

(8) まとめ

第1期では、CAPs 曝露システムが作製稼動される前段階の予備的研究として、PM_{2.5}が呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響や機構の検討に資することを目的とし、平成11年度から15年度にかけて、大気中微小粒子状物質の有機溶媒抽出成分(PM_{2.5}抽出物)及びDEPの有機溶媒抽出成分(DEP抽出物)等を用いて、動物への気管内投与実験や肺を構成する細胞実験を行った。以下では、各種実験で得られた結果について、PM_{2.5}抽出物による影響を中心に、DEP抽出物による影響との差異についても触れつつ要約した。

実験で使用したPM_{2.5}抽出物(DEP抽出物)は、捕集した微小粒子(DEP)を有機溶媒で抽出したものであるため、PM_{2.5}(DEP)の有機成分に相当するものである。スペクトル分析等の結果によると、PM_{2.5}抽出物は、有機成分全体では酸素などの官能基(OH基やカルボニル基等)を持った物質がDEP抽出物に比較して多い物質群で構成されていることがわかった。

細胞を用いた実験研究では、ラット内皮細胞の培養系を用いて、PM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物が血管内皮微小環境に及ぼす影響を調べた。その結果、PM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物はともに血管内皮細胞に酸化ストレスを与え、凝固線溶系に影響を及ぼすこと、PM_{2.5}抽出物はDEP抽出物より細胞障害性がやや低く抗酸化系酵素の遺伝子発現量の上昇が少ないことが示唆された。

動物への気管内投与実験研究では、高感受性群に着目し、細菌毒素投与により肺傷害を起こしたマウス、心不全マウス・ラット、若齢・老齢・心肺疾患ラット、高血圧ラットの動物を用いて、PM_{2.5}抽出物が呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響に関する計4課題の実験研究を実施した。

「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に関する研究」においては、PM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物又は抽出後DEP粒子は、それら単独では正常マウスの肺への炎症を惹起する可能性が低い場合でも、細菌毒素により肺の炎症を誘発したマウスにおいては、細菌毒素受容体や炎症性サイトカインやケモカインの発現増強あるいは抗炎症性サイトカインの発現減弱等を介し、炎症を増悪する可能性があることが示唆された。また、PM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物による増悪作用は概ね類似していたが、抽出後DEP粒子はPM_{2.5}抽出物やDEP抽出物と異なる増悪メカニズムを介している可能性が示唆された。

「心不全ラットの心電図及び血圧変化に与える影響に関する研究」においては、正常ラット及び心不全ラットともに、PM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物いずれの気管内投与によっても特異的な心電図影響は認められなかった。

「若齢・老齢及び高血圧ラットの心肺機能及び肺組織・血管系に及ぼす影響に関する研究」においては、若齢及び老齢ラットへのPM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物の気管内単回投与により、いずれも初期に軽度の局所炎症を引き起こしたが、その影響は心肺機能(自律神経系も含む)及び肺構築に影響を及ぼすほどのものではなかった。

「高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究」においては、自然発症高血圧ラット(SHR)においてPM_{2.5}抽出物の投与後(3時間後)に明らかな肺抵抗の増加、心電図R-R間隔の延長(心拍数の減少)及びHF成分(副交感神経活動)の増加が認められたが、対照群(WKY)ではPM_{2.5}抽出物投与後に肺抵抗が増加したが心拍数及び副交感神経活動の有意な変化はなかった。一方、DEP抽出物は、SHR及びWKYいずれにおいても投与後に肺抵抗を増加させたもののPM_{2.5}抽出物に比べて軽度であり、また心拍数及び副交感神経活動への有意な影響は認められず、PM_{2.5}抽出物と比べて影響が弱いことが示唆された。

以上をまとめると、第1期の気管内投与実験及び細胞を用いた結果から、PM_{2.5}抽出物は、定性的ではあるが、ラットの血管内皮細胞に酸化ストレスを与え凝固線溶系に影響を及ぼし得ること、マウスにおいて細菌毒素により誘発した肺の炎症を増悪する作用、自然高血圧ラットにおいて心拍数の減少や副交感神経を介した影響をもたらすことが確認された。

PM_{2.5}抽出物と DEP 抽出物の比較に関しては、多くの実験で両者の影響は類似したものであったが、異なる影響を示したものもあった。「ラットの血管内皮微小環境に及ぼす影響に関する研究」では、PM_{2.5}抽出物が DEP 抽出物より細胞障害性がやや低く抗酸化系酵素の遺伝子発現量の上昇が少ないことが示唆された。気管内投与実験のうち「高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究」では、DEP 抽出物で見られない心拍数及び副交感神経活動の有意な変化が PM_{2.5}抽出物の気管内投与で認められた。また、「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に関する研究」では、非有機成分から構成される抽出後 DEP 粒子が有機成分である PM_{2.5}抽出物や DEP 抽出物と異なる肺の炎症への増悪メカニズムを介している可能性が示唆された。

一般に、気管内投与は吸入曝露と比較して簡易であることや、同一の物質が気道内に投与されることから、吸入曝露と類似の影響が観察されることが多く、吸入曝露の代換として用いられる。一方、気管内投与は吸入曝露に比較し、高濃度の投与物質が気道に入ることや、気道内での分布も吸入曝露の場合と異なるため、吸入曝露の場合と影響が異なる可能性がある。

今回の気管内投与実験において用いられた微小粒子状物質抽出物の投与量は3.0mg/kg体重であり、ラット体重を0.35kg、ラット呼吸量を0.26m³/day、気道沈着率を100%と仮定して、気管内投与量を呼吸に伴う大気からの1日摂取量に換算すると大気濃度は約4.0mg/m³となる。微小粒子状物質抽出物が有機炭素（OC）成分と同等であると見なし、OCの抽出効率がほぼ100%であると考え、OCはPM_{2.5}重量の約20%程度という仮定のもとで気管内投与量を大気のPM_{2.5}濃度に換算すると約20 mg/m³となる。ただし、ここでは気道沈着率を100%とし、かつ気管内投与量を1日摂取分として換算しているため、気管内投与直後における気道への負荷量を気中濃度に換算した場合はさらに濃度が高くなり、今回の気管内投与実験が現実には起こり得ない程度の高負荷量実験に相当するとも考えられる。しかし、気道分岐部など粒子が局所的に高濃度に存在し得るいわゆるホットスポットにおける気道組織の粒子負荷量が、粒子が気管や気管支領域に均一に沈着した場合に比べて3000～25000倍に高まることを報告したシミュレーション結果もあることから[1]、気道分岐部などに限った微小粒子状物質の負荷を考えれば、今回の微小粒子状物質抽出物の気管内投与量は、大気中微小粒子状物質を吸入した場合の負荷量と比較して非現実的に高いとまではいえない。

第1期の実験で得られた成果は、これらの点を念頭に置いて見る必要があり、第2期に実施したCAPs曝露システムを用いた吸入曝露実験で得られた成果と比較して評価することが重要である（【4】参照）。

引用文献

- 1 Phalen RF, Oldham MJ, Nel AE. Tracheobronchial particle dose considerations for in vitro toxicology studies. Toxicol Sci 2006;92(1):126-132.