (75W で、 $15 \text{ L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の分時換気量) を 10 分間、安静を 10 分間繰り返しながら 1 時間曝露した。曝露後 24 時間目に、BAL を行い、気管支および気管支肺胞領域からの洗浄液について、細胞および溶解成分について分析した。結果は、粒子捕集は、平均粒子数を 50% 減少させたが、他の測定成分の濃度は、殆ど変わらなかった。DE は、*in vitro* で肺胞マクロファージによる貪食に悪影響を及ぼすと共に気道洗浄液中の好中球の増加を引き起こすことがみいだされた。さらに、DE は、 $\text{CD}3+\text{CD}25$ 細胞 ($\text{CD}=\text{cluster of differentiation}$: 分化抗原群) の減少を伴って、肺胞マクロファージの気腔への移動を引き起こすことがみいだされた。排気管の出口に特定のセラミックの粒子捕集を用いても、アイドリング車からの排気と相互作用してこれらの影響を完全に除去できるほど十分ではなかった。結論として、本研究は、DE への曝露は、気道への好中球と肺胞マクロファージの補充を引き起こし、肺胞マクロファージの機能を抑制することを示した。粒子捕集装置によってろ過された DE は、ろ過されない DE に比べ、DE によって引き起こされる影響を有意に減少させなかった。DE の気道における悪影響を減少させるためにもっと効率的な処理装置を評価するための研究が更に必要であると述べている。

Nordenhäll ら(2000)は、健康な志願者における最近の気管支鏡による研究では、DE への曝露に続いて気道の炎症がはっきり検出されているので、健康な志願者による誘発された痰を用いて、DE への曝露に続く炎症性反応の time kinetics を評価するために以下の研究を行った。15 人の健康な非喫煙者の志願者 (男 13 人、女 2 人、平均年齢 25 歳 : 22~33 歳) を 50% カットオフの空気力学径が $10 \mu\text{m}$ の粒子 (PM_{10}) の濃度が $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の DE 粒子とろ過空気に、間欠的運動下 (分時換気量が $20 \text{ L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 1 時間曝露した。DE は、Volvo BM TD45-1991 を使用して発生させ、曝露チャンバーの入口部濃度が、 PM_{10} : $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$, NO_2 : 1.6 ppm になるように調整した。各曝露後 6 時間と 24 時間目に、 β_2 -agonist を吸入後、7 分間隔で高張性食塩水 (3、4 および 5%) の濃度をあげながらエアロゾルを吸入させ、痰を誘発した。痰の細胞分画数や溶解性タンパク質濃度の分析を行った。DE への曝露後 6 時間では、ろ過空気曝露に比し、IL-6 濃度 (12.0 対 $6.3 \text{ pg}/\text{mL}$, $p=0.006$) と methylhistamine (0.11 対 $0.12 \mu\text{g}/\text{L}$, $p=0.024$) 濃度の増加を伴った痰中の好中球のパーセンテージ (37.7 対 26.2%, $p=0.002$) の有意な増加がみられた。曝露にかかわらず、痰中の好中球のパーセンテージは、6 時間に比べ 24 時間では有意な増加がみられたことは、痰誘発そのものの処置が痰の構成成分を変えるかもしれないことを示した。この研究は、DE への曝露は、健康なヒトの気道で、IL-6 と methylhistamine 濃度と好中球のパーセンテージの初期の増加で示されるような炎症性反応を引き起こすことを示した。痰の誘発は、DE の炎症性影響の研究の安全な手段を提供しているが、痰の誘発を繰り返した結果の評価には注意を払わなければならないと述べている。

Nightingale ら(2000)は、正常な志願者における Diesel exhaust particles (DEP: ディーゼル排気粒子) の吸入に対する炎症性反応を調べた。DEP は、ディーゼル・エンジンの排気から捕集され、市販の粒子分散器で再浮遊させ曝露チャンバーに導入した。10 人の健康な非喫煙者(男 3 名、女 7 名、平均年齢 28 歳)を空気力学径が $10\ \mu\text{m}$ 以下 (PM_{10}) の粒子濃度を $200\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ にコントロールした DEP に、または清浄空気に、チャンバー内で、安静下で 2 時間曝露した。曝露後 4 時間に至る痰の誘発と静脈切開と同様に一連のスパイロメトリー、脈拍、血圧、呼出一酸化炭素 (CO) およびメサコリン反応を測定し、曝露後 24 時間目にこれら全ての手技を繰り返した。DEP への曝露後、心血管系パラメーターや肺機能に変化はみられなかった。呼気 CO レベルは DEP 曝露後に増加し、1 時間目に最高となった(空気: $2.9 \pm 0.2\ \text{ppm}$ [平均 \pm SEM]; DEP: $4.4 \pm 0.3\ \text{ppm}$; $p < 0.001$)。空気曝露後 4 時間と比較すると DEP 曝露後 4 時間では痰中の好中球 ($41 \pm 4\%$ 対 $32 \pm 4\%$) と myeloperoxidase (MPO) ($151\ \text{ng}/\text{ml}$ 対 $115\ \text{ng}/\text{ml}$, $p < 0.01$) の増加がみられたが、末梢血中の IL-6、TNF- α および P-selectin の濃度に変化がみられなかった。以上の結果から、高濃度での DEP への曝露は、正常な志願者で気道の炎症性反応をおこすと述べている。

Holgate ら(2003b)は、38 人の健康な非喫煙者(18~40 歳)をろ過空気に 12 人(男 8 人、女 4 人)、Chapel Hill の大気を 6~10 倍に濃縮した CAPs ($\text{PM}_{2.5}$: $23.1 \sim 311.1\ \mu\text{g}/\text{m}^3$) の平均値が低い群 ($47.2 \pm 5.3\ \mu\text{g}/\text{m}^3$)、中等度群 ($107.4 \pm 9.3\ \mu\text{g}/\text{m}^3$) および高濃度群 ($206.7 \pm 19.2\ \mu\text{g}/\text{m}^3$) の各群に 10 人ずつ(1 名性別不明で残り全員男)間欠的運動下(分時換気量が $25\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し)で 2 時間曝露した。曝露前および曝露後 18 時間目に採血し、また曝露後 18 時間目に気管支生検と BALF を採集した。肺機能(スパイロメトリーとプレチスモグラフィ)は、CAPs 曝露による影響がみられなかった。曝露後、血中フィブリノゲンは、CAPs 曝露の各群では平均して $38.8 \sim 43.3\text{mg}/\text{dL}$ 増加したが、濃度依存性はみられなかった。BALF では、好中球の細胞数、または総細胞数に対するパーセンテージの両方で濃度依存性の増加がみられた。気管支生検では、細胞数や接着分子表現への影響はみられなかった。これらのことから、CAPs では BALF で軽度の気道炎症がみられるが気管支生検組織に反映されるようなものではないと述べている。

Stenfors ら(2004)は、25 人の健康な非アトピー性の者(男 16 人、女 9 人: 平均年齢 24 歳; 19~42 歳)および 15 人の β_2 作動薬の吸入のみしている軽症の喘息患者(女 5 人: 平均年齢 30 歳; 22~52 歳)を大気レベルの DE [$10\ \mu\text{m}$ の空気力学径の 50%カット-オフの粒子 (PM_{10}) 濃度が $108\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ (94~124)、CO は $1.7\ \text{ppm}$ (0.6~2.5)、 NO_2 は $0.2\ \text{ppm}$ (0.1~0.3)] に中等度の間欠的運動下(分時換気量が $15\text{--}20\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ の負荷で 15 分間の運動と安静の繰り返し)で 2 時間曝露し、肺機能と気道炎症を評価した。DE は、Volvo のディーゼル・エンジンで発生させた。肺機能は Body-plethysmograph で sRaw (特異的気道抵抗)、FVC および FEV_1 を測定した。曝露後、6 時間目に気管支鏡を行い、気管支生検、気管支洗浄液 (BW) および BALF を採集した。粘膜生検については、特異的細胞マーカー、血管内皮接着分子および細胞内接着分子、サイトカインや転写因子を測定した。BW および BALF については、細胞分画、アルブミン、総タンパク質、IL-6、IL-8、GM-CSF、methyl-histamine、MPO および ECP を測定した。DE 曝露後、 FEV_1 や FVC は、どのグループも影響がみられなかった。

sRaw は、空気曝露に比し、健康者では 4.1% ($p < 0.01$)、喘息患者では 6.5% ($p < 0.01$) の増加を示したが、グループ間では反応の大きさに統計的な差はみられなかった。健康な被験者は、DE 曝露後、気道炎症を起こし、気道洗浄液における IL-6 と IL-8 タンパク質の増加、気管支粘膜における IL-8 mRNA の増加と内皮の接着分子 (P-selectin と VCAM-1) の upregulation を伴った気道の好中球増加とリンパ球増加を示した。喘息患者では、DE 曝露は、好中球性反応を引き起こしたり、既存の好酸球性気道炎症を増悪させたりすることはなかった。サイトカインの IL-10 の上皮染色は、喘息グループでは DE 後に増加していた。DE による IL-10 の誘発は、喘息患者の気道炎症の増強に寄与するかもしれない。現在の WHO の大気質基準以下の濃度で 50%カット-オフの空気力学径が $10 \mu\text{m}$ の粒子が、健康者と喘息患者で異なる影響がみられることが、この研究で観察された。これらの異なる反応の意味を解明するには更に研究が必要であると述べている。

Pourazar ら (2005) は、15 人の健康な非アトピー性の非喫煙者 (男 11 人、女 4、平均年齢 24 歳 : 21-28 歳) について、Volvo 社のディーゼル・エンジンで供給された DE [DEP が MMAD で $10 \mu\text{m}$ 以下の粒径 (PM_{10}) 濃度 : $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 NO_2 : 1.6 ppm、 NO : 4.5 ppm、 CO : 7.5 ppm、総炭化水素 : 4.3 ppm、ホルムアルデヒド : $0.26 \text{mg}/\text{m}^3$ 、浮遊粒子 : $4.3 \times 10^6/\text{cm}^3$]、または空気に曝露チャンバーで 1 時間、間欠的運動下 (分時換気量が $20 \text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ の負荷で 15 分間の運動と安静の繰り返し) で吸入させた。曝露後 6 時間目に、気管支鏡で気管支内膜の生検を行い、気管支上皮細胞の免疫組織化学的染色を行い、転写因子の NF- κB (p65) および AP-1 (c-jun および c-fos) と upstream stress-related MAPKs [p38 および c-Jun N-terminal kinase (JNK)] の発現量とチロシン残基のリン酸化量を調べた。その結果、DE への短期間曝露は、リン酸化された p38 の総免疫染色 (cytoplasmic+nuclear) の増加と同様に、NF- κB 、AP-1、リン酸化 JNK および p38 の nuclear translocation の有意な増加をもたらした。Nuclear リン酸化 tyrosine の有意な増加もみられた。これらの観察は、DE は、proinflammatory サイトカインの合成の増加を引き起こすことと一致して redox-sensitive 転写因子を活性化させることを示している。著者は、これらの経路の upregulation は、DEP が誘発する細胞外の酸化ストレスと proinflammatory サイトカインの誘発を関連づける分子機構であると考えている。

Ghio ら (2000) は、38 人の健康な非喫煙者 (男 36 人、女 2 人 : 平均年齢 26.2 歳) をノース・カロライナ州の Chapel Hill にある EPA の Human Studies Facility の近くの環境大気から濃縮された Concentrated ambient particles (CAPs : 濃縮大気浮遊粒子状物質) またはろ過空気に曝露した。曝露中のチャンバー内の粒子濃度は、 $23.1 \sim 311.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲 (MMAD は $0.65 \mu\text{m}$) であったが、これらを四分位に分類した [$\text{PM}_{2.5}$ のそれぞれの粒子濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) は、Quartile-1 (Q-1) : 清浄空気 (被験者数 8 人)、Q-2 : 47.2 ± 5.3 (10 人)、Q-3 : 107.4 ± 9.3 (10 人)、Q-4 : 206.7 ± 19.2 (10 人)]。曝露チャンバー内で、被験者は、間欠的運動下 (分時換気量が $25 \text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 2 時間曝露された。曝露後、症状は認められなかった。同様に、肺機能 [スパイロメトリー (FVC、 FEV_1 、PEF) および plethysmography (Raw)] の低下もみられなかった。曝露後 18 時間での BAL から得られた細胞と液の分析では、CAPs に曝露されたこれらの被験者における気管支および肺胞分画の両方で、ろ過空気 (それぞれ 2.69 ± 0.55 と $0.75 \pm 0.28\%$) に比較して好中球の軽度の増加 (最大の曝露を受けた者達で、それぞれ 8.44 ± 1.99

と $4.20 \pm 1.69\%$) がみられた。CAPs への曝露後 18 時間の血液は、曝露前のサンプルに比べ、有意に多くのフィブリノゲンを含んでいたが、量反応関係はみられなかった。以上の結果から、大気粒子は、血液中のフィブリノゲン濃度の増加と同様に下気道での軽度の炎症を引き起こしうると結論できると述べている。

Harder ら (2001) は、38 人の健康な非喫煙者の志願者 (男 36 人、女 2 人：平均年齢 26.2 歳；18~40 歳) をノース・カロライナ州の Chapel Hill にある EPA の Human Studies Facility の近くの環境から濃縮された粒子またはろ過空気に間欠的運動下 (分時換気量が $25\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 2 時間曝露した。曝露中のチャンパー内の粒子濃度は、 $23.1 \sim 311.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲であった。最初のろ過空気に曝露された 8 人を四分位数の最初の quartile を quartile 1 (Q-1) とし、残りの 30 人の曝露を PM 濃度の増加に伴い分割し 10 人のグループに分けた [PM_{2.5} の平均濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) は、Q-2 : 47.2 ± 5.3 、Q-3 : 107.4 ± 9.3 、Q-4 : 206.7 ± 19.2]。ヒトと動物の両方の研究から、粒子への曝露後 18 時間と 24 時間の間に炎症性反応がみられることが示されているため、空気または CAPs への曝露後 18 時間目に気管支鏡を行い、気管支と気管支肺胞洗浄液を採集した。曝露による症状は認められなかった。曝露後 18 時間に、BAL で得られた細胞の分析は、ろ過空気に曝露された者の液中の好中球 (気管支分画 $2.7 \pm 0.6\%$; 肺胞分画 $0.8 \pm 0.3\%$) に比べ CAPs の最高濃度に曝露された被験者における気管支 ($8.4 \pm 2\%$) と肺胞分画 ($4.2 \pm 1.7\%$) の両方で好中球の軽度の増加を示した。最高の粒子レベル (平均 $207 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の吸入後、洗浄で回収されたリンパ球や AMs のパーセンテージに変化はみられなかった。CD3、CD4、CD8、CD19 や活性マーカーの CD25 を表す BAL 中のリンパ球の割合にも変化はみられなかった。粒子吸入は、AM 上の CD11b、CD64、CD16、CD14 の表現に影響を与えなかったし、zymosan A で刺激後の食食能やオキシダント発生にも影響がみられなかった。ELISA によって検出された BAL 中の IL-6 と IL-8 レベルは、吸入された粒子レベルには関係していなかった。CAPs への曝露後 18 時間で採集された血液のリンパ球サブセットの分布は、曝露前の分布と異なっていなかった。以上の結果から、本条件下では、大気粒子は、下気道で軽度の炎症を引き起こしうるが、免疫表現型やマクロファージ機能に影響を及ぼさないと結論している。

Holgate ら (2003a) は、38 人の健康な非喫煙者 (18~40 歳) をろ過空気に 12 人 (男 8 人、女 4 人)、Chapel Hill の大気を 6~10 倍に濃縮した CAPs (PM_{2.5} : $23.1 \sim 311.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の平均値が低い群 ($47.2 \pm 5.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、中等度群 ($107.4 \pm 9.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$) および高濃度群 ($206.7 \pm 19.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の各群に 10 人ずつ (1 名性別不明で残り全員男) 間欠的運動下 (分時換気量が $25\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 2 時間曝露した。曝露前および曝露後 18 時間目に採血し、また曝露後 18 時間目に気管支生検と BALF を採集した。肺機能 (スパイロメトリーとプレチスモグラフィ) は、CAPs 曝露による影響がみられなかった。曝露後、血中フィブリノゲンは、CAPs 曝露の各群では平均して $38.8 \sim 43.3\text{mg}/\text{dL}$ 増加したが、濃度依存性はみられなかった。BALF では、好中球の細胞数、または総細胞数に対するパーセンテージの両方で濃度依存性の増加がみられた。気管支生検では、細胞数や接着分子表現への影響はみられなかった。これらのことから、CAPs では BALF で軽度の気道炎症がみられるが気管支生検組織に反映されるようなものではないと述べている。

Lay ら(1999)は、34 人の健康な非喫煙者の志願者(男 27 人、女 7 人; 平均年齢 25.8 歳、19.6~35.5 歳)に、気管支鏡を用い、最初の気管支鏡の時に、SPSS に浮遊された Fe_2O_3 の microspheres (CMD が $2.6\ \mu\text{m}$ で、非放射性; 10 ml SPSS 中に 3×10^8 粒子)を肺舌状部に注入し、コントロールとして粒子を含まない SPSS を右中葉に注入した。注入後、1、2、4、28 または 91 日目に、肺細胞と生化学的成分を採集するために BAL を行った。 Fe_2O_3 は、毒性が無く、非発癌性および非繊維化性であるという証拠に基づいて選択した。粒子の注入は、注入後の最初の日は一時的な急性炎症を引き起こし、BALF のタンパク質、LDH、および IL-8 の増加と同様に好中球と肺胞マクロファージ数の増加で特徴付けられていた。この反応は、無症状で、注入後 4 日以内に消滅した。同じ粒子の気管内注入後 1 日目のラットで類似の量依存性の反応がみられた。粒子は、少量の溶解性 Fe ($240\ \text{ng}/\text{mg}$) を含み、in vitro でオキシダント発生に触媒作用を及ぼす能力をもっていた。これらの知見は、粒子曝露後の急性炎症は、少なくとも部分的には、粒子に関連した Fe イオン、水酸化鉄や oxyhydroxides の残留量の存在によって触媒されたオキシダント発生の結果であるかもしれないことを示しており、粒子状大気汚染レベルの増加に関連した急性健康影響に関連しているかもしれないと述べている。

Kuschner ら(1997)は、15 人の健康な志願者(男 8 人、女 7 人; 平均年齢 31.3 歳)について ZnO フュームを顔面マスクをつけ口呼吸で吸入させ、3 時間後に BAL 中のサイトカイン濃度を調べた。ZnO フュームは、溶鉱炉システムを利用して発生させた [MMD : $0.17\ \mu\text{m}$ 、濃度の中央値 : $33\ \text{mg}/\text{m}^3$ ($20\sim 42\ \text{mg}/\text{m}^3$)]。曝露時間は、2 人が 10 分、5 人が 15 分、8 人が 30 分であった。14 人の異なる被験者(男 8 人、女 6 人; 平均年齢 35.6 歳)について類似の濃度に曝露後、20 時間後に BALF を採集した。その結果、3 時間後の BALF 中の TNF、IL-6 および IL-8 の量依存性の統計的に有意な増加がみられた。TNF は、曝露後 20 時間目に比し、3 時間目で有意に大きかった。これらのデータは、TNF が、金属熱の媒介で重要な初期の役割をしていることを示していると述べている。

Ghio と Devlin(2001)は、PM を含むフィルターが、Utah Valley にある製鉄工場の閉鎖前(1986 年)、閉鎖中(1987 年)、および再開後(1988 年)に捕集されていたので、フィルターの水溶性抽出物を作成した。これらの抽出物の一つ ($500\ \mu\text{g}$) を含む 10 ml の食塩水を気管支鏡で 24 人の健康な非喫煙者(男 21 人、女 3 人、平均年齢 26.4 歳)の左肺舌区の区域気管支に注入し、さらに 10 ml の食塩水を注入した。同様に、粒子を含まない 20 ml の食塩水を右中葉の垂区域に注入した(対照)。本研究で注入した $500\ \mu\text{g}$ は、Utah Valley で冬季の気温逆転時に PM_{10} が $100\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えることがあり、このような状態で 24 時間呼吸し、その 10% が肺の舌区に分布し、そのうちの 42% が沈着すると仮定すると $91\ \mu\text{g}$ の PM_{10} が沈着することになり、注入量は、この約 5 倍に相当する。24 時間後に、同じ領域を洗浄し、BALF を採集した。製鉄工場の閉鎖前と再開後に捕集された PM の水溶性抽出物への曝露は、工場の閉鎖中に捕集された PM 抽出物に比較し、より大きな炎症性反応をもたらした。抽出物の注入後の BALF 中の生存細胞の総数は、食塩水に比べて増加した。好中球のパーセンテージは、1987 年の PM 抽出物と食塩水に比べ、1986 年と 1988 年の PM 抽出物の注入後に増加した。BALF 中のタンパク質、アルブミン、fibronectin、 $\alpha 1$ -antitrypsin、IL-8、TNF、IL-1 β も類似の傾向を示した。さらに 1986 年の抽出物の $100\ \mu\text{g}$ を注入すると、好中

球、タンパク質および炎症性サイトカインの上昇がみられた。これらは、PM_{2.5}への人の実験的曝露後の肺への影響が、通常の曝露条件下での同じ材料に関する疫学研究で観察された健康影響と相関していることを示した最初の報告である。このことは、曝露量は、PM_{2.5}曝露後の健康影響を評価するために使用する最も適切なものではなく、むしろ特異的な成分を同定し、評価しなければならないことを示唆していると述べている。

Huangら(2003)は、CAPs中の硫酸塩/Fe/Se因子がBALF中の好中球の増加、Cu/Zn/V因子が血中フィブリノゲン増加と関連していて、PM_{2.5}の特異的成分の重要性を指摘している。健康者、喘息患者やCOPD患者で、HRVの変化や収縮期血圧への影響が報告されているが、COPD患者よりも健康者の方で影響がより強く観察されている。

Leiら(2004a)は、ラットにモノクロタリン 60mg/kg(体重)を腹腔内投与し肺高血圧を惹起させた。その14日後にCAPs(dust storm forecast system of Taiwan Environmental Protection Administration using a modified ultrafine particle concentrator developed by Sioutas et al.を使用)を、126.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (対照群)、315.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (低曝露群)、684.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (高曝露群)の3群で吸入曝露した。黄砂の季節に、低曝露群と対照群の1匹は6時間、高曝露群と対照群の3匹は4.5時間曝露した。高曝露群は呼吸困難をきたしたため、4.5時間の曝露で終了した。末梢血中の白血球数は、粒子の濃度に依存して増加した。赤血球やヘモグロビン、ヘマトクリットには有意な変化は見られなかった。BALF中の総細胞数と好中球数も粒子濃度に依存して増加した。BALF中の総タンパク質、LDH、IL-6タンパク質濃度に関しても同様な結果が得られた。

Leiら(2004b)は、CAPs(PM_{2.5}) (台北(台湾)由来、曝露濃度:PM_{2.5}(\pm SD) : 371.5(\pm 208.3) $\mu\text{g}/\text{m}^3$)の急性影響を知るために、モノクロタリン処理を行ったラット(ヒトの肺高血圧症モデルを想定)にCAPsを6時間/日、3日間連続曝露し、肺の機能検査および炎症所見について解析した。その結果、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、呼吸数の減少、一回換気量の増加が認められた。また、BALF内の好中球の増加、タンパク質及びLDH濃度の増加、IL-6値の増加が認められた。

Kodavantiら(1999)は、SDラット(60日齢、体重250~300g)にモノクロタリン60mg/kg(体重)を腹腔内投与して肺障害/肺高血圧を引き起こした。対照群には生理食塩水(正常ラットと以下表記)を同様に投与した。10日後に清浄空気またはROFA(15 mg/m^3)を気管内投与(生理食塩水、0.83あるいは3.33 mg/kg (体重))、あるいは鼻部吸入曝露(15 $\text{mg}/\text{m}^3 \times 6$ 時間/日 $\times 3$ 日)を行い、肺の組織像、サイトカイン遺伝子発現、BALFを調べた。正常ラットではROFA吸入により、肺浮腫、炎症細胞浸潤、肺胞壁の肥厚が認められた。BALFの炎症マーカーの上昇やIL-6、MIP-2発現増加も認めた。モノクロタリン処理したラットでは、炎症細胞の血管周囲への浸潤、大きいマクロファージの存在、肺胞壁の肥厚が認められた。BALF中タンパク質や炎症マーカー(マクロファージ数、好中球数)も上昇し、肺障害を示していた。モノクロタリン処理後にROFAを気管内投与されたラットの58%が96時間以内に死亡したのに対し、吸入曝露群では死亡例はなかった。モノクロタリン処理後にROFA吸入曝露したラット群では肺損傷の増悪が見られた。すなわち、肺水腫、肺胞壁の肥厚、炎症細胞浸潤であった。BALF中のマクロファージ、好中球、好酸球およびIL-6発現は、モノク

ロタリン、ROFA それぞれ単独投与による増加の相加作用を上回る増加を示した。結論として、ROFA の気管内投与は肺障害/肺高血圧モデルラットの死亡率を引き上げたと述べている。

Li ら(1996)は、ラットで PM₁₀ および対照 CBP(fine、ultrafine)を気管内に単回投与した。6 時間の曝露により肺胞内への好中球の遊走、上皮細胞の透過性の亢進、BALF 中の総タンパク質および LDH の増加が観察された。Ultrafine CBP の投与により、より強い炎症反応が観察された。PM₁₀には in vivo および in vitro においてフリーラジカルの活性が確認された。PM₁₀に曝露されたラットから得られた白血球の NO と TNF の産生能は対照動物に比べて増大していた。これらの結果から、PM₁₀はフリーラジカル活性を有し肺の炎症や上皮組織の障害に関与していることが明らかとなった。

Kodavanti ら(1997)は、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1回投与した。ROFA の粒径は $1.95 \pm 1.61 \mu\text{m}$ で、投与量は ROFA(2.5 mg/個体)、Fe(0.54 μM /個体)、V(1.66 μM /個体)、Ni(1.0 μM /個体)であった。いずれも 0.3 ml の生理食塩水(pH 2.5)に溶解した。投与 1 時間後から気道・肺胞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、24 時間後にピークに達した後に 96 時間後まで継続した。同様の変化は金属の投与によっても惹起されたが、Fe や V に比べて Ni による肺の炎症や障害が高度であった。金属を混合した場合にはむしろ炎症・障害の誘導作用は減弱した。ROFA 投与 3 時間後には一過性に MIP-2、IL-1 β 、IL-5、IL-6、VCAM-1、E-selectin の遺伝子発現が増加した。これら炎症性遺伝子は金属の投与でも観察されたが、特に Ni の影響が強く見られた。本研究では、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された。

Win-Shwe ら(2005)は、マウスに、14nm と 95nm の 2 種の CB 超微小粒子(投与濃度 0 μg /個体、25 μg /個体、125 μg /個体、625 μg /個体)を 4 回反復して気管内投与した際の肺とリンパ節での炎症性サイトカイン・ケモカインと粒子サイズ、粒子濃度との関係について検討した。①免疫関連臓器である胸腺重量、脾臓重量と脾臓細胞数には粒子サイズ、粒子濃度の影響は認められなかった。②最終投与 24 時間後の BALF 中の総細胞数、肺胞マクロファージ数、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。95nm でも同様な増加傾向を認めたが、肺胞マクロファージ数には明らかな量反応関係を認めなかった。好中球数と粒子面積との間には相関関係が見られた。③最終投与 24 時間後の BALF 中サイトカインは、14nm では IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、CCL-2、CCL-3 が濃度依存性に増加し、95nm でも同様な傾向を認めたが、IL-6、TNF- α の変動は少なかった。④縦隔リンパ節で粒子を少なくとも 3 個以上貪食している細胞数は、14nm、95nm 両者で濃度に依存して増加し、その程度は 95nm に比較して 14nm で大であった。⑤125 μg 粒子最終投与 4 時間後の肺組織ケモカイン CCL-2 と CCL-3 mRNA 量は 14nm、95nm で増加したが、リンパ節では 14nm が CCL-2、CCL-3 mRNA 量の増加を示したのに対し、95nm では CCL-2 mRNA のみ増加傾向を示した。⑥超微小粒子 CB の反復投与は、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が示唆された。

Limら(1998)は8週齢のICRマウス(雄)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た。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群の値より高かった。また、好酸球浸潤はPEG-SOD前投与で1/4以下に低下した。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シトクロム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た。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た。さらに、DEP投与で呼吸抵抗が2.5倍に増加し、NOS阻害剤の投与で呼吸抵抗増加は完全に抑制された。これらの結果から、DEPによる気道炎症の発現には、気道上皮細胞や肺胞マクロファージなどに由来する O_2^- 、 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。

Liら(1996)は、ラットで PM_{10} および対照CBP(fine、ultrafine)を気管内に単回投与した。6時間の曝露により肺胞内への好中球の遊走、上皮細胞の透過性の亢進、BALF中の総タンパク質およびLDHの増加が観察された。Ultrafine CBPの投与により、より強い炎症反応が観察された。 PM_{10} にはin vivoおよびin vitroにおいてフリーラジカルの活性が確認された。 PM_{10} に曝露されたラットから得られた白血球のNOとTNFの産生能は対照動物に比べて増大していた。これらの結果から、 PM_{10} はフリーラジカル活性を有し肺の炎症や上皮組織の障害に関与していることが明らかとなった。

Maddenら(1999)は、ROFAの気管内投与が肺の過酸化脂質(アセトアルデヒド)を増加させることを報告した。用いたROFAの粒径は $1.95 \pm 0.18 \mu m$ で投与量は500~1,000mgであった。ラット気管内にROFAを投与したところ、濃度依存性にBALFのアセトアルデヒド濃度が増加した。アセトアルデヒドの増加はROFA投与後15分から観察され、1時間後にピークとなり、24時間後には消失した。ROFAに含有されるFeやVの気管内投与によってもBALFのアセトアルデヒドが増加した。またROFAを曝露した気道上皮細胞からもアセトアルデヒドが産生されることを確認した。

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マウス(雄)に1回気管内投与した。この結果、DEPの気管内投与による LD_{50} は0.6mg/個体(20mg/kg(体重))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SOD(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。

Limら(1998)は8週齢のICRマウス(雄)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た。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群の値より高かった。また、好酸球浸潤はPEG-SOD前投与で1/4以下に低下した。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シトクロム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た。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た。さらに、DEP投与で呼吸抵抗が2.5倍に増加し、NOS阻害剤の投与で呼吸抵抗増加は完全に抑制された。これらの結果から、DEPによる気道炎症の発現には、気道上皮細胞や肺胞マクロファージなどに由来する O_2^- 、 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。

Sagaiら(1996)は6週齢のICRマウス(雄)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た。なお、これら3つの喘息様病態はPEG-SODの気管内への前投与で効果的に抑制された。これらのことから、DEPは0.1mg/個体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が示唆されている。

Gurgueiraら(2002)は、心臓の酸化ストレスと浮遊粒子状物質との関連を明らかにするため急性実験を行った。正常SDラットに対し、CAPs($PM_{2.5}$)を $300 \pm 60 \mu g/m^3$ の濃度で、曝露時間を1時間、3時間、5時間として吸入曝露し、人工呼吸下で観察した。肺、心臓、肝臓の化学発光量(酸化ストレスの指標を示す。臓器の活性酸素種の濃度を推定する方法)を調べたところ、肺と心臓において有意な上昇が認められた。同様の結果がROFAの曝露において認められたがCBでは変化は認められなかった。肺の化学発光量は、CAPs中のCa、Mn、Cu、Fe、Znと、心臓の化学発光量は、Si、Al、Ti、Feと相関が見られた。また、肺の障害指標としての乾湿重量比、組織障害指標としての血清LDH、クレアチンホスホキナーゼ活性、肺のMn-SODとカタラーゼ活性、心臓のCu/Zn-SODとMn-SOD活性がCAPsの曝露により上昇した。これらの結果から、CAPsの5時間曝露は肺と心臓に軽度の障害をもたらすことが示唆された。

Rhodenら(2004)は、ラットにCAPs(ボストン由来)を曝露濃度 $1,060 \pm 300 \mu g/m^3$ で5時間曝露し、肺組織の生化学的および病理学的解析を実施した。その結果、酸化反応物の2倍量の増加(チオバルビツール酸反応物質、酸化タンパク質)が認められた。また、炎症の指標としてのBALF中の好中球数の増加、肺湿重量の増加、軽度の気管支炎像が認められた。抗酸化剤としてのN-アセチルシステイン前処置により、酸化脂質産生、肺の湿重量増加、BALF内の好中球浸潤および気管支炎の抑制効果が見られた。チオバルビツール酸反応物質

と CAPs 中の Al、Si、Fe との有意な関連が認められた。本報告では CAPs 曝露により、活性酸素種の反応を介した生体影響が起こることが示唆されたと報告している。

Kodavanti ら(1997)は、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1回投与した。ROFA の粒径は $1.95 \pm 1.61 \mu\text{m}$ で、投与量は ROFA(2.5 mg/個体)、Fe(0.54 μM /個体)、V(1.66 μM /個体)、Ni(1.0 μM /個体)であった。いずれも 0.3 ml の生理食塩水(pH 2.5)に溶解した。投与 1 時間後から気道・肺胞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、24 時間後にピークに達した後に 96 時間後まで継続した。同様の変化は金属の投与によっても惹起されたが、Fe や V に比べて Ni による肺の炎症や障害が高度であった。金属を混合した場合にはむしろ炎症・障害の誘導作用は減弱した。ROFA 投与 3 時間後には一過性に MIP-2、IL-1 β 、IL-5、IL-6、VCAM-1、E-selectin の遺伝子発現が増加した。これら炎症性遺伝子は金属の投与でも観察されたが、特に Ni の影響が強く見られた。本研究では、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された。

Molinelli ら(2002)は、TSP の水溶性抽出物 1mg をラットの気管内に単回投与した。TSP 抽出物の気管内投与した場合の BALF 中のタンパク質や LDH は、生理食塩水の気管内投与に比較して増加した。金属類を除去した TSP 抽出物では、BALF 中のタンパク質や LDH の増加量は有意に減弱していた。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。金属類でもタンパク質量は軽度に増加していた。TSP 抽出物、金属類除去 TSP 抽出物、金属類除去 TSP 抽出物+金属類の気管内投与により好中球性炎症が惹起されたが、群間で有意な差は見られなかった。本研究は、一般環境における粒子に含まれる水溶性の金属成分が、量によっては、肺の障害に関与している可能性があることを示している。

Kodavanti ら(1998)は、ROFA の金属含量の違いが肺の炎症と障害作用に影響するかについて検討するために、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。ROFA 粒径は $1.99\sim 2.59 \mu\text{m}$ 、投与量は 0.83、0.33、8.3 mg/kg(体重)であった。24 時間の BALF 中のタンパク質、ヘモグロビン、LDH 量は Ni や Fe の含量と関連していた。一方、BALF 中の好中球数は V 含量と関連していた。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 で観察された。ROFA による肺の炎症作用やマクロファージの活性化は V 含量と関連し、障害作用については Ni 含量と関連することが示された。

Clarke ら(2000b)は、CAPs を曝露されたイヌにおける肺の炎症や血液学的な反応について検討した。肺の炎症変化検索と血液学的な検索のために、正常イヌを CAPs やろ過空気に曝露した。血液学的な検索では、CAPs またはろ過空気に 6 時間/日、3 日間連続曝露の後、次の週には、清浄空気曝露群は CAPs 曝露へ、CAPs 曝露群は清浄空気へとクロスオーバー曝露し、CAPs の 1 日の組成の変化と血液成分の変化との関連を調べた。次の週にはクロスオーバー曝露を行い、CAPs の 1 日の組成の変化と血液成分の変化との関連を調べた。全ての CAPs や全ての擬似曝露を比較したところ、生物学的な反応において統計的な有意差はみられなかった。しかしながら、CAPs 曝露における生物学的な反応の変動が大きかった。すなわち、日ごとの曝露量と成分のばらつきが大きく、それに対する生物学的な反応も変動も大きくなっていった。そこで、統計学的に、CAPs の成分と生物学的な反応の間の関連性を解析した。

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 の増加と関連していた。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 因子と関連していた。BALF の好中球の増加は、Br/Pb と CAPs 曝露の 3 日目のデータのみで関連性がみられた。赤血球の数やヘモグロビンレベルの有意な減少がイオウと相関があった。BALF と血液学的なパラメータは総計 CAPs の質量濃度の増加とは関連がなかった。これらのデータは CAPs の吸入が肺性および全身性の細胞プロフィールの変化と微妙に関連して、CAPs の特異的な成分はその生物学的な反応の原因である可能性を示唆している。

Schins ら (2004) は、工業地帯(都市部)と郊外より採集した PM(coarse, fine の 2 サイズ)をラット気管内に投与し、18 時間後の BALF および血中の炎症指標を測定した。その結果、fine より coarse の PM が、さらに、工業地帯よりも郊外の PM がより強い毒性を示した。その背景に、金属(組成、含有量)ではなく、エンドトキシン量が関与していることが示唆された。

Gilmour ら (2004) は、CD1 マウスに CFA 気管内投与 18 時間後の BALF(各種炎症性指標; 好中球の浸潤、生化学的指標、炎症性サイトカイン)を解析した。粒径は ultrafine 0.2 μm (モンタナ産石炭由来)、fine 2.5 μm 、coarse > 2.5 μm (西ケンタッキー産由来)で、投与量は 2mg/ml 原液から 50 μl を投与(100 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$)した。毒性はより小さいサイズの粒子の方が大きい(0.2 μm 以下の ultrafine > 2.5 μm 以下の fine > 2.5 μm 以上の coarse)ことが示された。この結果から、サイズの粒子が小さいほど CFA の毒性は大きく、また、毒性には、イオウ成分と微量元素成分の増加が関連することが示唆されると報告している。

Silbajoris ら (2000) は、ラットに対し ROFA(500 μg ROFA in 0.5 ml saline)気管内投与した後に肺を摘出して免疫組織染色を行ない、炎症などに重要な細胞内シグナル経路として、MAPK(ERK1/2、p38-MAPK、JNK(c-Jun NH2-terminal kinase))のリン酸化について検討した。ROFA 投与 4 時間後から気道上皮、肺胞上皮、肺胞マクロファージの ERK1/2、p38-MAPK、JNK リン酸化が観察され、24 時間後まで持続した。ROFA による MAPK のリン酸化は培養気道上皮細胞に ROFA を曝露しても生じた。ROFA の投与により、肺の上皮細胞やマクロファージにおける MAPK の活性化が示された。

環境省(2007a)は、都市沿道における CAPs の吸入曝露が細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響について、その増悪メカニズムとしてサイトカインやケモカインに及ぼす影響に注目し、検討を行った。ICR 雄性マウスを以下の 4 群に分け、約 5 時間に及ぶ CAPs 曝露実験を行った。平成 15 年度より 18 年度まで、曝露日を変えて同じプロトコルを計 8 回行った。気管内投与直後より CAPs 又は除粒子対照の曝露を開始し、気管内投与の 24 時間後に諸検討を行った。

i. vehicle (対照溶液)気管内投与 + 除粒子対照曝露、ii. 細菌毒素 (4 $\mu\text{g}/\text{body}$) 気管内投与 + 除粒子対照曝露、iii. vehicle (対照溶液) 気管内投与 + CAPs 曝露、iv. 細菌毒素 (4 $\mu\text{g}/\text{body}$) 気管内投与 + CAPs 曝露

その結果、気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞浸潤では、毎実験において細菌毒素の経気道曝露により好中球の有意な増加と好酸球の増加傾向を示した。全 8 回の実験中 6 回で、CAPs 曝露により除粒子対照曝露と比較して好中球数の増加傾向を示し、そのうち 2 回は有意な

差も認められた。炎症性サイトカイン及びケモカインとして、肺組織中のinterleukin (IL) -1β 、macrophage inflammatory protein (MIP) -1α 、monocyte chemoattractant protein (MCP) -1 、keratinocyte chemoattractant (KC) を測定した。細菌毒素の経気道曝露により、これらの炎症性タンパクの増加が認められたが、CAPs 曝露による炎症性タンパクの発現への影響は曝露日によって様々であった。CAPs 構成成分と炎症のパラメーターとの相関においては、好酸球にのみ相関を認めた。以上より、CAPs 曝露はそれ自体で肺に明らかな炎症等の傷害は与えないが、細菌毒素に関連する肺傷害を増悪しうる可能性が示唆された。一方、CAPs 曝露は、細菌毒素との併存で好酸球性炎症を惹起することが示された。また、CAPs 曝露は、肺において細菌毒素で誘発される炎症性サイトカイン、ケモカインの発現を曝露条件によっては増強することが示された。しかしながら、肺での炎症増悪に寄与している CAPs の成分を同定することは出来なかった。

(2) 気道反応性の増加及び喘息の悪化がみられる

Rudell ら(1996)は、アイドリング状態のディーゼル・エンジン (Volvo 1990) の排気筒における粒子捕集が、ろ過していない排気への曝露に比べ、ディーゼル排気で起こる症状や肺機能への影響を減少させるかどうかを評価した。12 人の健康な非喫煙者で、かつ喘息に罹患していない被験者 (男 8 人、女 4 人; 20~37 歳) を 75W 相当の軽運動を 10 分、次いで 10 分間の安静のサイクルを繰り返しながら 1 時間曝露チャンバーで曝露させた。被験者は、3 つの別々の曝露を受けた [空気、ろ過しないディーゼル排気 (粒子数; $2.6 \times 10^6/\text{cm}^3$ 、 NO_2 ; 1.9 ppm、 NO ; 2.7 ppm、 CO ; 27 ppm、総炭化水素; 4.5 ppm、ホルムアルデヒド; $0.4 \text{ mg}/\text{m}^3$) および排気筒に粒子捕集を付けたディーゼル排気]。症状は、曝露中は 10 分毎に、曝露後 30 分に Borg のスケールで記録した。肺機能は、コンピューター化した全身ボディープレチスモグラフで測定した。セラミック・フィルターの気流粒子捕集により、粒子数は 46% 減少したが、他の化合物の濃度はあまり変化しなかった。DE への曝露中の最も顕著な症状は目や鼻の刺激と曝露中の不快な臭いの増加であることが示された。DE への曝露中の肺機能の変化は、気道抵抗 (Raw) と特異的気道抵抗 (sRaw) の両方が有意に増加した。捕集で粒子数は 46% 減少したにも拘わらず、症状や肺機能への影響は有意に減衰しなかった。結論として、ディーゼル排気への曝露は症状や気管支収縮を引き起こし、これらは粒子の捕集で有意に減少しなかったと報告している。

Salvi ら(1999)は、15 人の健康な非喫煙者の志願者 (男 11 人、女 4 人; 平均年齢 24 歳; 21~28 歳) を間欠的運動下 (分時換気量が $20 \text{ L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分運動、15 分安静の繰り返し) で 1 時間、空気および希釈された DE に曝露した。DE は、Volvo TD45-1991 エンジンで発生させた。曝露は、 PM_{10} 濃度が $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ になるようにした。各成分濃度は、 NO_2 : 1.6 ppm、 NO : 4.5 ppm、 CO : 7.5 ppm、総炭化水素: 4.3 ppm、ホルムアルデヒド: $0.26 \text{ mg}/\text{m}^3$ 、浮遊粒子状物質: $4.3 \times 10^6/\text{cm}^3$ であった。各曝露の前後に肺機能 (PEFR、FVC、 FEV_1 、 $\text{FEF}_{25-75\%}$) を測定した。肺の炎症性反応を調べるために、採血および気道洗浄液と気管支粘膜の生検を得るために気管支鏡を各曝露後の 6 時間目に行った。標準的な肺機能検査は DE 曝露後変化しなかったが、気道洗浄液では、ヒスタミンと fibronectin の増加と共に好中球と B リンパ球の有意な増加がみられた。DE 曝露後 6 時間後に得られた気管支生検は、気管支組織における LFA-1+ 細胞の数の増加と共に、内皮接着分子である ICAM-1 と VCAM-1 の

upregulation と共に好中球、マスト細胞、CD4+と CD8+ T リンパ球の有意な増加を示した。好中球と血小板の有意な増加が、DE 曝露後末梢血で観察された。この研究は、高濃度で、急性の短期間の DE 曝露は、健康な志願者の標準的な肺機能測定では過小評価されるが、顕著な全身性および肺の炎症反応をひき起こすことを実証していると述べている。

Nordenhäll ら (2001) は、喘息患者の気道の過反応性、肺機能および気道炎症への影響を評価することにより、DE への短期間曝露の影響を調べた。被験者は、14 人の非喫煙者のアトピー性喘息患者 (男女各々 7 人、平均年齢 26 歳 : 22~57 歳) で、コルチコステロイドの継続的な吸入治療および短期間作用の β_2 作動薬を吸入している安定した状態にあった。DE は Volvo TD45-1991 エンジンで発生させ、曝露チャンパー内に入る DE は、50%カットオフの空気力学径が $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) の粒子濃度が $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (主要都市の交通頻繁な道路でみられる高濃度を代表) になるようにし、 NO_2 濃度は 1.2 ppm であった。各被験者は、DE と空気に別々に間欠的運動下 (分時換気量が $20\text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 1 時間曝露された。DE への曝露後 24 時間では、空気に比べメサコリンに対する過反応性の程度が有意に増加した。また、気道抵抗と喀痰中の IL-6 の有意な増加がみられた。この研究は、高レベルの DE への短期間曝露は、コルチコステロイドの吸入療法を受けていても、喘息患者の気道における悪影響に関連していることを示している。気道反応性増加は、粒子状物質への曝露に続いて喘息の増悪という疫学的知見との重要な関連を提供していると述べている。

Holgate ら (2003b) は、DEP への曝露による臨床的感受性が、急性の好中球性炎症あるいはアレルギー性気道炎症の増加で説明できるかどうかを、15 人の非喫煙者の喘息グループ (男 10 人、女 5 人、平均年齢 30 歳 ; 23~52 歳) と 25 人の非喫煙者のコントロール・グループ (男 16 人、女 9 人、平均年齢 25 歳 ; 19~42 歳) について調べた。DE は、Volvo TDIF-1990 で発生させ、曝露チャンパー内の平均濃度は PM_{10} : $108.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、CO : 1.7 ppm、NO : 0.6 ppm、 NO_2 : 0.2 ppm、HC : 1.4 ppm、HCHO : $43.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。被験者は間欠的運動下 (分時換気量が $15\sim 20 \text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 2 時間曝露され、曝露前後に鼻洗浄液採集、曝露終了後 6 時間目に気管支鏡を行った。コントロール・グループおよび喘息グループでは、気道抵抗の有意な増加がみられた。この増加は、コントロール・グループでは気管支洗浄液 (BW) 中の好中球の増加および BAL 中のリンパ球の増加と関連していた。コントロール・グループの気管支生検組織では、内皮接着分子 P-selectin の upregulation がみられ、また BALF 中の IL-8 タンパク質濃度および IL-8 mRNA 遺伝子発現量の有意な増加がみられた。末梢血中の赤血球や白血球数には変化がみられなかった。喘息グループの気道粘膜の生検組織は、空気曝露後に好酸球性気道炎症がみられたが、DE は、気道の好中球、好酸球やその他の炎症性細胞、またサイトカインや炎症のメディエーターの有意な変化をもたらさなかった。唯一の明確な影響は、生検組織の IL-10 染色で有意な増加がみられたことである。この研究は、あまり高くない濃度の DE であっても、コントロール被験者の気道に明白な炎症効果を及ぼすこと、IL-8 産生に直接影響し内皮接着分子の upregulation を起こすことを示している。DE に対する喘息患者の感受性が増加するという臨床報告があるが、この感受性は好中球性の炎症や既存の喘息の気道炎症の悪化によるものではなさそうである。喘息患者で DE への曝露後 IL-10 の増加がみられたことは、気道炎症に何らかの影響を引き起こすかもしれないことを示唆していると述べてい

る。

Stenfors ら (2004) は、25 人の健康な非アトピー性の者 (男 16 人、女 9 人；平均年齢 24 歳；19~42 歳) および 15 人の β_2 作動薬の吸入のみしている軽症の喘息患者 (女 5 人；平均年齢 30 歳；22~52 歳) を大気レベルの DE [10 μ m の空気力学径の 50%カット-オフの粒子 (PM₁₀) 濃度が 108 μ g/m³ (94~124)、CO は 1.7 ppm (0.6~2.5)、NO₂ は 0.2 ppm (0.1~0.3)] に中等度の間欠的運動下 (分時換気量が 15-20L/min/m² の負荷で 15 分間の運動と安静の繰り返し) で 2 時間曝露し、肺機能と気道炎症を評価した。DE は、Volvo のディーゼル・エンジンで発生させた。肺機能は Body-plethysmograph で sRaw (特異的気道抵抗)、FVC および FEV₁ を測定した。曝露後、6 時間目に気管支鏡を行い、気管支生検、気管支洗浄液 (BW) および BALF を採集した。粘膜生検については、特異的細胞マーカー、血管内皮接着分子および細胞内接着分子、サイトカインや転写因子を測定した。BW および BALF については、細胞分画、アルブミン、総タンパク質、IL-6、IL-8、GM-CSF、methyl-histamine、MPO および ECP を測定した。DE 曝露後、FEV₁ や FVC は、どのグループも影響がみられなかった。sRaw は、空気曝露に比し、健康者では 4.1% (p<0.01)、喘息患者では 6.5% (p<0.01) の増加を示したが、グループ間では反応の大きさに統計的な差はみられなかった。健康な被験者は、DE 曝露後、気道炎症を起こし、気道洗浄液における IL-6 と IL-8 タンパク質の増加、気管支粘膜における IL-8 mRNA の増加と内皮の接着分子 (P-selectin と VCAM-1) の upregulation を伴った気道の好中球増加とリンパ球増加を示した。喘息患者では、DE 曝露は、好中球性反応を引き起こしたり、既存の好酸球性気道炎症を増悪させたりすることはなかった。サイトカインの IL-10 の上皮染色は、喘息グループでは DE 後に増加していた。DE による IL-10 の誘発は、喘息患者の気道炎症の増強に寄与するかもしれない。現在の WHO の大気質基準以下の濃度で 50%カット-オフの空気力学径が 10 μ m の粒子が、健康者と喘息患者で異なる影響がみられることが、この研究で観察された。これらの異なる反応の意味を解明するには更に研究が必要であると述べている。

Diaz-Sanchez ら (1994) は、11 人の健康な非喫煙者 (男 6 人、女 5 人；23~48 歳) に対し、DEP の 1.0、0.3、0.15 または 0 mg を 200 μ L の食塩水に浮遊させたものの何れかを鼻腔内に噴霧し、経時的に鼻腔洗浄を行い洗浄液中の各種免疫グロブリンおよびその遺伝子発現を解析した。DEP は、light-duty ディーゼル乗用車の排気を捕集したもので、全ての被験者は DEP の 4 つの量 (1.0、0.3、0.15、0 mg) の全てに曝露された。その結果、0.3 mg の DEP 投与後 4 日には IgE 濃度の有意な増加が認められたが、0.15 mg および 1.0 mg DEP 投与ではみられなかった。また、0.3 mg DEP 投与後 4 日目には IgE の増加がみられたが、7 日目と 10 日目にはみられなかった。0.3 mg の DEP は、ロサンジェルスの大気の 24 時間吸入量に相当する。しかし、IgG、IgA、IgM、アルブミンは不変であった。0.3 mg DEP 投与では、洗浄液中の IgE 産生細胞の数は 20 倍以上に増加し、また遺伝子レベルでは異なる IgE タンパク質をコードする 5 種類の epsilon mRNA (CH4-M1'-M2、CH4-M2'、CH4-M2''、CH4-S、CH4'-CH5) のうち CH4'-CH5 を除いた全ての発現が亢進した。これらの所見は、DEP が、ヒトの B 細胞分化を増強し、IgE 抗体の産生を増強させることによってアレルギー性疾患の反応を増大させることを示唆していると述べている。

Diaz-Sanchez ら (1996) は、健康な非喫煙者 14 人 (男 8 人、女 6 人；23~48 歳) に対し DEP

0.15 mg を 200 μ L の食塩水に浮遊したものを鼻腔内に噴霧し、総量 0.3 mg の DEP を投与した。DEP は、light-duty のディーゼル乗用車の排気から採集した。18 時間後に鼻腔洗浄を行い洗浄液中のサイトカインの mRNA およびタンパク質の発現を検討した。その結果、DEP 投与前の被験者の鼻洗浄液中の細胞から、IFN- γ 、IL-2 および IL-13 の mRNA が検出できたが、DEP 投与後では、細胞は、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13 および IFN- γ の mRNA を産生し、全てのサイトカイン mRNA レベルが増加した。また洗浄液中の IgE 濃度の有意な上昇もみられた。したがって、DEP への曝露後のこれらのサイトカインの発現の増加が、IgE 産生の増強に寄与し、アレルギー性呼吸器疾患の増加に関連している可能性があると述べている。

Diaz-Sanchez ら(1997)は、13 人のブタクサの皮内テストで陽性の非喫煙者(男 6 人、女 7 人: 21~49 歳)に対して DEP (0.30 mg) とブタクサ抗原の両者を組み合わせて、ヒトの鼻内にチャレンジを行い、局所の液性免疫に与える影響を検討した。DEP は、light-duty のディーゼル乗用車の排気から採集した。ブタクサ抗原単独のチャレンジと比較して、DEP とブタクサ抗原の組み合わせは抗原特異的 IgE の著明な増加をもたらしたが、総 IgE や IgE 分泌細胞数は変化しなかった。総 IgG4 や抗原特異的 IgG4 も増加したが、総 IgG は変化しなかった。両者の共同作用は alternative splicing による epsilon mRNA (CH4-M1'-M2、CH4-M2'、CH4-M2'', CH4-S、CH4'-CH5) のレベルにおいても CH4'-CH5 を除いて観察された。さらにブタクサ抗原単独では、低レベルのサイトカイン mRNA が検出されすぎなかったが、ブタクサ抗原と DEP の組み合わせは Th1 タイプのサイトカイン (IFN- γ や IL-2) の表現の減少をもたらしたが、他のサイトカイン (IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13) の mRNA の表現の増加をもたらした。DEP とアレルゲン曝露の相乗作用はアレルゲン誘導性の呼吸器疾患の増加を示唆する重要な所見と考えられると述べている。

Fujieda ら(1998)は、8 人の健康な非喫煙者(男 4 人、女 4 人: 21~36 歳: 全員がブタクサの皮内反応テストが陽性)全員に、異なった日に、ブタクサ・アレルゲンのみ、DEP のみ、および DEP+ブタクサ・アレルゲンのチャレンジを受けさせた。被験者は、ブタクサ・アレルゲン (Amb a I) を 10 AU から始めて即時アレルギー症状がでるまで 10 倍ずつ濃度をあげるか、1,000 AU まで鼻にスプレーすることによりチャレンジした。8 週間あけて、DEP (0.3 mg) とブタクサ・アレルゲンの両方あるいは DEP のみに、無作為にチャレンジされた。100 μ l の食塩水に DEP (0.15 mg) を含んだものを鼻孔にスプレーし、総量 0.3 mg の DEP を曝露した。各被験者は、チャレンジ前の三つの異なった日と、チャレンジ後 4 日目に 5 ml の生理食塩水で鼻洗浄を行い、鼻洗浄液について分析を行った。新しい nested polymerase chain reaction-based approach (ポリメラーゼ連鎖反応に基づいたアプローチ) による deleted switch circular DNA (switch circles) の検出を、IgE isotype switching が起こっているという明確な分子的証拠として採用した。DEP にブタクサ抗原を加えてヒトの鼻にチャレンジすると、局所的な IgE 産生を増強し、局所的なサイトカイン産生を刺激し、ブタクサ・アレルゲンに対する粘膜の IgE 抗体を顕著に増加させることが示された。DEP+ブタクサ・アレルゲンのチャレンジ後 4 日目に、鼻洗浄細胞中に μ から ϵ への switching を示す deleted switch circular DNA (S_{ϵ}/S_{μ}) のクローンを検出した。DEP のみあるいはブタクサ・アレルゲンのみでのチャレンジでは、鼻洗浄細胞中に switch circular DNA は検出されなかった。これらの結果は、DEP とブタクサ・アレルゲンの粘膜刺激の複合は、

ブタクサ・アレルギーのヒトで in vivo の IgE isotype への switching を引き起こしうることを示している。これらの結果は、ヒトでの in vivo の IgE isotype の switching を直接的に初めて示したものであると述べている。

Diaz-Sanchez ら(2000a)は、DEP がヒトの鼻粘膜細胞による CC ケモカインの産生に影響を与えるかどうかを、10 人の健康な非喫煙者（男 3 人、女 7 人：23～31 歳）の鼻腔に DEP を曝露して調べた。DEP は、light-duty のディーゼル乗用車から得られたもので、0.3 mg を 200 μ l の食塩水に含めたものをスプレーして投与した。投与後、2、4、6 および 24 時間後の鼻洗浄液中の RANTES、MIP-1 α および MCP-3 レベルは、経時的に有意に上昇し、6 時間または 24 時間後に最高値に達した。反対に DEP は、eotaxin レベルを増強させなかったことから、DEP は、全ての CC ケモカインに一樣に影響を与えていないことを示していた。DEP は、また鼻洗浄液中の総細胞数を増加させ、リンパ球、単球、マクロファージや好中球の増加も観察されたが、好酸球数は変化しなかった。ECP タンパク質レベルは有意に増加した。DEP の曝露後に特定の鼻のケモカイン表現が上昇することは、アレルゲンがなくても、炎症、細胞浸潤や IgE の増加に関与しているようであると述べている。

Diaz-Sanchez ら(2000b)は、プリック・テストでハウスダスト・ダニに陽性の 11 人の非喫煙者（男 6 人、女 5 人：21～55 歳）に、既知の量の *Dermatophagoides pteronyssinus* (Der p 1) を含むハウスダスト・ダニの抽出物を鼻にスプレーして、症状スコア（鼻搔痒感、鼻閉、鼻汁、くしゃみ）が 5 になるまで増量した。その後、被験者は、300 μ L の食塩水に 0.3 mg の DEP (Isuzu のディーゼル・エンジンの排気から捕集したもの) または CB を同様に含むもの、および 300 μ L の食塩水の何れかを鼻に噴霧し、次いでダスト・ダニ抗原で症状スコア 5 が得られるアレルゲン量を調べた。その結果、アレルゲンのみの症状スコアは 3.7、DEP のみは症状を誘発しなかったが、DEP+アレルゲンはスコアが 9.9、CB では症状スコアは増強しなかった。鼻洗浄液中のヒスタミン濃度は、アレルゲンのみに比し、DEP+アレルゲンでは約 3 倍近く増加した。DEP 中の化学物質がマスト細胞に直接作用するかどうかを調べるために、マウスの肥満細胞系 (MMC-34) を用いて、高親和性 IgE 受容体の IgE/ α -IgE クロスリンクのもとで、DEP の溶解性有機化学物質と一緒に培養すると、 β -hexosaminidase とヒスタミンの放出が増強され、DEP 濃度との間に量-反応関係がみられた。これらの結果は、DEP への曝露はマスト細胞の脱顆粒を増強することによりアレルゲンに対する臨床症状の重症度を増強させることを示唆していると述べている。

Hauser ら(2003)は、5 人のアトピー（男 2 人、女 3 人：23～39 歳）と 3 人の非アトピー（男 2 人、女 1 人：27～38 歳）の 8 人の被験者に対し、鼻マスクを介して以下の曝露を行った。即ち、residual oil fly ash (ROFA) 粒子曝露の後にアレルゲンなしのプラセボへの曝露 (session A)、清浄空気曝露の後にアレルゲン曝露 (session B)、および ROFA 曝露の後にアレルゲンの曝露 (session C)。各曝露は、ROFA (目標濃度は 1.0 mg/m³ だったが、実際は 0.96 μ g/m³) または清浄空気への安静下で 1 時間の鼻マスクを介しての鼻曝露に続けて、3 時間後に穀物花粉かプラセボのチャレンジを受けた。ROFA は、ボストン発電所から入手したものを Wright Dust Feed Aerosol Generator を用いて再浮遊させ、2.5 μ m 以上の粒子を除去するために Harvard Marple Impactor を通過させた。MMD は、1.55 μ m であった。花粉アレルゲンは、6 種類の吸入性アレルゲン [*Dermatophagoides pteronyssinus* (ダニ

抗原)、mixed grasses、ragweed (ブタクサ)、birch tree (カバノキ)、oak tree (オーク)、*Alternaria* (アルテルナリア属のカビの一種)] で皮膚テストを行い、一つ以上に陽性であれば、アトピーとした。この皮膚テストの結果をもとにチャレンジに使用する空中アレルゲンを決めた。鼻洗浄が、粒子または清浄空気曝露前に、そして曝露直後、および、花粉チャレンジ後 4、18、および 42 時間後に行われた。各鼻洗浄液について、細胞数、分画、およびサイトカインの測定を行った。粒子に続いてアレルゲンが投与されたとき、花粉チャレンジ直後の鼻洗浄液中の白血球と好中球の有意な増強 (それぞれ、 29.7×10^3 細胞/mL と 25.4×10^3 細胞/mL) が、アトピーではみられたが、非アトピーの被験者ではみられなかった。これは、それぞれ、143%と 130%の増強を示している。IL-4 の増強反応は、3.23 pg/mL ($p=0.06$) で 395%の増強であった。アトピー性の被験者では、清浄空気に比し粒子がアレルゲン曝露に先行する場合には反応が増強される証拠があると述べている。

Tunnicliffe ら (2001) は、粒子状 H_2SO_4 への曝露の grass 花粉アレルゲン (Cocksfoot and Timothy, Bayer) に対する初期の喘息反応への影響を 13 人の軽症の喘息の成人患者 (男 4 人、女 9 人: 17~54 歳) について調べた。各被験者について FEV_1 が 15%低下するアレルゲンの誘発量 (PD15) を確立した後、被験者は、頭部ドーム供給システムを通して、空気、 $100 \mu g/m^3$ または $1,000 \mu g/m^3$ H_2SO_4 (ネブライザーで発生: MMD 300 nm) に 1 時間曝露された後 14 時間目に、決められた量のアレルゲン・チャレンジ (PD15) を受けた。10 人の被験者が研究を終了した。空気、 $100 \mu g/m^3$ 、および $1,000 \mu g/m^3$ H_2SO_4 曝露後の初期喘息反応の平均値 (チャレンジ後最初の 2 時間間の FEV_1 の最大のパーセンテージ変化) は、それぞれ、-14.1%、-16.7%、および -18.4% であった。 $1,000 \mu g/m^3$ H_2SO_4 と空気との差 [差の平均: -4.3%、95%信頼区間 (CI: -1.2~-7.4%、 $p=0.013$)] は有意であった。空気と $100 \mu g/m^3$ H_2SO_4 との間の差 [差の平均: -2.6%、95%信頼区間 (CI: 0.0~-5.3%、 $p=0.051$)] は有意に近かった。これらの結果は、少なくとも高濃度では、硫酸は、影響は限定されているが、grass 花粉アレルゲンに対する軽症喘息患者に対する初期喘息反応を強めることができることを示唆していると述べている。

Muranaka ら (1986) は、抗原と DEP の混合物を腹腔内に投与したマウスの方が、抗原のみを投与したマウスに比べ抗原特異 IgE 抗体の産生が高まることを報告した。

Miyabara ら (1998c) は好酸球浸潤と IgG 抗体との関連を調べるために、IgG 抗体産生能が高い C3H/He マウス (IgG high responder) と低い BALB/c マウス (IgG low responder) に 0.025mg の DEP を毎週 1 回ずつ 5 週間にわたって気管内投与し、この間に 3 週間に 1 回ずつ $1 \mu g$ の OVA を気管内投与し、気道の炎症反応を調べた。OVA 特異的 IgG1 抗体産生は C3H/He マウスで BALB/c マウスより 30 倍高かった。気道粘膜下への好酸球浸潤は両系統マウスとも OVA+DEP 群でのみ顕著に増加しているが、C3H/He マウスの値は BALB/c マウスの値より 4.6 倍高かった。リンパ球浸潤は両系統間で差はみられなかったが、OVA+DEP 群の粘液産生細胞の増生は C3H/He マウスが BALB/c マウスより 18 倍高かった。呼吸抵抗も C3H/He マウスの OVA+DEP 群でのみ 2~3 倍高く有意に増加したが、BALB/c マウスの呼吸抵抗は OVA 群、DEP 群、OVA+DEP 群とも対照群と比べて全く変化していなかった。炎症性サイトカインの IL-5 と IL-2 も C3H/He マウスの値が BALB/c マウスの値より 20 倍高かった。これらの結果から、好酸球性気道炎症は IgG1 との関連が深く、かつ IL-5 と IL-2 が気道炎症の重要な因子であることが示唆されている。

Miyabara ら(1998a)はC3H/He マウス(雄)に、人工物質(ヒトが体内に摂取することはない、実験でのみ用いる物質)である水酸化アルミニウムゲルの使用をやめ、 $10\mu\text{g}$ の OVA のみを腹腔内注射して感作し、その後 12 時間/日、7 日/週、12 週間にわたって DEP 濃度として $1\text{mg}/\text{m}^3$ 曝露群あるいは $3\text{mg}/\text{m}^3$ 曝露群の DE を吸入させ、さらに、3 週間に 1 回ずつ 1%OVA から発生させたミストを 6 分間吸入させ、呼吸抵抗と気道炎症指標の変化を調べた。BALF 中の好酸球数、好中球数ともに DEP 濃度に依存して増加した。気道への好酸球の浸潤は $1\text{mg}/\text{m}^3$ と $3\text{mg}/\text{m}^3$ で OVA ミストのみの群の 2 倍、4.7 倍と有意に増加し、呼吸抵抗も DEP 濃度に依存して 2 倍、4.4 倍と上昇した。マスト細胞数は極めて少ないが、その増加率は好酸球の増加率に類似していた。粘液産生細胞の増生はそれぞれ OVA ミスト群の 2.8 倍と 6.6 倍であった。血清中の IgE と IgG1 の抗体価は OVA 群の値より DE 吸入群で 30 倍以上高く、かつ $1\text{mg}/\text{m}^3$ 群のほうが $3\text{mg}/\text{m}^3$ 群の値より増加した。これらの結果から、水酸化アルミニウムゲル投与による感作ではなくても C3H/HeN マウスでは OVA+DE 群で IgE と IgG1 がともに増加し、かつ好酸球の浸潤や粘液産生細胞の増生が起こることを示している。

Miyabara ら(1998b)は C3H/He マウス(雄 6 週齢)に OVA を含有する水酸化アルミニウムゲル 1mg を腹腔内注射して感作した後、12 時間/日、7 日/週、5 週間にわたって DEP 濃度として $3\text{mg}/\text{m}^3$ の DE を吸入させ、さらに、3 週間に 1 回ずつ、1%OVA 溶液から発生させたミストを 15 分間ずつ吸入させ、呼吸抵抗と気道炎症指標ならびに各種サイトカイン濃度の変化を調べた。BALF 中の好酸球数は OVA+DE 曝露群でのみ増加(1×10^3 個/総 BALF)し、好中球数は DE 曝露群と OVA+DE 曝露群で顕著に増加($10\sim 20\times 10^4$ 個/総 BALF)した。OVA+DE 曝露群の気道粘膜下への好酸球の浸潤は対照群の 80 倍で、OVA 群の 4.4 倍に増加し、粘液産生細胞の増生は OVA+DE 曝露群と OVA 曝露群で対照群の各々 66 倍と 6 倍に増加した。呼吸抵抗も OVA+DE 曝露群と OVA 群は対照群のそれぞれ 2.4 倍、1.5 倍へと上昇した。血清中の IgE と IgG1 の抗体価は OVA 群より OVA+DE 群で顕著に増加した。サイトカイン類は IL-5、IL-4、GM-CSF および IL-2 などが OVA+DE 群で OVA 群より有意に増加し、特に IL-5 の増加が顕著であった。また、IL-5 は IL-2 および気道の好酸球浸潤レベルと、IL-2 は IgE および IgG1 抗体価との間に有意な相関が認められた。

Ichinose ら(1998)は ICR マウス(雄)に 12 時間/日、7 日/週、34 週間にわたって、DEP 濃度として $0\text{mg}/\text{m}^3$ 、 $0.3\text{mg}/\text{m}^3$ 、 $1.0\text{mg}/\text{m}^3$ および $3.0\text{mg}/\text{m}^3$ の DE を吸入させ、この間、16 週目に $10\mu\text{g}$ OVA を腹腔内注射して感作し、その後 3 週間ごとに 1%OVA のミストを 6 分間吸入させ、気道炎症指標の変化を 6 段階(−、±、+、++、+++、++++)の病理学的スコアにより調査して、気道粘膜下への好酸球浸潤と粘液産生細胞の増生は OVA+DE 群でのみ DEP 濃度に依存して増加し、DEP 濃度が $1.0\text{mg}/\text{m}^3$ 以上で OVA ミストのみを吸わせた群に比べて有意に増加した。また、DE だけを吸入させた群では上記 2 つの指標は全く増加しなかった。一方、気道粘膜下へのリンパ球の浸潤、気道上皮の肥大ならびに無繊毛上皮の増殖などの指標は DE のみの群でも濃度に依存して $1\text{mg}/\text{m}^3$ 以上で有意に増加したが、OVA+DE 群ではさらに増加する傾向にあり、無繊毛上皮増殖と上皮細胞肥大は対照群に比べて $0.3\text{mg}/\text{m}^3$ でも有意に増加したことが認められた。

Hashimoto ら(2001)はアレルギー性喘息におよぼす DE の影響を明らかにするために、モ

ルモットに $3\text{mg}/\text{m}^3$ の DE を 12 時間/日、8 週間吸入し、OVA を含有する水酸化アルミニウムゲルで感作した動物としない動物の気道過敏性の 2 相性変化を調べた。その結果、OVA の吸入チャレンジによって、DE 非曝露群に比べて、DE 曝露群では即時型気道過敏性 (IAR) と遅発型気道過敏性 (LAR) とともに増悪した。気道粘液も、即時型気道過敏性反応時に、DE 曝露感作動物で顕著に蓄積していた。BALF 中の好酸球数と粘液の指標であるシアル酸濃度もまた、DE 非曝露動物に比べて、DE 曝露感作動物で有意に増加していた。遅発型気道過敏性反応時には、気道上皮の細胞間隙が、DE 曝露感作群で、好酸球の顕著な浸潤によって拡張されていることを見いだした。また、BALF 中のアルブミン濃度も有意に増加していた。これらの結果から、DE 曝露が即時型気道過敏性反応時 (IAR) には、粘液の過剰分泌と好酸球性炎症を増強し、DE 曝露が遅発型気道過敏性反応時 (LAR) には、気道の透過性や気道炎症を増強し、モルモットのアレルゲン誘発性気道過敏性を増悪する作用があるとした。

Ohta ら (1999) は、A/J マウスおよび C57BL/6 マウスを用いて、DEP (粒径: $0.4\ \mu\text{m}$ 、曝露濃度: $0.25\text{mg}/\text{ml}$ DEP in $40\ \mu\text{l}$ saline) の影響を調べた。DEP の鼻腔内投与により、A/J 群ではアセチルコリンに対する気道反応性が上昇した。C57BL/6 群では DEP 投与後 2 週間後に気道反応性の上昇が確認された。これらの反応性の上昇は 13 日以上持続し、M3 受容体を介しアドレナリン $\beta 2$ 作動薬によって抑制された。GM-CSF 抗体投与によりこれらの気道反応性の上昇は抑制された。IL-4 に対する抗体においても弱いながらも同様の現象がみられた。また DEP 投与後では BALF 中のマクロファージ数が上昇した。さらに DEP 投与は上皮細胞のクララ細胞への置換を誘発したが、これらも GM-CSF 抗体の投与により抑制された。さらに DEP は肺における GM-CSF の mRNA 発現を高めることが示された。

Takano ら (1997) は ICR マウス (雄) 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 OVA $1\ \mu\text{g}$ を気管内投与した実験を行った。その結果、OVA+DEP 群のマウスの気道粘膜下への好酸球浸潤は対照 (溶媒) 群の 330 倍、OVA 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、好酸球を活性化するサイトカインである IL-5 は OVA+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わらなかった。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 OVA+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、結合して、好酸球を活性化するというメカニズムで生じた可能性が示唆されている。

Takano ら (1998a) は、上記の Ichinose ら (1998) と同様の実験条件で、DE 吸入期間をさらに 6 週間延長して 40 週間の DE 吸入を行い、気道炎症指標、呼吸抵抗、サイトカイン産生等を調べた。気道粘膜下への好酸球浸潤、粘液産生細胞の増生および呼吸抵抗は OVA+DE 群でのみ増加し、 $3.0\text{mg}/\text{m}^3$ 群で有意差を認めた。IL-5 産生も DE 濃度に依存して増加し、 $3.0\text{mg}/\text{m}^3$ 濃度の OVA+DE 群で OVA のみの群の 3.3 倍に有意に増加した。GM-CSF も同様の傾向で増加し、 $3.0\text{mg}/\text{m}^3$ 群で OVA のみの群の 60% 強の、有意な増加を示した。IgG1 は 10 万タ

イター以上に、IgE は 10 タイター前後に増加したが、DEP 濃度の違いによる変化は全く認められなかった。

Takano ら(1998b)は上記と同様の実験系で呼吸抵抗の変化を調べ、OVA+DEP 群でのみ有意に亢進したこと、また OVA 群、DEP 群では対照群との間に全く相違がないことを認め、DEP は OVA による、呼吸抵抗に及ぼす影響を亢進し増強させる作用があることを示した。

Ichinose ら(1997)は、DEP 濃度として 0、0.3、1.0 および 3.0mg/m³ の DE を ICR マウス(雄)に 8 ヶ月間吸入させる実験を行い、アレルゲン非吸入時には気道粘膜下への好酸球の浸潤や粘液産生細胞の増生をどの濃度群でも認めなかったと報告している。一方、DE 曝露では、気道粘膜下へのリンパ球の浸潤や無繊毛上皮細胞の増殖や肥大が、1.0mg/m³ 以上の濃度群で対照群より有意に増強されているとした。なお、この検討は病理学的変化を 6 段階に点数化し、ANOVA 解析で群間の有意差検定を行った。

Ichinose ら(2004)は、ハウスダストの抗原となるダニ(*Dermatophagoides farinae*, Der f) 投与による肺炎症に対して、DEP の気管内投与の影響を検討した。Der f : 1 μ g および DEP : 50 μ g を 2 週間隔で 4 回投与した。各マウスに Der f を与えた群では、肺組織に好酸球とリンパ球の浸潤がみられ、好酸球の浸潤程度は BALB/c マウス < ICR マウス < C3H/He マウスであった。肺組織の eotaxin と IL-5 は好酸球浸潤の程度と相関していた。Der f+DEP 投与群では好酸球浸潤が増加し杯細胞の増加がみられ、eotaxin ならびに IL-5 の発現が増加した。また Der f 特異的 IgG₁ 量は BALB/c マウス < ICR マウス < C3H/He マウスの順であった。C3H/He マウスでは DEP によるアジュバント効果が認められた。これらの結果からマウス種の違いによる好酸球性炎症の程度の違いは肺局所の IL-5、eotaxin の発現の違いによると思われた。DEP による反応増強は局所のサイトカインを介して起こっている可能性がある。抗原特異的 IgG₁ は DEP により増強されるアレルギー喘息の病因に重要であると考えられたと述べている。

Takafuji ら(1987)は、マウスに種々の量の DEP(1、5、25 μ g)と OVA(0.025、0.25、2.5、25 μ g)の混合物を点鼻投与し、最少の組み合わせである DEP 1 μ g+OVA 0.25 μ g で OVA 特異 IgE 抗体の産生が亢進したことから DEP のアジュバント作用の閾値を示唆する結果を報告した。

Kobayashi と Ito(1995)は、DEP が鼻部過敏反応に及ぼす影響を調べるため Hartley モルモット(雄)に PBS あるいは濃度が 1.0、10.0 または 20.0 mg/kg(体重)の DEP を 300 μ L/kg(体重)鼻腔投与し、その後 1.0 mM ヒスタミンを 10 分間曝露して鼻腔内圧、鼻汁分泌を測定した。また血管透過性を皮膚で見た。その結果、DEP、ヒスタミンの濃度に依存していずれも増加した。このことから DEP によってヒスタミンへの感受性が高まり、過敏反応が引き起こされることがわかった。

Ohyama ら(1998)は、OVA に比べより現実的なカビ抗原(30 μ g カビ抗原+100 μ g DEP)を用いて Fujimaki らと同様な実験を行い、DEP がカビ抗原に対してもアジュバント作用を有することを示した。

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 μg/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 μg/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。

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 0.15~2.5 μm (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 (63.3~1,568.6 μg/m³) と低用量 (1.6~133.1 μg/m³) 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 O₃ 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 μg/m³ につき 0.86% 上昇)。② 300~500 μg/m³ CAPs と O₃ 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+O₃ 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。

Hamada ら (1999) は、マウス喘息モデルにおける ROFA 曝露の曝露時間 30 分/日の急性影響を調べた。ネブライザー曝露の曝露濃度は 50mg/ml。新生マウスの生後 3、7 日に OVA (5 μg) を含有する水酸化アルミニウムゲル [Al(OH)₃] (1 mg) を腹腔内投与した。1 週間後にアレルゲン (3% OVA in PBS、10 分/日、生後 14~16 日) をネブライザー投与した。その結果、処理マウスでは、メサコリンに対する気道過敏性の上昇、BALF 中の好酸球増加、気道の組織学的炎症像、抗 OVA IgE 増加を認めた。次にこの喘息のモデル動物を用いて、生後 15 日に OVA の代わりに ROFA 溶出液 (supernatant of 50 mg/ml、30 分) を曝露すると、気道過敏性と炎症を認めた。なお、OVA 感作をしていないマウスでは ROFA 溶出液曝露による変化はなかった。感作マウスにおける ROFA による変化は抗酸化物質である DMTU (3mg/kg 個体、*i. p.*) により抑えられた。

Lambert ら (2000) は、ハウスダストの抗原となるダニをアレルゲンとして使用し、これによる呼吸器・免疫影響に ROFA やそれに含まれる金属が及ぼす影響を検討した。用いた粒子は ROFA および ROFA に含まれる金属の水溶液で、ROFA の粒径は 1.95 μm であった。投与量

は、①生理食塩水：0.3ml、②ROFA：1mg、③NiSO₄：105.12 μg、④FeSO₄：58.49 μg、⑤ VSO₄：98.2 μg、⑥金属混合：Ni+Fe+Vであった。抗原特異的 IgE 産生は、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 により増悪した。BALF 所見では、好酸球浸潤は ROFA と Fe により増悪した。肺における遺伝子発現に関しては、好酸球の活性化に関わる IL-5 は ROFA、Ni、V で増加が認められた。

Steerenberg ら (2005) は、OVA 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調べた。5 都市で採取した CAPs (coarse、fine) を曝露し、対照群：NaCl、OVA、OVA+オタワ標準粉じん (EHC-93) を曝露した。投与パターンは、OVA+PM により感作 (0 日、14 日、9mg/ml、450 μg PM/個体) 後、35、38、41 日に OVA でチャレンジし、42 日目に殺処分、観察した。その結果、ウッチ (Lodz、ポーランド)、ローマ、オスロ、アムステルダム の順にアジュバント効果が高いことが示された。また、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された。

Harkema ら (2004) は OVA で感作してアレルギー炎症を誘導しておいた Brown Norway (BN) ラットへの CAPs (81~755 μg/m³)、10 時間/日、5 日間曝露 (9 月実施) において、気道粘液産生と気管支炎の増加を認めた。7 月の曝露 (16~895 μg/m³) では OVA 感作したラットへの影響は少なかった。9 月の曝露による影響には、人間活動起源の La、V、S などを曝露したラットで多かったことから、これらの組成による影響が疑われた。次に、CAPs 中の原因物質を探るため、9 月の曝露で集めた粒子を可溶性、難溶性画分にわけ、OVA 感作した BN ラットに気管内投与して炎症増悪と物質との関連について調べたが、全身曝露でみられた結果が再現できず、同定はできなかった。以上の結果から、9 月に曝露した CAPs では正常ラットへの悪影響はみられなかったと報告している。しかし、喘息モデルのラットでは気道粘液産生や気管支炎の増悪がみられていることから、デトロイトの南西部の粒子中に重量濃度に依存しない喘息の悪化にかかわる粒子の存在、及び沈着が明らかにされたものと考えられる。

Alessandrini ら (2006) は、BALB/c マウスを用いて超微小カーボン粒子のアレルギー性気道炎症への影響を調べた。曝露濃度は、119、332、526 μg/m³ (平均) であった。カーボン粒子の曝露時間は 24 時間であるが、抗原感作とのタイミングを検討し、その影響メカニズムを解析した。その結果、最終の抗原感作より 24 時間前、及び 4 日間前にカーボン粒子を曝露した群でより炎症反応やサイトカイン産生が増強しており、抗原感作後の曝露では炎症反応の遅れやサイトカイン産生の低下がみられた。抗原感作前のカーボン粒子曝露は、強力なアジュバント効果を生じることが示された。

(3) 呼吸器感染に対する感受性が増加する

Rudell ら (1990) は 8 人の健康な非喫煙者 (年齢など記載なし) を DE に 1 時間曝露し曝露前および曝露後 18 時間目に BALF を採集した。Diesel exhaust (DE：ディーゼル排気) 濃度は、曝露チャンバー内の被験者の呼吸ゾーンで NO₂ の平均濃度が 1.6 ppm になるように希釈した (そのときの粒子濃度は 4.3×10⁶/cm³、NO は 3.7 ppm、CO は 27 ppm、ホルムアルデヒドは 0.5 mg/m³)。その結果、BALF 中のマスト細胞の総数の有意な減少、好中球は僅か

だが有意に増加した。T-helper/Suppressor-Cytotoxic 細胞比の上昇、マクロファージの貪食能の有意な減少がみられた。

Rudell ら (1999) は、DE の正常な健康者における気管支肺胞細胞への影響と溶解性成分への影響を明らかにするために、アイドリング・エンジン (Volvo TDIF-1990) からの排気管出口における粒子捕集が気道炎症の指標を減少させるかどうかを評価した。研究は、10 人の健康な非喫煙者 (男 8 人、女 2 人、平均年齢 27 歳 ; 22~35 歳) を対象に、空気、希釈された DE (粒子数 : $2.6 \times 10^6 / \text{cm}^3$ 、 NO_2 : 1.3 ppm、 NO : 3.4 ppm、 HC : 4.2 ppm、ホルムアルデヒド : $0.32 \text{ mg}/\text{m}^3$)、およびセラミックの粒子捕集装置でろ過された希釈されたディーゼル排気の曝露を行った。被験者に、軽度の運動 (75W で、 $15 \text{ L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の分時換気量) を 10 分間、安静を 10 分間繰り返しながら 1 時間曝露した。曝露後 24 時間目に、BAL を行い、気管支および気管支肺胞領域からの洗浄液について、細胞および溶解成分について分析した。結果は、粒子捕集は、平均粒子数を 50% 減少させたが、他の測定成分の濃度は、殆ど変わらなかった。DE は、*in vitro* で肺胞マクロファージによる貪食に悪影響を及ぼすと共に気道洗浄液中の好中球の増加を引き起こすことがみいだされた。さらに、DE は、 $\text{CD}3+\text{CD}25+$ 細胞 ($\text{CD}=\text{cluster of differentiation}$: 分化抗原群) の減少を伴って、肺胞マクロファージの気腔への移動を引き起こすことがみいだされた。排気管の出口に特定のセラミックの粒子捕集を用いても、アイドリング車からの排気と相互作用してこれらの影響を完全に除去できるほど十分ではなかった。結論として、本研究は、DE への曝露は、気道への好中球と肺胞マクロファージの補充を引き起こし、肺胞マクロファージの機能を抑制することを示した。粒子捕集装置によってろ過された DE は、ろ過されない DE に比べ、DE によって引き起こされる影響を有意に減少させなかった。DE の気道における悪影響を減少させるためにもっと効率的な処理装置を評価するための研究が更に必要であると述べている。

Soukup ら (2000) は、Utah Valley 粉塵 (UVD) の PM_{10} フィルターを 1986 年から 1988 年にかけて捕集した期間のなかで、製鉄工場が操業中のものを UVD1、閉鎖中のものを UVD2、再開したものを UVD3 とした。総金属量が $\text{UVD1 (yr 1)} = \text{UVD3 (yr 3)} > \text{UVD2 (yr 2)}$ と変わる 3-yr (年) 間にわたりフィルターに捕集された一連の UVD PM_{10} の抽出物を用いた。18~35 歳の正常な健康な非喫煙者 (被験者数記載なし) の男女の各々の右区域気管支にコントロールとして 0.9% の食塩水 20 ml を注入し、左肺に 10 ml 食塩水に UVD1、2 または 3 の抽出物 $500 \mu\text{g}$ を浮遊させたものを注入し、続けて 10 ml の食塩水を注入した。注入 24 時間後に二度目の気管支鏡を用い、貪食細胞を採集した。AM の貪食活動と酸化反応を UVD の肺区域への注入後 24 時間目に、また、肺胞マクロファージと抽出物の *in vitro* での培養後一夜後に調べた。フロー・サイトメトリー分析を用いた fluorescein isothiocyanate dye に接合させた *Saccharomyces cerevisiae* の肺胞マクロファージ貪食能は、UVD1 の注入後抑制されたが (61%)、yr 2 と yr 3 では抑制されなかった。ベースラインの酸化活性や phorbol ester-induced oxidant 発生の何れも、*in vivo* では粉塵抽出物によって影響されなかった。UVD1 と肺胞マクロファージの一夜の培養は、粒子を貪食する肺胞マクロファージのパーセンテージの有意な減少 (30%) を起こしたが、他の二つの抽出物では、この機能への有意な影響はみられなかった。さらに、UVD1 と UVD3 の両方は、肺胞マクロファージを抽出物と一緒に一夜培養すると肺胞マクロファージの酸化活性を抑制したけれども、UVD1 のみは、

肺胞マクロファージで即時の酸化性反応を引き起こした。肺胞マクロファージの宿主防御への有害な影響は、apoptosis によるもので、UVD1 に曝露された細胞において明らかで、yr 2 と 3 に曝露された肺胞マクロファージでは、その程度はずっと低かった。in vitro で肺胞マクロファージへの毒性影響をおこす成分は、polycation chelating resin の chelex-100 で UVD 抽出物を予め処理することにより除去された。しかし、yr 1 と 3 は、溶解性金属成分が類似しているが、肺胞マクロファージ食能への影響は異なるので、金属は、粒子状物質の肺胞マクロファージ宿主防御への影響の要因ではない可能性もあると述べている。

Zelikoff ら (2003) は、CAPs (ニューヨーク由来) を、F344 ラット (雄、7~8 ヶ月齢) を第 1 群 : 345 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、第 2 群 : 107 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の 2 群に分けて鼻部曝露を行い易感染性の実験を行った。第 1 群は CAPs を 3 時間曝露した後に肺炎球菌を気管内投与した。第 2 群には、肺炎球菌を投与してから 48 時間後に CAPs を 5 時間曝露した。影響としては、BALF 中のサイトカイン (TNF- α 、IL-1 α/β 、IL-6)、肺炎球菌の肺クリアランスなどであった。第 1 群は清浄空気曝露群に比べ大きな変化は見られなかったが、第 2 群では、CAPs 曝露群においてサイトカインの産生の有意な減少、肺炎球菌のクリアランスの遅延、血中好中球数の上昇が見られた。これらのことから CAPs の単回曝露は、感染状態を悪化させることが示唆された。

Zelikoff ら (2002) は、CAPs (粒径 $\text{PM}_{2.5}$ 、65~90 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) の曝露時間 5 時間の急性曝露影響を検討し、 $\text{PM}_{2.5}$ 曝露は感染ラット肺からの菌排出を遅らせること、および粒子中の Fe が関与していることを示唆する結果を得た。肺炎球菌に感染したラットへ CAPs を曝露すると 18 時間後、24 時間後には清浄空気曝露群に対して有意な細菌負荷率 (relative bacterial burdens) の増加を認めている。金属塩 (Fe, Ni, Mn の塩化物) 曝露では、とくに Fe (2 価) の曝露後に回収した BALF のマクロファージから産生されるスーパーオキシドアニオン ($\cdot\text{O}_2^-$) が清浄空気曝露群より有意に高く、同じく BALF 中の好中球やリンパ球は有意に下がるがマクロファージは増加し、感染ラットでの細菌負荷は増加している。これらの結果から、ニューヨークでの大気粒子曝露と Fe 塩化物曝露の肺炎や免疫能に対して類似した影響を及ぼし、大気粒子の免疫毒性には Fe が関与していると考えられると述べている。

Yin ら (2005) は、ラット (雄) に 4 時間/日、5 日間連続してろ過空気 (対照群) もしくは DEP (標準試料 2975、曝露濃度 : $21.2 \pm 2.3 \text{ mg}/\text{m}^3$) を鼻腔より吸入させ、最終曝露から 7 日後にリステリア菌を気管内投与した。肺組織内のリステリア菌増殖は対照群では感染 7 日後に収束したが、DEP 曝露群では 7 日目でも維持されていた。リステリア菌感染させると、分離した肺胞マクロファージ (AM) の IL-1 β 、TNF- α 、IL-12 産生能あるいは CD4 $^+$ 、CD8 $^+$ 陽性リンパ球数とリンパ球の IL-10、IL-2、IFN- γ 産生能が増加するが、DEP 曝露群ではそれらが有意に抑制された。これらより、DEP の曝露は肺胞マクロファージの免疫機能や T リンパ球介在型の免疫反応の抑制によって、細菌感染に対する肺の感受性を増加させる可能性が示された。DEP の曝露は肺胞マクロファージの免疫機能や T リンパ球介在型の免疫反応を抑制することによって、細菌感染に対する肺の感受性を増加させる可能性が示されたと述べている。

Hiramatsu ら (2005) は、マウスに DE (約 $3 \text{ mg}/\text{m}^3$ 、 $3.1 \pm 0.2 \text{ mg}/\text{m}^3$) または清浄空気 (対照群)

を1ヶ月、2ヶ月、6ヶ月間（7時間/日、5日間/週）曝露させた。それぞれ曝露終了日の翌日に結核菌（ 1×10^6 CFU、Kuro no strain）を感染させ、感染から7週間後に肺の病変部の大きさ計測、および肺、脾臓組織中の結核菌を培養しコロニーを数えた。病変部の大きさは対照群に比べDE 6ヶ月曝露群で有意に大きく、肺組織中の結核菌によるコロニー生成はDE 6ヶ月曝露群で有意に増加した。また肺組織におけるTNF- α 、IL-1 β 、IL-12p40、IFN- γ 、iNOSのmRNA発現量はDE 2ヶ月間曝露群でわずかに上昇したが、DE 6ヶ月間曝露群では、IL-1 β 、IL-12p40、IFN- γ 、iNOSのmRNA発現量が減少した。結核菌感染におけるDE曝露は、肺胞マクロファージの持つ結核菌を殺す能力を低下させ、結核菌感染の感受性を高める可能性が示唆された。

Yangら(2001)は、SDラット(雄)に生理食塩水またはCB(5 mg/kg(体重))、DEP(5mg/kg(体重))を曝露後、リステリア菌を感染させ、1週間観察した。感染させたリステリア菌のクリアランスはCB投与では影響なかったがDEP投与群で遅延し、DEPの曝露がリステリア菌感染の感受性を高めることが示された。BALF中のマクロファージ、好中球の割合はDEP、CB投与共に感染3日後に増加したが、リステリア菌感染により増加するBALF中の活性酸素やNO産生は、DEP前投与では阻害されていた。感染3日後に肺胞マクロファージを分離培養し、TNFの産生能を調べたところDEP曝露群ではCB投与群に比べ産生能が低かった。DEP気管内投与により、AMの抗細菌活性物の産生能が減少し、肺感染症にかかりやすくなる可能性が示された。また、DEPとCBの結果に明らかな違いが見られることから、DEPに付着した化学物質が影響している可能性を示した。

Campbellら(1981)は、4~8週齢のCR/CD-1マウス（雌 一群20匹）を用いて、DE曝露を行いその後の感染抵抗性について検討した。DE曝露は、急性(2時間と6時間)、亜急性(8時間/日で8、15、16日間)、慢性(44、46週間)を行い、TSPとして平均6.4mg/m³の濃度で、NO₂の平均は2.8ppmであった。曝露後、*Streptococcus pyogenes*、あるいはA/PR8-34インフルエンザウイルスに感染を行いその致死率への影響を2週間にわたり調べた。その結果、*Streptococcus pyogenes*感染に対しては、すべての曝露期間で、清浄空気群にくらべ致死率の増加がみられた。しかしながら、A/PR8-34インフルエンザウイルス感染に対しては曝露群と対照群とで差はみられなかったと報告している。

Saitoら(2002)は、DEP(粒径:90%以上が $< 2.5 \mu\text{m}$ (PM_{2.5})、60%が $0.33 \mu\text{m}$ 以下、曝露濃度:低濃度DEP群: $95.4 \pm 18.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、高濃度DEP群: $3.15 \pm 0.49 \text{mg}/\text{m}^3$)の慢性曝露影響(曝露時間7時間/日、5日/週、4週間)を検討した。BALB/cマウスへのDEP曝露影響について、肺病理と肺組織サイトカイン発現量により検討した。曝露終了1日後の低濃度曝露群では、DEPを内包した肺胞マクロファージが認められ、さらに、高濃度曝露群ではその数が増加し、DEP内包マクロファージの周囲で肺胞上皮細胞の過形成が観察された。BALF中のリンパ球と好中球の割合は、対照群の1.5%と1.4%に対し、低濃度曝露群で4.9%と3.3%、高濃度曝露群で19.8%と16.2%と増加した。DEP曝露により、肺組織では炎症性サイトカインであるTNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-12p40、IFN- γ 、iNOSのmRNA発現量が減少し、特にIL-6、IFN- γ 、iNOSのmRNA発現量の減少の程度が大きく、かつ量反応関係を認めた。IL-4mRNA発現量は低濃度曝露群で増加し、高濃度曝露群ではむしろ減少傾向を示したが、IL-10mRNA発現は低濃度、高濃度群で共に増加した。採取したBALF肺胞マクロファージの培養上清中TNF-

α 量は、清浄空気曝露群と比較し高濃度曝露群で有意に減少し、IL-10量は低濃度及び高濃度曝露群で共に有意に増加した。培養細胞上清中のTNF- α とIL-10の増減と、培養肺胞マクロファージ細胞のmRNA発現量は類似した挙動を示した。以上の結果は、DEP慢性曝露がマウス肺のサイトカイン発現に影響を及ぼしていることを示しており、DEPの免疫応答への影響や、DEPに対する感受性の亢進、更には低濃度曝露によるIL-4発現量の増加は喘息のようなアレルギー反応を誘発する可能性を示唆していた。

Lambertら(2003)は、マウスにCBを40 μ g/個体の量で気管内投与後、Respiratory syncytial virus (RSV)を感染し、曝露後1~10日間の期間で観察を行い、炎症反応への影響を検討した。CB処理によりBALF中炎症細胞数に誘導が認められた。処理直後では好中球が強く誘導された。また、CB+RSV併用処理により、処理7日後に好中球の強い誘導が認められ、処理2~10日後ではリンパ球のCBによる誘導がRSV処理により若干抑制された。TNF産生量はRSV単独処理と比較し、CB+RSV処理で処理1~2日後では抑制され、4~7日後では促進された。CB及びRSVの併用処理4~10日後のIL-13産生量が誘導された。また、IP-10 mRNA発現量はCB処理により抑制され、RSVにより誘導されるIP-10 mRNA発現量もCB併用処理により抑制された。その他、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た。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を示唆している。本研究結果より、カーボンナノ粒子の気管内投与により、炎症症状が誘導され、獲得免疫系のうち細菌感染防御に関与するTh1ではなく、アレルギー応答であるTh2が有意になることを示した。

(4) 疾患モデル動物では粒子状物質の曝露による影響に差異が生じる

Saldivaら(2002)は、SDラットを4群に分け、正常ラット(1, 3群)と慢性気管支炎ラット(2, 4群)に、清浄空気(1, 2群)もしくはCAPs(3, 4群: Harvard Ambient Particle Concentratorを使用)を吸入曝露した。慢性気管支炎はSO₂を吸入させることにより惹起した。CAPsの曝露濃度は、126.1~481.0 μ g/m³(3日平均)、73.5~733.0 μ g/m³(1日平均)であり、曝露時間を5時間/日として3日間連続曝露を行った。CAPsの曝露は、正常動物においても、慢性気管支炎動物においてもBALF中の好中球を増加させた。6回にわたる実験のうち、正常ラットでは4回、慢性気管支炎ラットでは5回、BALF中の好中球の増加がみられた。好中球の増加は、粒子、V、Br、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si濃度と関連したが、Cl濃度とは関連しなかった。この結果は、特に、慢性気管支炎動物において顕著であった。また、BALF中のタンパク質濃度も、Pb、H₂SO₄、元素状炭素、有機炭素、Si濃度と関連した。組織学的には、正常ラットにCAPsを曝露すると、好中球やマクロファージの肺胞への集積や肺胞上過形成が観察された。慢性気管支炎動物では炎症や粘液増加等が観察されたが、CAPsによる増悪は見られなかった。総じて、組織上は、全体あるいは正常ラットではCAPsによる増悪効果が観察されたが、慢性気管支炎ラットでは顕著とはいえなかった。粒子と所見の間にも関連は認められなかった。しかし、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はPb、Cl、元素状炭素、および有機炭素と組織所見の間に関連を認めた。慢性気管支炎ラットでは有意な関連を認めなかった。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。

Clarke ら(1999)は、慢性気管支炎罹患ラット(250ppm SO₂ 吸入による)12 匹に CAPs(1 回目: 206 μg/m³、2 回目: 733 μg/m³、3 回目: 607 μg/m³)を、18 時間/日、連続 3 日間の条件で曝露したところ、健康群(対照群)および慢性気管支炎罹患群の曝露個体に、呼吸機能異常(深い呼吸運動の出現: increased peak expiratory flow and/or tidal volume)及び肺における炎症(BALF 中の好中球、リンパ球およびタンパク質含量の増加、および炎症組織所見)が見られた。それらの所見は、慢性気管支炎罹患群で程度が有意に強かった。CAPs の健康影響(肺における炎症)が認められ、炎症の程度としては、健康群に比べ慢性気管支炎誘発群で高いことが示されたと述べている。

Kodavanti ら(2000a)らは、気管支炎ラットモデルで CAPs 曝露による肺への影響を検索するため、SD ラット(雄)に SO₂ を曝露して気管支炎を誘導した。SO₂ 最終曝露の翌日、正常または気管支炎の両方のラットを清浄空気(正常 3 匹、気管支炎 4 匹)、あるいは、CAPs(ノースカロライナ州リサーチトライアングルパーク)、(正常 5 匹、気管支炎 4 匹)で 6 時間/日、3 日もしくは 2 日連続で全身吸入曝露させた。最終的な CAPs 曝露後に肺の損傷を調べた。0 時間を含む手順を 4 回繰り返したが(study #A、1997 年 11 月; #B、1998 年 2 月; #C and #D、1998 年 5 月)、18 時間のもは一度(#F)だけ実験した。曝露濃度は、それぞれ、1 回目(#A): 約 650 μg/m³、2 回目(#B)約 475 μg/m³、3 回目(#C): 約 869 μg/m³、4 回目(#D): 約 907 μg/m³であった。追加研究(#E)では CAPs プロトコル(1998 年 2 月)の模擬実験として、ラットを ROFA に曝露した。

18 時間(#F)後の検索では BALF 中で炎症マーカーに違いは見られなかった。4 回の CAPs(0 時間ポイント)の検索では、最初(#A)の実験で CAPs 曝露したラットでは BALF 中タンパク質、アルブミン、NAG 活性、および好中球数が増加した。2 番目(#B)の実験では BALF のパラメーターに有意な影響は見られなかった。実験#C または、実験#D では、気管支炎のラットで上記のパラメーターが少し増加した。研究#A、#C、#D、および#F の肺の組織学的評価では、CAPs 曝露した気管支炎のラットでわずかなうっ血と血管周囲の細胞浸潤がみられた。ROFA で曝露した正常および気管支炎のラットでは明確な肺の損傷を示さなかった(#E)。CAPs の基本的構成要素は S、Zn、Mn、および Fe であったが、肺の損傷と CAPs 濃度、硫酸塩または基本的構成要素にはまったく関連が見られなかった。正常ラットに関しては、CAPs 曝露の明らかな影響は見られなかった。組織学的検討でも、正常ラットに関しては、CAPs 曝露の影響は見られなかった。慢性気管支炎ラットでは、うっ血、粘液産生細胞増加、炎症細胞浸潤が、CAPs 曝露により増悪しているようであったが、有意差検定は施行されていない。

以上のことから、大気中の PM は感受性モデルの肺の損傷をもたらすかもしれないが、季節により CAPs の構成要素が異なることと関連して曝露影響も異なることや、気管支炎などの呼吸器疾患が潜在しているときには、PM 自体の毒性だけを明確にすることは困難かもしれないと報告している。

Gordon ら(1998)は、モノクロタリンにより肺高血圧症を発症させたラットにニューヨークの CAPs(110~360 μg/m³)を、3 時間鼻部曝露させた。モノクロタリンを投与したラットにおいて曝露終了 3 時間後に血中好中球数の上昇が見られたが、24 時間後には対照群との差はなくなった。モノクロタリンを投与したラットを 360 μg/m³ の CAPs に曝露したところ、BALF 中の総細胞数、タンパク質、LDH 活性が約 2 倍に上昇した。

Lei ら(2004a)は、ラットにモノクロタリン 60mg/kg(体重)を腹腔内投与し肺高血圧を惹

起させた。その 14 日後に CAPs (dust storm forecast system of Taiwan Environmental Protection Administration using a modified ultrafine particle concentrator developed by Sioutas et al. を使用) を、 $126.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (対照群)、 $315.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (低曝露群)、 $684.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (高曝露群) の 3 群で吸入曝露した。黄砂の季節に、低曝露群と対照群の 1 匹は 6 時間、高曝露群と対照群の 3 匹は 4.5 時間曝露した。高曝露群は呼吸困難をきたしたため、4.5 時間の曝露で終了した。末梢血中の白血球数は、粒子の濃度に依存して増加した。赤血球やヘモグロビン、ヘマトクリットには有意な変化は見られなかった。BALF 中の総細胞数と好中球数も粒子濃度に依存して増加した。BALF 中の総タンパク質、LDH、IL-6 タンパク質濃度に関しても同様な結果が得られた。

Lei ら (2004b) は、CAPs ($\text{PM}_{2.5}$) (台北(台湾)由来、曝露濃度: $\text{PM}_{2.5}$ ($\pm\text{SD}$): $371.5 (\pm 208.3) \mu\text{g}/\text{m}^3$) の急性影響を知るために、モノクロタリン処理を行ったラット (ヒトの肺高血圧症モデルを想定) に CAPs を 6 時間/日、3 日間連続曝露し、肺の機能検査および炎症所見について解析した。その結果、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、呼吸数の減少、一回換気量の増加が認められた。また、BALF 内の好中球の増加、タンパク質及び LDH 濃度の増加、IL-6 値の増加が認められた。

Kodavanti ら (1999) は、SD ラット (60 日齢、体重 250~300 g) にモノクロタリン 60 mg/kg (体重) を腹腔内投与して肺障害/肺高血圧を引き起こした。対照群には生理食塩水 (正常ラットと以下表記) を同様に投与した。10 日後に清浄空気または ROFA ($15 \text{mg}/\text{m}^3$) を気管内投与 (生理食塩水、0.83 あるいは $3.33 \text{mg}/\text{kg}$ (体重))、あるいは鼻部吸入曝露 ($15 \text{mg}/\text{m}^3 \times 6$ 時間/日 $\times 3$ 日) を行い、肺の組織像、サイトカイン遺伝子発現、BALF を調べた。正常ラットでは ROFA 吸入により、肺浮腫、炎症細胞浸潤、肺胞壁の肥厚が認められた。BALF の炎症マーカーの上昇や IL-6、MIP-2 発現増加も認めた。モノクロタリン処理したラットでは、炎症細胞の血管周囲への浸潤、大きいマクロファージの存在、肺胞壁の肥厚が認められた。BALF 中タンパク質や炎症マーカー (マクロファージ数、好中球数) も上昇し、肺障害を示していた。モノクロタリン処理後に ROFA を気管内投与されたラットの 58% が 96 時間以内に死亡したのに対し、吸入曝露群では死亡例はなかった。モノクロタリン処理後に ROFA 吸入曝露したラット群では肺損傷の増悪が見られた。すなわち、肺水腫、肺胞壁の肥厚、炎症細胞浸潤であった。BALF 中のマクロファージ、好中球、好酸球および IL-6 発現は、モノクロタリン、ROFA それぞれ単独投与による増加の相加作用を上回る増加を示した。結論として、ROFA の気管内投与は肺障害/肺高血圧モデルラットの死亡率を引き上げたと述べている。

Kodavanti ら (2000b) は、WKY ラット及び SHR に ROFA ($15 \text{mg}/\text{m}^3$) を、6 時間/日、3 日連続で鼻部吸入により急性曝露する事によって、呼吸器・循環器系の炎症性反応や気道反応性・心電図波形の変化を観察した。

清浄空気曝露時の WKY ラット、SHR の相違では、同週齢で比較した体重当たりの肺・左室重量は SHR の方が WKY ラットよりも重かった。WKY ラットと比較して SHR では、アセチルコリンに対する気道反応性が低く、肺組織中に活性化したマクロファージ、好中球、出血を認め、BALF 中のタンパク質量、マクロファージ、好中球、赤血球、チオバルビタール酸反応物質、肺サイトカイン mRNA の発現量が高かった。加えて、SHR では、左心室心筋組織の炎症所見 (心筋症と単球細胞浸潤) とサイトカイン mRNA 発現量の亢進が見られ、心電図波形

で ST が低下していた。

Kodavanti ら (2002) は、WKY ラットと SHR に ROFA (MMAD 1.3 μm 以下、曝露時間 WKY ラット: 6 時間/日、3 日/週、1 週間、4 週間、SHR: 6 時間/日、3 日/週、1 週間、2 週間、4 週間、曝露濃度 15 mg/m^3) を鼻部吸入及び気管内投与し、心肺血管系への影響を検討した。ROFA は SO_4 、Zn、Ni、Fe、V を含んでいた。

鼻部吸入及び気管内投与いずれにおいても ROFA 曝露による体重変動は認めなかった。肺病理は重傷度を数値化した指標で評価した。肺泡マクロファージの集積は肺の病巣や肺の広い範囲で見られ、中隔肥厚と関連した肺肺炎がみられた。気管支上皮の肥大と単核細胞の血管周囲への浸潤を認めた。BALF の評価では、気管内投与では、WKY ラット及び SHR 共に投与量の増加に従いアルブミン、LDH 活性、好中球数は有意に増加したが、5mg 投与群では投与後 2 日目でも有意な高値を示した。グルタチオンは WKY ラットのみ 5mg 投与群で有意に増加し、投与後 2 日目でも有意な高値を示した。鼻部吸入では、WKY ラット及び SHR 共にアルブミン、LDH 活性、好中球数は清浄空気群に比べ曝露群で有意に増加し、曝露期間が長くなるに従い増加傾向が認められ、WKY ラットに比べ SHR でアルブミンの有意な増加を観察した。グルタチオンは 1 週間曝露の WKY ラットでのみ有意に増加した。

血液の評価では、気管内投与では、血漿フィブリノゲンが WKY ラット、SHR 共に 5mg 投与群で有意に増加し、投与後 1~2 日間高値を示したがその後減少した。鼻部吸入では、血漿フィブリノゲンは SHR のみ曝露群で有意に増加したが、曝露期間が長くなるに従い減少傾向が認められた。白血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、好中球数は、気管内投与及び鼻部吸入いずれにおいても非曝露群では WKY ラットに比べ SHR で高い傾向を示した。ヘマトクリット値は、気管内 5mg 投与 WKY ラットでのみ最初の 2 日間、非曝露群と比較し有意な増加を示したが、その他の指標には曝露影響を認めなかった。血小板数は WKY ラット及び SHR で有意な変化を認めなかった。血漿粘度は、清浄空気群では WKY ラットと SHR で類似した値を示したが、気管内 5mg 投与群では WKY ラットに比べ SHR で有意に増加した。

これらの結果から、SHR では PM 曝露が肺障害及び酸化ストレスと関連する急性の血栓形成反応を引き起こす可能性が示唆された。この結果は、心臓に疾患を持つヒトにおける PM 曝露と心血管疾患との関連性を示唆する疫学的結果と一致するものであると述べている。

Clarke ら (2000a) は、年配者は高いレベルの大気中粒子状物質への曝露により有害な影響を受けやすいと報告されているので、毒物学的なモデルでこの調査結果を検証するために、若齢ラットと老齢ラットを CAPs、あるいは清浄空気に 5 時間/日、連続して 3 日間曝露した。曝露期間中の動物の死亡例はなかった。最終曝露後に心臓穿刺により採血し、気管支肺胞洗浄 (BAL) も行なった。若齢ラットは、かなり高い BALF 中の総細胞数を示し、CAPs 曝露後に多核白血球 (PMN) の有意な増加が見られた。老齢ラットでは BALF 中の総細胞数、LDH、総白血球数、総白血球と PMN のパーセント、リンパ球、単核球の間に CAPs 関連の顕著な変化はみられなかった。CAPs またはろ過空気曝露による老齢ラットと若齢ラットの影響の比較では、老齢ラットで BALF 中の総細胞数、総白血球数、血液中のリンパ球の比と血液ヘモグロビンでの有意な減少が見られ、また、血液中 PMN の割合では増加が見られた。老齢と若齢で各曝露による差を求め、それを比較した結果は、①若齢 Fisher ラットは CAPs 曝露による肺の炎症反応を調べる研究で敏感なモデルとなりうる。②老齢ラットで血液中の好中球の割合が高いのにも関わらず肺の炎症反応が小さいのは吸入粒子に対する感受性の低さ

を反映しているのかもしれないと述べている。

環境省(2007b)は、テレメトリー装置を装着した22~24ヶ月齢の老齢ラットに、大気中濃縮微小粒子状物質(CAPs)の3日間曝露を行った。平成15年10月~18年9月まで8回の実験を行い、得られた結果をプール解析した。8回の実験でデータが取得された動物数は、CAPs曝露群23匹、除粒子対照群23匹で、プール解析では統計学的に有意差を認める結果は得られなかったが、CAPs曝露群で心拍数が曝露1日後と2日後の非曝露時間帯にやや高い傾向を示した。血圧(収縮期、拡張期、平均)、核心温度及び自律神経系には、全実験期間を通してCAPs曝露の明確な影響は認めなかった。また、CAPs成分と心機能指標との濃度反応関係の検討では、十分に検討するだけの例数も少ないこともあり、関連性を予測させる成分は認めなかった。

Elderら(2000a)は、F344ラット(雄、10週齢、20月齢)にUltrafine carbon particles(UCP, count median diameter : 25 nm、 $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ヒトでは $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ に相当)と O_3 (1 ppm)に、6時間単独曝露あるいは混合曝露(LSP:12分、30分後にUCPおよび O_3 曝露開始、UCPおよび O_3 :6時間曝露)した。

気道感染のモデルとして低濃度のエンドトキシン(LPS)吸入によるプライミングを行った。BALFの炎症指標とBALF細胞からのオキシダント遊離を曝露24時間後に調べた。若年ラットではUCP、 O_3 、LPSの肺炎作用が認められ、また O_3 とLPSの混合曝露では炎症が抑えられることが認められた。老年ラットではLPSと O_3 のみ有意な炎症作用が認められ、UCPと O_3 の混合曝露ではそれぞれの単独曝露以上の肺の炎症が認められた。BALF細胞からのオキシダント遊離は一般的に多核白血球(PMN)反応と一致していたが、若年ラットではLPSプライミングしたUCPおよび O_3 曝露群でオキシダント遊離が減少していた。老年ラットではこの混合曝露では逆にオキシダント遊離が増加していた。

著者らはこの結果から都市のUCPは感受性のあるヒト集団の罹患率上昇に関与し、また、加齢、高濃度 O_3 との混合曝露は肺の炎症および炎症細胞活性化に影響を及ぼすと述べている。

Elderら(2000b)は、大気中粒子状物質濃度の増加と高齢者における心肺疾患罹患率との間に関係があるといういくつかの疫学報告に基づいて、ultrafine carbonaceous particle(UCP)と O_3 が協働して肺の酸化ストレスや炎症を引き起こしており、さらに損傷を有する肺や老化した肺ではそれが増強するという仮説を立て、以下の実験を行った。損傷を有する肺のモデルとしてエンドトキシン曝露マウスと老化した肺気腫マウス(TSKマウス)を用いた。8週齢または22月齢のF344ラット(SPF)(雄)、および14~17月齢のTSKマウス(雄、肺気腫)にUCP(count median diameter : 25nm、 $110 \mu\text{g}/\text{m}^3$)および O_3 (1 ppm)を単独あるいは混合で6時間曝露(エンドトキシン:12分、30分後にUCPおよび O_3 曝露開始、UCPおよび O_3 :6時間曝露)した。エンドトキシン(Estimated alveolar deposited dose; 70 unit/個体 and 7.5 units/個体)の吸入は呼吸器感染のモデルとして用いた。曝露24時間後にBALFを調べた。肺胞腔内への炎症細胞の浸潤は両方の種、年齢で認められた。エンドトキシン処理に続くUCPと O_3 の混合曝露群がもっとも高いBALF中好中球数を示した。BALF中の炎症細胞からの活性酸素種遊離は刺激の有無にかかわらず好中球反応とよく相関していた。ANOVA解析によるとUCPと O_3 の相互関係と同様にUCPの有意な影響が認められた。しかしながら、若年ラットではUCPと O_3 混合曝露では活性酸素種活性は抑えられたが、老年

ラットおよび TSK マウスでは活性酸素種活性が増強していた。すなわち肺の炎症細胞遊離の機序が年齢依存的に異なるといえる。以上の結果から、UCP の短期間曝露で有意な肺の炎症や酸化ストレスが引き起こされ、この炎症や酸化ストレスは年齢や他の物質の同時曝露、さらには呼吸器の損傷により修飾されることが示された。

(5) 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

Molhave ら(2005)は、健康だがアトピーの 8 人(男 4 人、女 4 人; 23~35 歳; 皮膚ブリック・テストで一般的な吸入性アレルゲンに少なくとも一つ陽性、但しハウスダスト・ダニに陽性の者は除外)について、3 種類の被験物質、すなわちオフィスの粉塵(オフィスにおける掃除機のバッグからの粉塵を再浮遊)、 O_3 、 O_3 とオフィス粉塵の混合(オフィス粉塵; $75 \mu g/m^3$ 、 O_3 ; 300 ppb、 O_3 とオフィス粉塵の混合; 300 ppb + $75 \mu g/m^3$) をチャンバーで、180 分間曝露し、鼻洗浄(NAL)液中のインターロイキンおよび細胞数、肺機能、気管支のメタコリン反応性、rhinometry 徴候および一般的な刺激のスコアを観察した。曝露タイプ間の相互作用が、最大呼気流量(PEF) ($p < 0.05$) および目の乾燥や肌への刺激などの不快症状 ($p < 0.03$) でみられた。NAL 液中の IL-8 濃度では有意な相互作用はみられなかった。複合曝露では、 O_3 曝露や粉塵曝露の何れよりも有意により多くの影響を引き起こすことがみられ、粉塵と O_3 への混合曝露によって引き起こされる増強効果を示していると考えられるが、さらに被験者数が限定されているので拡大解釈されるべきではないが、比較的高濃度の O_3 は、粉塵曝露と相互作用し、PEF の減少や不快感を増加させるという仮説を支持していると述べている。

Kobzik ら(2001)は、OVA 誘発性喘息モデルマウスにおける CAPs と 0.3ppm O_3 の急性曝露影響について検討した。用いられた粒径は $0.15 \sim 2.5 \mu m$ (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($63.3 \sim 1,568.6 \mu g/m^3$)と低用量($1.6 \sim 133.1 \mu g/m^3$)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($100 \mu g/m^3$ につき 0.86%上昇)。② $300 \sim 500 \mu g/m^3$ 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。

Kleinman と Phalen(2006)は、ラットで O_3 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 $0.23 \sim 0.28 \mu m$ (硫酸粒子 MMD、GSD=2.1~2.3)であった。曝露濃度は a 群:空気のみ、b 群:0.3ppm O_3 、c 群:0.6ppm O_3 、d 群: $0.48 mg/m^3 H_2SO_4$ 、e 群: $1.00 mg/m^3 H_2SO_4$ 、f 群: $0.31 ppm O_3 + 0.41 mg/m^3 H_2SO_4$ 、g 群: $0.31 ppm O_3 + 1.04 mg/m^3 H_2SO_4$ 、h 群: $0.6 ppm O_3 + 0.52 mg/m^3 H_2SO_4$ 、i 群: $0.6 ppm O_3 + 0.86 mg/m^3 H_2SO_4$ であった。

結果として、①肺組織学: Type1 病変は全群で変化無し、Type2 病変は H_2SO_4 単独吸入で変化無し、 O_3 吸入で増加し、 H_2SO_4 濃度が濃いほど、その程度が低下、②DNA 合成は、鼻では

O_3 0.6ppm+ H_2SO_4 吸入により増加。気管ではどの群も変化無し。肺では、 O_3 0.6ppm+ H_2SO_4 吸入により増加。 H_2SO_4 濃度による影響は無し。③マクロファージの Fc レセプター発現はどの群でも変化無し。食食能は H_2SO_4 吸入群のすべてで低下した。 O_3 と酸性微粒子の吸入が相乗的に肺の障害を起こすという仮説は支持されなかったと報告している。

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 : 5~6 mg/m³、高濃度 : 48 mg/m³、MMAD = 4.6 mm、 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泡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。第一肺泡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 O_3 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、 O_3 : 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食食活性を測定した。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 O_3 単独曝露群と複合曝露群においてのみ上昇が見られた。マクロファージの食食活性は、 O_3 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。

Kleinman ら (2003) は、ラットを用いてカーボン粒子 (EC:elementary carbon) と (NH₄)HSO₄ (ABS:ammonium bisulfate) との混合物の長期効果 (曝露時間 4 時間/日、3 日連続/週、4 週間) を検討した。粒径 MMAD: は 0.3 μ m であった。各群の曝露濃度は、1 群: 清浄空気、2 群: O_3 0.198 \pm 0.004ppm、3 群: EC 51.35 \pm 12.15 μ g/m³+ABS 76.25 \pm 18.36 μ g/m³+ O_3 0.194 \pm 0.004ppm、4 群: EC 92.35 \pm 18.51 μ g/m³+ABS 136.29 \pm 27.61 μ g/m³+ O_3 0.197 \pm 0.003ppm であった。結果として、①BrdU ラベリングによる細胞再生の指標は、1 群を 100 として 2 群 (O_3) で 120%、3 群で 310~340%、4 群で 200~290% ②BALF 中のアルブミンからみた透過性は 3 群でのみ有意に増加、しかし細胞の生存、回収率、細胞分画に影響なし、③マクロファージの Fc レセプター発現は 3、4 群で低下、呼吸バーストは 3 群、4 群で低下した。 O_3 単独よりも O_3 と微小粒子の混合物の方が、毒性があることが報告されている。

Elder ら (2000a) は、F344 ラット (雄、10 週齢、20 月齢) に Ultrafine carbon particles (UCP、

count median diameter : 25 nm、100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ヒトでは 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ に相当)と O_3 (1 ppm)に、6 時間単独曝露あるいは混合曝露 (LSP : 12 分、30 分後に UCP および O_3 曝露開始、UCP および O_3 : 6 時間曝露)した。

気道感染のモデルとして低濃度のエンドトキシン (LPS) 吸入によるプライミングを行った。BALF の炎症指標と BALF 細胞からのオキシダント遊離を曝露 24 時間後に調べた。若年ラットでは UCP、 O_3 、LPS の肺炎作用が認められ、また O_3 と LPS の混合曝露では炎症が抑えられることが認められた。老年ラットでは LPS と O_3 のみ有意な炎症作用が認められ、UCP と O_3 の混合曝露ではそれぞれの単独曝露以上の肺の炎症が認められた。BALF 細胞からのオキシダント遊離は一般的に多核白血球 (PMN) 反応と一致していたが、若年ラットでは LPS プライミングした UCP および O_3 曝露群でオキシダント遊離が減少していた。老年ラットではこの混合曝露では逆にオキシダント遊離が増加していた。

著者らはこの結果から都市の UCP は感受性のあるヒト集団の罹患率上昇に関与し、また、加齢、高濃度 O_3 との混合曝露は肺の炎症および炎症細胞活性化に影響を及ぼすと述べている。

Elder ら (2000b) は、大気中粒子状物質濃度の増加と高齢者における心肺疾患罹患率との間に関係があるといういくつかの疫学報告に基づいて、ultrafine carbonaceous particle (UCP) と O_3 が協働して肺の酸化ストレスや炎症を引き起こしており、さらに損傷を有する肺や老化した肺ではそれが増強するという仮説を立て、以下の実験を行った。損傷を有する肺のモデルとしてエンドトキシン曝露マウスと老化した肺気腫マウス (TSK マウス) を用いた。8 週齢または 22 月齢の F344 ラット (SPF) (雄)、および 14~17 月齢の TSK マウス (雄、肺気腫) に UCP (count median diameter : 25nm、110 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) および O_3 (1 ppm) を単独あるいは混合で 6 時間曝露 (エンドトキシン: 12 分、30 分後に UCP および O_3 曝露開始、UCP および O_3 : 6 時間曝露) した。エンドトキシン (Estimated alveolar deposited dose: 70 unit/個体 and 7.5 units/個体) の吸入は呼吸器感染のモデルとして用いた。曝露 24 時間後に BALF を調べた。肺腔内への炎症細胞の浸潤は両方の種、年齢で認められた。エンドトキシン処理に続く UCP と O_3 の混合曝露群がもっとも高い BALF 中好中球数を示した。BALF 中の炎症細胞からの活性酸素種遊離は刺激の有無にかかわらず好中球反応とよく相関していた。ANOVA 解析によると UCP と O_3 の相互関係と同様に UCP の有意な影響が認められた。しかしながら、若年ラットでは UCP と O_3 混合曝露では活性酸素種活性は抑えられたが、老年ラットおよび TSK マウスでは活性酸素種活性が増強していた。すなわち肺の炎症細胞遊離の機序が年齢依存的に異なるといえる。以上の結果から、UCP の短期間曝露で有意な肺の炎症や酸化ストレスが引き起こされ、この炎症や酸化ストレスは年齢や他の物質の同時曝露、さらには呼吸器の損傷により修飾されることが示された。

Madden ら (2000) は、 O_3 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 O_3 を曝露し、肺障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 0.1 ppm の O_3 を 48 時間曝露し、SD ラットに気管内投与した。24 時間後に BALF を用いてラット肺の炎症と障害を調べた。 O_3 曝露した DEP は、 O_3 曝露しない DEP に比べ好中球、総タンパク質および LDH 活性を増加させた。 O_3 曝露による DEP 活性の上昇は、空気による変質ではなく O_3 曝露期間中によるものであった。高濃度 O_3 (1 ppm) 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 CB では、0.1 ppm の O_3 曝露後に調べた如何なる生物

活性をも増加させなかった。¹⁸O でラベルした O₃ で調べると、DEP と取り込まれる O₃ の量は、直線関係にあった。これらのデータは、大気濃度レベルの O₃ が DEP の生物学的効果を増加せしめることを示唆する。

Campen ら(2001)は、VS₂O₅、NiSO₄、およびその複合曝露による心機能と肺障害に対する影響を SD ラットを用いて検討するため、急性実験を行った。SD ラットに対し、VS₂O₅、NiSO₄、VS₂O₅+NiSO₄ を吸入曝露した。粒径は平均 0.65 μm(GSD 2.11)であった。清浄空気群と、曝露濃度を VS₂O₅ 曝露で 0.3、0.6、0.9、1.7mg/m³、NiSO₄ 曝露で 0.37、0.49、1.3、2.1 mg/m³、VS₂O₅+NiSO₄ 曝露で各 0.5、1.3 mg/m³ とした群を設けた。曝露時間を 6 時間/日とし、4 日間の曝露を行った。VS₂O₅ は最も高い濃度でも心拍数と深部体温の変化は認められず、徐脈及び体温の低下もわずかであった。しかし、肺障害及び炎症の指標に関しては、最終曝露 24 時間及び 96 時間後で曝露濃度に依存した増加傾向を認めた。NiSO₄ では 1.3mg、2.1mg/m³ で体温の低下と不整脈を認めたが、低濃度(0.37、0.49mg/m³) ではこれらに影響は認めず、1.3mg/m³ で心拍数は最大 75bpm、深部体温は 2°C 低下、2.1mg/m³ ではそれぞれ 100bpm、3.3°C 低下した。肺障害及び炎症の指標に関しては、NiSO₄ 曝露の濃度に従い増加傾向を認めたが、この傾向は VS₂O₅ と比較し顕著であった。VS₂O₅+NiSO₄ では VS₂O₅ および NiSO₄ 単独曝露で影響を認めなかった 0.5mg/m³ で、曝露 3 日目より心拍が 50bpm、深部体温が 1.0°C 低下し、その影響は 30 時間持続した。VS₂O₅+NiSO₄ 混合 1.3mg/m³ では、より顕著な低下が認められ(心拍 160bpm、深部体温 4.0°C)、NiSO₄ 単独の最高曝露濃度時(2.1mg/m³) より変化が大きく、不整脈の頻度も増加した。肺障害の指標(LDH、タンパク質、MIA、NAG)は最終曝露 24 時間後で VS₂O₅、NiSO₄ 単独曝露の和よりも大きかったが、96 時間後ではその影響は明確ではなかった。以上のことから、VS₂O₅ と NiSO₄ の複合曝露がそれぞれの単独曝露と比較して、心機能と肺障害に相乗的な影響を及ぼすことが示唆された。

2.3 論文による仮説の検証

(1) 肺傷害および炎症が悪化する

ヒトボランティアの研究では、高濃度のPM曝露により気道や肺に軽度の炎症が生じることが確認されている。例えば健常者にDEやDEP(100–300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)またはCAPs、CCPs(100–300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)を短時間曝露した研究では、呼吸器症状や肺機能検査値の異常はみられなかったが、BALFや喀痰中の好中球数増加やIL-6、IL-8などの炎症性サイトカインの増加、気道壁のIL-8、GRO- α 、P-selectin、ICAM-1などの発現増加、NF- κ BやAP-1などの炎症関連転写因子やp38MAPK、JNKの活性化などの炎症反応が観察されている(Rudellら(1990), Salviら(1999), Rudellら(1999), Nordenhällら(2000), Nightingaleら(2000), Holgateら(2003b), Stenforsら(2004), Pourazarら(2005), Ghioら(2000), Harderら(2001), Holgateら(2003a))。このような気道や肺の炎症反応は、健常者に対する酸化鉄粒子の気管内投与や超微粒子(ZnO フューム)の吸入曝露においても再現されている(Layら(1999), Kuschnerら(1997))。さらにユタバレーの製鉄工場の操業中に捕集されたPM₁₀を気管内投与されたヒトでは製鉄工場の閉鎖中に捕集されたPM₁₀の気管内投与に比べて高度の気道や肺の炎症をもたらしたことも報告されている(GhioとDevlin(2001))。このようなPMによる炎症の誘導作用については、PMに含まれる硫酸塩や金属成分などの重要性を指摘した研究成績もみられる(Huangら(2003))。

動物実験においては、CAPs、ROFA、DEP、EPM、CFA、MSS/coal ash、CBなどのさまざまなPM吸入曝露や気管内投与により気道や肺の炎症が生じるだけでなく、より高濃度の曝露条件においては肺水腫などの組織傷害が生じることが確認されている。PMの曝露により肺の炎症や組織傷害が生じる機序としては、1) IL-1 β やIL-6、MIP-2などの炎症性サイトカインの産生(Leiら(2004a), Leiら(2004b), Kodavantiら(1999), Liら(1996), Kodavantiら(1997), Win-Shweら(2005))、2) 酸化ストレスや窒素化ストレスの増加(Limら(1998), Liら(1996), Maddenら(1999), Sagaiら(1993), Limら(1998), Sagaiら(1996), Gurgueiraら(2002), Rhodenら(2004))、3) 金属成分(Ni、V、Fe、Znなど)の関与(Kodavantiら(1997), Molinelliら(2002), Kodavantiら(1998), Clarkeら(2000b))、4) エンドトキシンや他の共存物質(オゾン、窒素化酸化物、硫黄酸化物)の影響(Schinsら(2004), Gilmourら(2004))、5) ERL1/2、p38-MAPK、JNKなどの細胞内シグナル伝達因子の活性化(Maddenら(1999), Silbajorisら(2000))などの関与が報告されている。PMのなかでもROFAについては高度の肺炎症および傷害作用が知られているが、その機序としては含有される溶解性金属の影響が大きいとされている。一方、国内大気のCPAsをマウスに曝露した実験では、CAPs単独による肺炎症作用は小さいが、細菌毒素による肺炎症を増強させる作用のあることが報告されている(環境省(2007a))。

以上のように高濃度のPM曝露はヒトの気道や肺に炎症反応を誘導する。動物実験においてはより高濃度のPM曝露により肺傷害が生じることが確認されている。

(2) 気道反応性の増加および喘息の悪化がみられる

ヒトボランティアの研究では、DEやDEP曝露が気道反応性を亢進させて喘息を悪化

させる可能性が指摘されている。例えば健常者に DE を吸入させた研究では気道抵抗の増大や気道洗浄液中のヒスタミン濃度の上昇が観察されている (Rudell ら(1996), Salvi ら(1999))。また喘息患者に DE や DEP を吸入させた研究では、メサコリンに対する気道反応性の亢進も認められている (Nordenhäll ら(2001))。DE や DEP の曝露が喘息の原因となるアレルギー性炎症を悪化させるかについては不明であるが、気道の IL-10 発現を増加させたという報告もある (Holgate ら(2003b), Stenfors ら(2004))。一方、喘息患者に DE を曝露したが気道の好酸球性炎症には影響がみられなかったという成績も公表されている (Stenfors ら(2004))。

健常者や鼻アレルギー患者の鼻腔内に DEP を曝露した研究では、鼻腔洗浄液中の総 IgE や抗原特異的 IgE、IgG4、ヒスタミン、RANTES などのアレルギー性鼻炎のメディエーター濃度の増加が観察されている (Diaz-Sanchez ら(1994), Diaz-Sanchez ら(1996), Diaz-Sanchez ら(1997), Fujieda ら(1998), Diaz-Sanchez ら(2000a), Diaz-Sanchez ら(2000b))。さらに ROFA や硫酸エアロゾルの鼻腔曝露においてもアレルギー性鼻炎の悪化が報告されている (Hauser ら(2003), Tunnicliffe ら(2001))。以上のようにヒトにおける研究成績は限定的ではあるが、DE や DEP の曝露が気道反応性を亢進させて喘息やアレルギー性鼻炎を悪化させる可能性が示唆されている。

動物実験では PM 曝露による喘息やアレルギー性鼻炎の悪化作用を示唆するより多くの証拠が得られている。例えば DE や DEP の吸入曝露、点鼻あるいは気管内投与を受けた動物では、抗原曝露により誘発される喘息(気道抵抗や気道過敏性の増加)やアレルギー性鼻炎が悪化し、その機序として気道の好酸球浸潤や杯細胞の過形成、IL-5 やエオタキシンの発現、抗原特異的 IgE や IgG1 の産生増強などが報告されている (Muranaka ら(1986), Miyabara ら(1998a), Miyabara ら(1998b), Miyabara ら(1998c), Ichinose ら(1998), Hashimoto ら(2001), Ohta ら(1999), Takano ら(1997), Ichinose ら(1997), Takano ら(1998a), Takano ら(1998b), Ichinose ら(2004), Takafuji ら(1987), Kobayashi と Ito(1995), Ohyama ら(1998))。また CAPs、CB、ROFA およびその金属成分 (Ni、Fe、V) の吸入動物においても気道アレルギー反応の悪化が認められた。(Goldsmith ら(2002), Kobzik ら(2001), Hamada ら(1999), Lambert ら(2000), Steerenberg ら(2005), Harkema ら(2004), Alessandrini ら(2006)) 以上のように動物実験においては、さまざまな種類の PM が気道の抗原反応性を増強する粘膜アジュバントとして働き、喘息やアレルギー性鼻炎を悪化させる作用のあることが確認されている。ヒトにおける研究成績は限定的ではあるが、DE や DEP については気道反応性の亢進および喘息、鼻アレルギー症状を悪化させる可能性がある。

(3) 呼吸器感染に対する感受性が増加する

ヒトにおいては PM が呼吸器感染に対する感受性を増加させるという明確な証拠はない。しかし間接的な証拠としては、DE の吸入やユタバレー粉塵の気管内投与によりヒトの肺胞マクロファージの食能低下やアポトーシス増加などの感染防御能の低下が観察されている (Rudell ら (1990), Rudell ら (1999), Soukup ら (2000))。

一方、DEP や CAPs を曝露された動物では肺炎球菌、リステリア菌、連鎖球菌、結核菌に対する呼吸器感染の感受性が増加することが報告されている (Zelikoff ら (2003), Zelikoff ら (2002), Yin ら (2005), Hiramatsu ら (2005), Yang ら (2001), Campbell ら (1981))。PM 曝露により呼吸器感染の感受性が増加する機序としては、PM による肺胞マクロファージや T リンパ球の抑制作用が考えられている (Saito ら (2002))。また PM のウイルス感染に対する影響については、CB を気管内投与された動物では RS ウイルス感染による肺の炎症が増強したという成績も公表された (Lambert ら (2003))。

以上のようにヒトにおいては証明されていないが、動物実験においては PM 曝露による呼吸器感染の感受性の増加が確認されている。

(4) 疾患モデル動物では粒子状物質の曝露による影響に差異が生じる

1) 慢性気管支炎モデル

SO₂ の曝露により作製した慢性気管支炎のモデルラットに CAPs を吸入させた研究では気道炎症が増悪したという成績とほとんど影響しなかったという成績とがある (Saldiva ら (2002), Clarke ら (1999), Kodavanti ら (2000a))。

2) 肺高血圧症モデル

モノクロタリン投与により作製した肺高血圧症のモデルラットに CAPs や ROFA を吸入または気管内投与した実験では、肺の炎症や傷害の程度が悪化して死亡率も増加したことが報告されている (Gordon ら (1998), Lei ら (2004a), Lei ら (2004b), Kodavanti ら (1999))

3) 高血圧モデル

自然発症高血圧症 (SHR) ラットでは正常血圧ラットに比べて ROFA の吸入や気管内投与による肺の炎症や傷害が悪化し、血漿フィブリノゲン値や血漿粘度もより高値となったことが報告されている (Kodavanti ら (2000b), Kodavanti ら (2002))。

4) 加齢動物モデル

CAPs 吸入による肺の炎症反応については、若齢ラットに比べて高齢ラットで低下していたという成績や差がなかったという成績が報告されている (Clarke ら (2000a)、環境省 (2007b))。一方、UCP (Ultrafine carbon particles) とオゾンの複合曝露実験では、若齢ラットに比べて高齢ラットの炎症細胞からのオキシダント産生が増加していたという研究成績もある (Elder ら (2000a), Elder ら (2000b))。

以上のように疾患感受性動物によっては PM 曝露による影響や既存の病態が悪化する可能性が指摘されている。しかしながらこれらの疾患感受性動物がヒトの疾患モデルとして適切であるかについては議論がある。

(5) 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

複合大気汚染による呼吸器系への影響については一定の成績はない。O₃ (300 ppb) を曝露されたヒトボランティアでは、オフィス由来粉塵の吸入による最大呼気流量の低下が増強したことが報告されている (Molhave ら (2005))。一方、卵白アルブミン誘発喘息マウスの気道過敏性を検討した研究では、O₃ と CAPs の複合曝露によっても相乗的な気道過敏性の亢進作用は認められなかった (Kobzik ら (2001))。また O₃ と硫酸微粒子を複合曝露したラットにおいても相乗的な肺傷害作用は認められなかった (Kleinman と Phalen (2006))。しかし EHC-93 の吸入が O₃ 曝露したラットの細気管支や肺胞上皮の増殖を増加させたという報告や (Vincent ら (1997), Bouthillier ら (1998))、O₃ 曝露が炭素粒子と ABS (ammonium bisulfate) 混合物や UCP による肺の炎症や傷害を増強したという成績も公表されている (Kleinman ら (2003), Elder ら (2000a), Elder ら (2000b))。さらに、in vitro で O₃ 処理した DEP は未処理の DEP に比べてラットの肺の炎症と傷害を増強したという成績もある (Madden ら (2000))。また金属の複合曝露では、V と Ni の複合曝露が単独曝露よりも高度の肺傷害を引き起こしたという報告もある (Campen ら (2001))。以上のように複合大気汚染により呼吸器系への影響が増悪するかについては研究成績が定まっていない。

- 1 Alessandrini, F., Schulz, H., Takenaka, S., Lentner, B., Karg, E., Behrendt, H. & Jakob, T. (2006). Effects of ultrafine carbon particle inhalation on allergic inflammation of the lung. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **117**, 824–830.
- 2 Bouthillier, L., Vincent, R., Goegan, P., Adamson, I.Y., Bjarnason, S., Stewart, M., Guénette, J., Potvin, M. & Kumarathasan, P. (1998). Acute effects of inhaled urban particles and ozone: lung morphology, macrophage activity, and plasma endothelin-1. *American Journal of Pathology*, **153**, 1873–1884.
- 3 Campbell, K. I., George, E. L. & Washington, I. S. (1981). Enhanced susceptibility to infection in mice after exposure to diluted exhaust from light duty diesel engines. *Environment International*, **5**, 377–382.
- 4 Campen, M. J., Nolan, J. P., Schladweiler, M. C., Kodavanti, U. P., Evansky, P. A., Costa, D. L. & Watkinson, W. P. (2001). Cardiovascular and thermoregulatory effects of inhaled PM-associated transition metals: a potential interaction between nickel and vanadium sulfate. *Toxicological Sciences*, **64**, 243–252.
- 5 Clarke, R. W., Catalano, P., Coull, B., Koutrakis, P., Krishna Murthy, G., Rice, T. & Godleski, J. J. (2000a). Age-related responses in rats to concentrated urban air particles (CAPs). *Inhalation Toxicology*, **12**, 73–84.
- 6 Clarke, R. W., Catalano, P. J., Koutrakis, P., Murthy, G. G., Sioutas, C., Paulauskis, J., Coull, B., Ferguson, S. & Godleski, J. J. (1999). Urban air particulate inhalation alters pulmonary function and induces pulmonary inflammation in a rodent model of chronic bronchitis. *Inhalation Toxicology*, **11**, 637–656.
- 7 Clarke, R. W., Coull, B., Reinisch, U., Catalano, P., Killingsworth, C. R., Koutrakis, P., Kavouras, I., Murthy, G. G., Lawrence, J., Lovett, E., Wolfson, J. M., Verrier, R. L. & Godleski, J. J. (2000b). Inhaled concentrated ambient particles are associated with hematologic and bronchoalveolar lavage changes in canines. *Environmental Health Perspectives*, **108**, 1179–1187.

- 8 Diaz-Sanchez, D., Dotson, A.R., Takenaka, H. & Saxon, A. (1994). Diesel exhaust particles induce local IgE production in vivo and alter the pattern of IgE messenger RNA isoforms. *Journal of Clinical Investigation*, **94**, 1417-1425.
- 9 Diaz-Sanchez, D., Jyrjala, M., Ng, D., Nel, A. & Saxon, A. (2000a). In vivo nasal challenge with diesel exhaust particles enhances expression of the CC chemokines rantes, MIP-1alpha, and MCP-3 in humans. *Clinical Immunology*, **97**, 140-145.
- 10 Diaz-Sanchez, D., Penichet-Garcia, M. & Saxon, A. (2000b). Diesel exhaust particles directly induce activated mast cells to degranulate and increase histamine levels and symptom severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **106**, 1140-1146.
- 11 Diaz-Sanchez, D., Tsien, A., Casillas, A., Dotson, A.R. & Saxon, A. (1996). Enhanced nasal cytokine production in human beings after in vivo challenge with diesel exhaust particles. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **98**, 114-123.
- 12 Diaz-Sanchez, D., Tsien, A., Fleming, J. & Saxon, A. (1997). Combined diesel exhaust particulate and ragweed allergen challenge markedly enhances human in vivo nasal ragweed-specific IgE and skews cytokine production to a T helper cell 2-type pattern. *Journal of Immunology*, **158**, 2406-2413.
- 13 Elder, A.C.P., Gelein, R., Finkelstein, J.N., Cox, C. & Oberdorster, G. (2000a). Endotoxin priming affects the lung response to ultrafine particles and ozone in young and old rats. *Inhalation Toxicology*, **12**, 85-98.
- 14 Elder, A.C.P., Gelein, R., Finkelstein, J.N., Cox, C. & Oberdorster, G. (2000b). Pulmonary inflammatory response to inhaled ultrafine particles is modified by age, ozone exposure, and bacterial toxin. *Inhalation Toxicology*, **12**, 227-246.
- 15 Fujieda, S., Diaz-Sanchez, D. & Saxon, A. (1998). Combined nasal challenge with diesel exhaust particles and allergen induces In vivo IgE isotype switching. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **19**, 507-512.

- 16 Ghio, A.J. & Devlin, R.B. (2001). Inflammatory lung injury after bronchial instillation of air pollution particles. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **164**, 704-708.
- 17 Ghio, A.J., Kim, C. & Devlin, R.B. (2000). Concentrated ambient air particles induce mild pulmonary inflammation in healthy human volunteers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **162**, 981-988.
- 18 Gilmour, M.I., O'Connor, S., Dick, C.A., Miller, C.A. & Linak, W.P. (2004). Differential pulmonary inflammation and in vitro cytotoxicity of size-fractionated fly ash particles from pulverized coal combustion. *Journal of the Air and Waste Management Association*, **54**, 286-295.
- 19 Goldsmith, C.A., Ning, Y., Qin, G., Imrich, A., Lawrence, J., Murthy, G.G., Catalano, P.J. & Kobzik, L. (2002). Combined air pollution particle and ozone exposure increases airway responsiveness in mice. *Inhalation Toxicology*, **14**, 325-347.
- 20 Gordon, T., Nadziejko, C., Schlesinger, R. & Chen, L.C. (1998). Pulmonary and cardiovascular effects of acute exposure to concentrated ambient particulate matter in rats. *Toxicology Letters*, **96-97**, 285-288.
- 21 Gurgueira, S.A., Lawrence, J., Coull, B., Murthy, G.G. & Gonzalez-Flecha, B. (2002). Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation. *Environmental Health Perspectives*, **110**, 749-755.
- 22 Hamada, K., Goldsmith, C.A. & Kobzik, L. (1999). Increased airway hyperresponsiveness and inflammation in a juvenile mouse model of asthma exposed to air-pollutant aerosol. *J Toxicol Environ Health A*, **58**, 129-143.
- 23 Harder, S.D., Soukup, J.M., Ghio, A.J., Devlin, R.B. & Becker, S. (2001). Inhalation of PM_{2.5} does not modulate host defense or immune parameters in blood or lung of normal human subjects. *Environmental Health Perspectives*, **109 Suppl 4**, 599-604.

- 24 Harkema, J.R., Keeler, G., Wagner, J., Morishita, M., Timm, E., Hotchkiss, J., Marsik, F., Dvonch, T., Kaminski, N. & Barr, E. (2004). Effects of concentrated ambient particles on normal and hypersecretory airways in rats. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-68; discussion 69-79.
- 25 Hashimoto, K., Ishii, Y., Uchida, Y., Kimura, T., Masuyama, K., Morishima, Y., Hirano, K., Nomura, A., Sakamoto, T., Takano, H., Sagai, M. & Sekizawa, K. (2001). Exposure to diesel exhaust exacerbates allergen-induced airway responses in guinea pigs. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **164**, 1957-1963.
- 26 Hauser, R., Rice, T.M., Krishna Murthy, G.G., Wand, M.P., Lewis, D., Bledsoe, T. & Paulauskis, J. (2003). The upper airway response to pollen is enhanced by exposure to combustion particulates: a pilot human experimental challenge study. *Environmental Health Perspectives*, **111**, 472-477.
- 27 Hiramatsu, K., Saito, Y., Sakakibara, K., Azuma, A., Takizawa, H. & Sugawara, I. (2005). The effects of inhalation of diesel exhaust on murine mycobacterial infection. *Experimental Lung Research*, **31**, 405-415.
- 28 Holgate, S.T., Devlin, R.B., Wilson, S.J. & Frew, A.J. (2003a). Health effects of acute exposure to air pollution. Part II: Healthy subjects exposed to concentrated ambient particles. *Research Report / Health Effects Institute*, 31-50; discussion 51-67.
- 29 Holgate, S.T., Sandstrom, T., Frew, A.J., Stenfors, N., Nordenhäll, C., Salvi, S., Blomberg, A., Helleday, R. & Soderberg, M. (2003b). Health effects of acute exposure to air pollution. Part I: Healthy and asthmatic subjects exposed to diesel exhaust. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-30; discussion 51-67.
- 30 Huang, Y.C., Ghio, A.J., Stonehuerner, J., McGee, J., Carter, J.D., Grambow, S.C. & Devlin, R.B. (2003). The role of soluble components in ambient fine particles-induced changes in human lungs and blood. *Inhalation Toxicology*, **15**, 327-342.

- 31 Ichinose, T., Takano, H., Miyabara, Y. & Sagai, M. (1998). Long-term exposure to diesel exhaust enhances antigen-induced eosinophilic inflammation and epithelial damage in the murine airway. *Toxicological Sciences*, **44**, 70-79.
- 32 Ichinose, T., Takano, H., Miyabara, Y., Yanagisawa, R. & Sagai, M. (1997). Murine strain differences in allergic airway inflammation and immunoglobulin production by a combination of antigen and diesel exhaust particles. *Toxicology*, **122**, 183-192.
- 33 Ichinose, T., Takano, H., Sadakane, K., Yanagisawa, R., Yoshikawa, T., Sagai, M. & Shibamoto, T. (2004). Mouse strain differences in eosinophilic airway inflammation caused by intratracheal instillation of mite allergen and diesel exhaust particles. *Journal of Applied Toxicology*, **24**, 69-76.
- 34 Kleinman, M. & Phalen, R. (2006). Toxicological interactions in the respiratory system after inhalation of ozone and sulfuric acid aerosol mixtures. *Inhalation Toxicology*, **18**, 295-303.
- 35 Kleinman, M.T., Hyde, D.M., Bufalino, C., Basbaum, C., Bhalla, D.K. & Mautz, W.J. (2003). Toxicity of chemical components of fine particles inhaled by aged rats: effects of concentration. *Journal of the Air and Waste Management Association*, **53**, 1080-1087.
- 36 Kobayashi, T. & Ito, T. (1995). Diesel exhaust particulates induce nasal mucosal hyperresponsiveness to inhaled histamine aerosol. *Fundamental and Applied Toxicology*, **27**, 195-202.
- 37 Kobzik, L., Goldsmith, C.A., Ning, Y.Y., Qin, G., Morgan, B., Imrich, A., Lawrence, J., Murthy, G.G. & Catalano, P.J. (2001). Effects of combined ozone and air pollution particle exposure in mice. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-29; discussion 31-28.
- 38 Kodavanti, U.P., Hauser, R., Christiani, D.C., Meng, Z.H., McGee, J., Ledbetter, A., Richards, J. & Costa, D.L. (1998). Pulmonary responses to oil fly ash particles in the rat differ by virtue of their specific soluble metals. *Toxicological Sciences*, **43**, 204-212.
- 39 Kodavanti, U.P., Jackson, M.C., Ledbetter, A.D., Richards, J.R., Gardner, S.Y., Watkinson, W.P., Campen, M.J. & Costa, D.L. (1999).

- Lung injury from intratracheal and inhalation exposures to residual oil fly ash in a rat model of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Toxicol Environ Health A*, **57**, 543-563.
- 40 Kodavanti, U.P., Jaskot, R.H., Costa, D.L. & Dreher, K.L. (1997). Pulmonary proinflammatory gene induction following acute exposure to residual oil fly ash: roles of particle-associated metals. *Inhalation Toxicology*, **9**, 679-701.
- 41 Kodavanti, U.P., Mebane, R., Ledbetter, A., Krantz, T., McGee, J., Jackson, M.C., Walsh, L., Hilliard, H., Chen, B.Y., Richards, J. & Costa, D.L. (2000a). Variable pulmonary responses from exposure to concentrated ambient air particles in a rat model of bronchitis. *Toxicological Sciences*, **54**, 441-451.
- 42 Kodavanti, U.P., Schladweiler, M.C., Ledbetter, A.D., Hauser, R., Christiani, D.C., McGee, J., Richards, J.R. & Costa, D.L. (2002). Temporal association between pulmonary and systemic effects of particulate matter in healthy and cardiovascular compromised rats. *J Toxicol Environ Health A*, **65**, 1545-1569.
- 43 Kodavanti, U.P., Schladweiler, M.C., Ledbetter, A.D., Watkinson, W.P., Campen, M.J., Winsett, D.W., Richards, J.R., Crissman, K.M., Hatch, G.E. & Costa, D.L. (2000b). The spontaneously hypertensive rat as a model of human cardiovascular disease: evidence of exacerbated cardiopulmonary injury and oxidative stress from inhaled emission particulate matter. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **164**, 250-263.
- 44 Kuschner, W.G., D'Alessandro, A., Wong, H. & Blanc, P.D. (1997). Early pulmonary cytokine responses to zinc oxide fume inhalation. *Environmental Research*, **75**, 7-11.
- 45 Lambert, A.L., Dong, W., Selgrade, M.K. & Gilmour, M.I. (2000). Enhanced allergic sensitization by residual oil fly ash particles is mediated by soluble metal constituents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **165**, 84-93.
- 46 Lambert, A.L., Trasti, F.S., Mangum, J.B. & Everitt, J.I. (2003). Effect of preexposure to ultrafine carbon black on respiratory

- syncytial virus infection in mice. *Toxicological Sciences*, **72**, 331-338.
- 47 Lay, J.C., Bennett, W.D., Ghio, A.J., Bromberg, P.A., Costa, D.L., Kim, C.S., Koren, H.S. & Devlin, R.B. (1999). Cellular and biochemical response of the human lung after intrapulmonary instillation of ferric oxide particles. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **20**, 631-642.
- 48 Lei, Y.C., Chan, C.C., Wang, P.Y., Lee, C.T. & Cheng, T.J. (2004a). Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats. *Environmental Research*, **95**, 71-76.
- 49 Lei, Y.C., Chen, M.C., Chan, C.C., Wang, P.Y., Lee, C.T. & Cheng, T.J. (2004b). Effects of concentrated ambient particles on airway responsiveness and pulmonary inflammation in pulmonary hypertensive rats. *Inhalation Toxicology*, **16**, 785-792.
- 50 Li, X.Y., Gilmour, P.S., Donaldson, K. & MacNee, W. (1996). Free radical activity and pro-inflammatory effects of particulate air pollution (PM10) in vivo and in vitro. *Thorax*, **51**, 1216-1222.
- 51 Lim, H.B., Ichinose, T., Miyabara, Y., Takano, H., Kumagai, Y., Shimojyo, N., Devalia, J.L. & Sagai, M. (1998). Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, **25**, 635-644.
- 52 Madden, M.C., Richards, J.H., Dailey, L.A., Hatch, G.E. & Ghio, A.J. (2000). Effect of ozone on diesel exhaust particle toxicity in rat lung. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **168**, 140-148.
- 53 Madden, M.C., Thomas, M.J. & Ghio, A.J. (1999). Acetaldehyde (CH₃CHO) production in rodent lung after exposure to metal-rich particles. *Free Radical Biology and Medicine*, **26**, 1569-1577.
- 54 Miyabara, Y., Ichinose, T., Takano, H. & Sagai, M. (1998a). Diesel exhaust inhalation enhances airway hyperresponsiveness in mice. *International Archives of Allergy and Immunology*, **116**, 124-131.
- 55 Miyabara, Y., Takano, H., Ichinose, T., Lim, H.B. & Sagai, M. (1998b).

- Diesel exhaust enhances allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **157**, 1138–1144.
- 56 Miyabara, Y., Yanagisawa, R., Shimojo, N., Takano, H., Lim, H.B., Ichinose, T. & Sagai, M. (1998c). Murine strain differences in airway inflammation caused by diesel exhaust particles. *European Respiratory Journal*, **11**, 291–298.
- 57 Molhave, L., Kjaergaard, S.K., Sigsgaard, T. & Lebowitz, M. (2005). Interaction between ozone and airborne particulate matter in office air. *Indoor Air*, **15**, 383–392.
- 58 Molinelli, A.R., Madden, M.C., McGee, J.K., Stonehuerner, J.G. & Ghio, A.J. (2002). Effect of metal removal on the toxicity of airborne particulate matter from the Utah Valley. *Inhalation Toxicology*, **14**, 1069–1086.
- 59 Muranaka, M., Suzuki, S., Koizumi, K., Takafuji, S., Miyamoto, T., Ikemori, R. & Tokiwa, H. (1986). Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **77**, 616–623.
- 60 Nightingale, J.A., Maggs, R., Cullinan, P., Donnelly, L.E., Rogers, D.F., Kinnersley, R., Chung, K.F., Barnes, P.J., Ashmore, M. & Newman-Taylor, A. (2000). Airway inflammation after controlled exposure to diesel exhaust particulates. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **162**, 161–166.
- 61 Nordenhäll, C., Pourazar, J., Blomberg, A., Levin, J.O., Sandstrom, T. & Adelroth, E. (2000). Airway inflammation following exposure to diesel exhaust: a study of time kinetics using induced sputum. *European Respiratory Journal*, **15**, 1046–1051.
- 62 Nordenhäll, C., Pourazar, J., Ledin, M.C., Levin, J.O., Sandstrom, T. & Adelroth, E. (2001). Diesel exhaust enhances airway responsiveness in asthmatic subjects. *European Respiratory Journal*, **17**, 909–915.
- 63 Ohta, K., Yamashita, N., Tajima, M., Miyasaka, T., Nakano, J., Nakajima, M., Ishii, A., Horiuchi, T., Mano, K. & Miyamoto, T. (1999).

- Diesel exhaust particulate induces airway hyperresponsiveness in a murine model: essential role of GM-CSF. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **104**, 1024-1030.
- 64 Ohyama, K., Taguchi, K. & T.Suzuki. (1998). Adjuvant activity of diesel exhaust particles in production of specific antibodies to fungi allergen in mice. *東京都立衛生研究所研究年報*, **49**, 232-236.
- 65 Pourazar, J., Mudway, I.S., Samet, J.M., Helleday, R., Blomberg, A., Wilson, S.J., Frew, A.J., Kelly, F.J. & Sandstrom, T. (2005). Diesel exhaust activates redox-sensitive transcription factors and kinases in human airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, **289**, L724-730.
- 66 Rhoden, C.R., Lawrence, J., Godleski, J.J. & Gonzalez-Flecha, B. (2004). N-acetylcysteine prevents lung inflammation after short-term inhalation exposure to concentrated ambient particles. *Toxicological Sciences*, **79**, 296-303.
- 67 Rudell, B., Blomberg, A., Helleday, R., Ledin, M.C., Lundback, B., Stjernberg, N., Horstedt, P. & Sandstrom, T. (1999). Bronchoalveolar inflammation after exposure to diesel exhaust: comparison between unfiltered and particle trap filtered exhaust. *Occupational and Environmental Medicine*, **56**, 527-534.
- 68 Rudell, B., Ledin, M.C., Hammarstrom, U., Stjernberg, N., Lundback, B. & Sandstrom, T. (1996). Effects on symptoms and lung function in humans experimentally exposed to diesel exhaust. *Occupational and Environmental Medicine*, **53**, 658-662.
- 69 Rudell, B., Sandström, T., Stjernberg, N. & Kolmodin-Hedman, B. (1990). Controlled diesel exhaust exposure in an exposure chamber: pulmonary effects investigated with bronchoalveolar lavage *Journal of Aerosol Science*, **21**, S411-S414
- 70 Sagai, M., Furuyama, A. & Ichinose, T. (1996). Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). III. Pathogenesis of asthma like symptoms in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, **21**, 199-209.
- 71 Sagai, M., Saito, H., Ichinose, T., Kodama, M. & Mori, Y. (1993). Biological effects of diesel exhaust particles. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radical*

- Biology and Medicine*, **14**, 37-47.
- 72 Saito, Y., Azuma, A., Kudo, S., Takizawa, H. & Sugawara, I. (2002). Long-term inhalation of diesel exhaust affects cytokine expression in murine lung tissues: comparison between low- and high-dose diesel exhaust exposure. *Experimental Lung Research*, **28**, 493-506.
- 73 Saldiva, P.H., Clarke, R.W., Coull, B.A., Stearns, R.C., Lawrence, J., Murthy, G.G., Diaz, E., Koutrakis, P., Suh, H., Tsuda, A. & Godleski, J.J. (2002). Lung inflammation induced by concentrated ambient air particles is related to particle composition. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **165**, 1610-1617.
- 74 Salvi, S., Blomberg, A., Rudell, B., Kelly, F., Sandstrom, T., Holgate, S.T. & Frew, A. (1999). Acute inflammatory responses in the airways and peripheral blood after short-term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **159**, 702-709.
- 75 Schins, R.P., Lightbody, J.H., Borm, P.J., Shi, T., Donaldson, K. & Stone, V. (2004). Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **195**, 1-11.
- 76 Silbajoris, R., Ghio, A.J., Samet, J.M., Jaskot, R., Dreher, K.L. & Brighton, L.E. (2000). In vivo and in vitro correlation of pulmonary MAP kinase activation following metallic exposure. *Inhalation Toxicology*, **12**, 453-468.
- 77 Soukup, J.M., Ghio, A.J. & Becker, S. (2000). Soluble components of Utah Valley particulate pollution alter alveolar macrophage function in vivo and in vitro. *Inhalation Toxicology*, **12**, 401-414.
- 78 Steerenberg, P.A., Withagen, C.E., van Dalen, W.J., Dormans, J.A., Heisterkamp, S.H., van Loveren, H. & Cassee, F.R. (2005). Dose dependency of adjuvant activity of particulate matter from five European sites in three seasons in an ovalbumin-mouse model. *Inhalation Toxicology*, **17**, 133-145.
- 79 Stenfors, N., Nordenhäll, C., Salvi, S.S., Mudway, I., Soderberg, M., Blomberg, A., Helleday, R., Levin, J.O., Holgate, S.T., Kelly,

- F.J., Frew, A.J. & Sandstrom, T. (2004). Different airway inflammatory responses in asthmatic and healthy humans exposed to diesel. *European Respiratory Journal*, **23**, 82-86.
- 80 Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., Tadokoro, K., Miyamoto, T., Ikemori, R. & Muranaka, M. (1987). Diesel-exhaust particulates inoculated by the intranasal route have an adjuvant activity for IgE production in mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **79**, 639-645.
- 81 Takano, H., Ichinose, T., Miyabara, Y., Shibuya, T., Lim, H.B., Yoshikawa, T. & Sagai, M. (1998a). Inhalation of diesel exhaust enhances allergen-related eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **150**, 328-337.
- 82 Takano, H., Ichinose, T., Miyabara, Y., Yoshikawa, T. & Sagai, M. (1998b). Diesel exhaust particles enhance airway responsiveness following allergen exposure in mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **20**, 329-336.
- 83 Takano, H., Yoshikawa, T., Ichinose, T., Miyabara, Y., Imaoka, K. & Sagai, M. (1997). Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation and local cytokine expression in mice. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **156**, 36-42.
- 84 Tunnicliffe, W.S., Evans, D.E., Mark, D., Harrison, R.M. & Ayres, J.G. (2001). The effect of exposure to sulphuric acid on the early asthmatic response to inhaled grass pollen allergen. *European Respiratory Journal*, **18**, 640-646.
- 85 Vincent, R., Bjarnason, S.G., Adamson, I.Y., Hedgecock, C., Kumarathasan, P., Guénette, J., Potvin, M., Goegan, P. & Bouthillier, L. (1997). Acute pulmonary toxicity of urban particulate matter and ozone. *American Journal of Pathology*, **151**, 1563-1570.
- 86 Win-Shwe, T.T., Yamamoto, S., Kakeyama, M., Kobayashi, T. & Fujimaki, H. (2005). Effect of intratracheal instillation of ultrafine carbon black on proinflammatory cytokine and chemokine release and mRNA expression in lung and lymph nodes of mice. *Toxicology and Applied*

- Pharmacology*, **209**, 51-61.
- 87 Yang, H. M., Antonini, J. M., Barger, M. W., Butterworth, L., Roberts, B. R., Ma, J. K., Castranova, V. & Ma, J. Y. (2001). Diesel exhaust particles suppress macrophage function and slow the pulmonary clearance of *Listeria monocytogenes* in rats. *Environmental Health Perspectives*, **109**, 515-521.
- 88 Yin, X. J., Dong, C. C., Ma, J. Y., Antonini, J. M., Roberts, J. R., Barger, M. W. & Ma, J. K. (2005). Sustained effect of inhaled diesel exhaust particles on T-lymphocyte-mediated immune responses against *Listeria monocytogenes*. *Toxicological Sciences*, **88**, 73-81.
- 89 Zelikoff, J. T., Chen, L. C., Cohen, M. D., Fang, K., Gordon, T., Li, Y., Nadziejko, C. & Schlesinger, R. B. (2003). Effects of inhaled ambient particulate matter on pulmonary antimicrobial immune defense. *Inhalation Toxicology*, **15**, 131-150.
- 90 Zelikoff, J. T., Schermerhorn, K. R., Fang, K., Cohen, M. D. & Schlesinger, R. B. (2002). A role for associated transition metals in the immunotoxicity of inhaled ambient particulate matter. *Environmental Health Perspectives*, **110 Suppl 5**, 871-875.
- 91 環境省. (2007a). (4) CAPs 曝露がマウスの細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響とメカニズム解明に関する研究. 微小粒子状物質曝露影響調査報告書.
- 92 環境省. (2007b). (6) CAPs 曝露が老齢ラットの心機能に与える影響に関する研究. 微小粒子状物質曝露影響調査報告書.