

## 6. 粒子成分と健康影響の関係

### 6.1. 仮説の紹介

粒子状物質は、様々な成分で構成され、地域や時間によって成分が変動する特徴を有している。成分の種類によって、生体内への影響の内容が異なることが考えられ、特定の成分によるヒトへの強い健康影響が生じる可能性もありうる。

大気粒子に含まれる構成成分による毒性発現の程度について考察するために、以下の仮説をたて、異なる成分を含む粒子を用いて同一の動物実験で実施し、毒性による影響の比較が可能な動物実験による知見に基づき、仮説の確からしさの程度に関する検証を行なう。

- (1) 微小粒子状物質の成分は毒性発現の重要な要素である。
- (2) 微小粒子状物質の毒性が特定の成分により引き起こされる。

### 6.2. 論文の紹介

#### 6.2.1. 微小粒子状物質の成分は毒性発現の重要な要素である。

Vincent ら(2001)は、Wistar ラットを用いてオタワ標準粉じん(EHC-93)とそれを水ろ過した EHC-93L、Diesel soot (DS)および CBP の曝露時間 4 時間の急性曝露の影響を調べた。曝露濃度は、EHC-93: 48mg/m<sup>3</sup>、EHC-93L: 49mg/m<sup>3</sup>、DS: 4.2mg/m<sup>3</sup> および CBP: 4.6mg/m<sup>3</sup>であった。

結果として、全ての曝露群で肺病理及びチミジンの取り込みに違いは見られなかった。EHC-93 曝露では曝露 2 日後で血圧が、32 時間でエンドセリン(ET)-1 が、2 時間、32 時間、48 時間で ET-3 がそれぞれ曝露前と比較して有意に上昇した。これに対して EHC-93L では血圧に明確な影響はなかったが、ET-1 及び ET-2 が曝露後 2 時間で曝露前と比較して有意に増加し、ET-3 が有意ではないが 2、24 時間後に増加し、その後減少した。

DS 曝露では曝露後 32 時間で ET-3 が有意に増加したが血圧への影響はなかった。CBP 曝露ではいずれの指標に関しても明確な影響は見られなかった。

本研究では、都市部大気中の EHC-93 粒子の吸入が血漿中の ET-1 及び ET-3 レベルに影響を与え、急性の肺障害がなくても血管収縮が生じる可能性が示された。更に、極性有機化合物や可溶性成分を取り除くことにより粒子が血行力学的変化に影響を与える可能性が示唆された。ET 上昇の病態生理学的重要性はヒトにおいて確立されているので、本研究における観察結果は吸入された粒子が心血管へ影響を与える可能性を裏付けるものである。ラットでのこれらの知見は、ヒトにおける大気中の粒子状物質と心血管疾患罹患及び死亡率との間の疫学的関連を支持する重要な証拠と考えられると著者は述べている。

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と比較して増加した。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。

Kotin ら(1955)は、暖機(負荷なし)または荷重運転時に DEP を回収し、そのアセトン抽出物をマウスの皮膚に塗布し腫瘍の発生を観察した。暖機運転時の DEP 抽出物塗布で C57Bl マウス(に 13 ヶ月後に 2 例の乳頭腫、荷重運転時の DEP 抽出物塗布では、A 系マウス(雄)に 4 例の腫瘍(組織型不明)、A 系マウス(雌)に 17 例(組織型不明)の腫瘍発生を認めた。

Suzuki ら(1993)は、DEP にも含まれるピレンと OVA との混合物をマウスの腹腔内に投与し、OVA のみを投与した動物に比べ混合物を投与した動物の方が OVA 特異 IgE 抗体の産生が高まったことからピレンにアジュバント作用がある可能性を指摘した。

Løvik ら(1997)は、BALB/c マウスを用いて、DEP と CB の局所リンパ節での免疫応答への影響について検索した。DEP は平均粒径  $0.03\mu\text{m}$  で  $0.1\text{mg}/\text{個体}$  を OVA 抗原と共に足蹠に皮下注射し経時的に 20 週後まで膝窩リンパ節の種々のインデックス(湿重量、細胞数、細胞増殖)を測定した。DEP+OVA 投与後 4~6 週後まではリンパ節の指標で有意な増加がみられ、CB を OVA と共に投与するとやはり DEP には劣るものの増加がみられた。抗 OVA IgE 抗体価も DEP+OVA で高い値が得られた。今回の結果から、DEP と CB の局所への投与でアジュバント効果がみられ、CB での結果から、DEP の効果は PAH 類のみならず核としてのカーボン分画にもあることが示唆された。

Gavett ら(1997)は 2 種類の ROFA の肺への影響を比較し、ROFA のどの成分が大きく影響を及ぼすか検討した。2 種類の ROFA を用意し、それぞれ  $2.5\text{ mg}$  を  $0.3\text{ mL}$  の生理食塩水に懸濁し、R1、R2 とした。さらに R1、R2 の上清を R1s、R2s とした。R1s、R2s の成分を表 2.1.1 に示す。SD ラット(雄)に R2、R2s、R1 または生理食塩水  $0.3\text{ mL}$  を気管内投与し、4 日後にアセチルコリン静脈注射による気道反応、BALF 中の細胞数および成分を検討した。その結果、R2 を投与したラット 12 匹のうち 3 匹が、また 12 匹の R2s のうち 1 匹が 4 日後までに死亡した。またアセチルコリンへの反応性は R2、R2s が R1s に比べ強かった。BALF 細胞については R1s と比較して R2、R2s は好中球の増加がみられた。このことから ROFA 中の可溶性の金属の組成の違いが肺の障害や気道の過敏の進行に大きな影響を与えることが示された。

表 2.1.1 ROFA の金属および硫酸塩の濃度

**TABLE 1**  
**Metal and Sulfate Concentrations in Residual Oil Fly**  
**Ash Particle-Free Supernatants<sup>a</sup>**

	R1s <sup>b</sup>		R2s	
Be	1.3 ± 0.1	(3)	0.24 ± 0.0	(3)
Cd	0.20 ± 0.09	(3)	1.55 ± 0.07	(3)
Co	4.4	(1)	5.3	(1)
Cr	5.3	(1)	5.3	(1)
Cu	1.07 ± 0.36	(4)	10.3 ± 0.6	(5)
Fe	125.4 ± 1.7	(7)	3.1 ± 0.5	(8)
Hg	0.88 ± 0.10	(3)	0.45 ± 0.05	(3)
Mn	2.6	(1)	0.9 ± 0.9	(2)
Ni	226.1 ± 5.5	(7)	121.8 ± 3.7	(9)
V	261.1 ± 6.6	(7)	168.4 ± 10.1	(5)
Zn	6.7 ± 0.9	(6)	209.7 ± 4.6	(7)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	4476.0 ± 78.0	(4)	2527.0 ± 68.0	(4)

<sup>a</sup> Samples of ROFA were mixed with saline (8.33 mg/ml) and sonicated, and particle-free supernatants (R1s and R2s, as defined under Materials and Methods) were analyzed for metal and sulfate concentrations by ICP-AES.

<sup>b</sup> All values are in μg/ml and given as mean ± SE; number of replicates is shown in parentheses.

6.2.2. 微小粒子状物質の毒性が特定の成分により引き起こされる。  
 (現在、科学的知見を整理中)

### 6.3. 論文による仮説の検証

6.3.1. 微小粒子状物質の成分は毒性発現の重要な要素である。

CAPS (PM<sub>2.5</sub>)、DEP、ROFA 毎に成分と毒性発現との関係を調べた。

#### a) CAPS (PM<sub>2.5</sub>)

Vincent ら (2001) は、オタワ標準粉じん (EHC-93) とそれを水ろ過した EHC-93L をラットに吸入(鼻部)曝露して循環器系への影響を比較検討した。EHC-93 曝露により血圧、エンドセリン(ET)-1、ET-3 が上昇したが、EHC-93L 曝露では血圧に明確な影響はなかった。ET-1 及び ET-2 は増加したが、ET-3 に有意な変化は認めなかった。すなわち水ろ過により極性有機化合物や可溶性成分を取り除くと、血行力学的影響が消失した。

Molinelli ら (2002) によると、ラットの気管内への TSP 抽出物投与により、BALF 中のタンパク質や LDH は増加した。金属類除去 TSP 抽出物ではこの変化は減弱し、金属類除去 TSP 抽出物に金属類を加えると毒性は復活した。

曝露影響評価報告書 (毒性分野) によると、ラット内皮細胞培養系を用いた研究で、PM<sub>2.5</sub> 抽出物は、微小血管内皮細胞に酸化ストレスを与えることにより細胞傷害を引き起こし、抗酸化系酵素の遺伝子発現量を増加させた。また、PM<sub>2.5</sub> 抽出物は同細胞の細胞

間接着構造に障害を与え、物質透過性を亢進した (p17)。

#### b) DEP

曝露影響評価報告書 (毒性分野、p17) によると、ラット内皮細胞培養系を用いた研究で、DEP 抽出物はラット微小血管内皮細胞に酸化ストレスを与えることにより細胞傷害を引き起こし、抗酸化系酵素の遺伝子発現量が増加させたが、その毒性は PM<sub>2.5</sub> 抽出物よりやや高い傾向を示した。

DEP 成分には代謝活性化を必要としない直接変異原物質が多く含まれ、その多くは強い変異原性を示す物質を多く含む PAH や多環芳香族ケトン等のニトロ誘導体であることは明らかである。

Kotin ら (1955) は、DEP のアセトン抽出物をマウスの皮膚に塗布し腫瘍の発生を観察した。

以上の結果から、DEP 成分 (有機溶媒可溶成分) は強い変異原性や皮膚への発がん性を有すると考えられる。

一方、DEP によるアジュバント効果はそれを構成するカーボンのみでも、PAH 類のみでもみられている (Løvik ら (1997); Suzuki ら (1993))。

#### c) ROFA

Gavett ら (1997) は、2 種類の ROFA の上清をラットに気管内投与した試験の結果から、ROFA 中の可溶性金属の組成の違いが肺の障害や気道の過敏の進行に影響を与えることを示した。

#### d) まとめ

微小粒子状物質の成分は毒性発現の重要な要素である。その理由として 1) オタワ標準粉じんによる血行力学的影響が同粉じんの水ろ過により消失したこと (Vincent ら (2001))、2) TSP 抽出物における金属類の除去による肺障害の減弱および再添加による肺障害の復活 (Molinelli ら (2002))、3) ROFA の懸濁液上清による肺障害や気道過敏性亢進 (Gavett ら (1997))、が挙げられる。

### 6.3.2. 微小粒子状物質の毒性が特定の成分により引き起こされる。

(現在、科学的知見に基づき作成中)

#### 参考文献

- 1 Gavett, S.H., Madison, S.L., Dreher, K.L., Winsett, D.W., McGee, J.K. & Costa, D.L. (1997). Metal and sulfate composition of residual oil fly ash determines

- airway hyperreactivity and lung injury in rats. *Environmental Research*, **72**, 162-172.
- 2 Kotin, P., Falk, H.L. & Thomas, M. (1955). Aromatic hydrocarbons. III. Presence in the particulate phase of diesel-engine exhausts and the carcinogenicity of exhaust extracts. *AMA Arch Ind Health*, **11**, 113-120.
- 3 Løvik, M., Hogseth, A.K., Gaarder, P.I., Hagemann, R. & Eide, I. (1997). Diesel exhaust particles and carbon black have adjuvant activity on the local lymph node response and systemic IgE production to ovalbumin. *Toxicology*, **121**, 165-178.
- 4 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.
- 5 Suzuki, T., Kanoh, T., Kanbayashi, M., Todome, Y. & Ohkuni, H. (1993). The adjuvant activity of pyrene in diesel exhaust on IgE antibody production in mice. *Arerugi Japanese Journal of Allergology*, **42**, 963-968.
- 6 Vincent, R., Kumarathasan, P., Goegan, P., Bjarnason, S.G., Guénette, J., Bérubé, D., Adamson, I.Y., Desjardins, S., Burnett, R.T., Miller, F.J. & Battistini, B. (2001). Inhalation toxicology of urban ambient particulate matter: acute cardiovascular effects in rats. *Research Report / Health Effects Institute*, 5-54; discussion 55-62.