

III. 毒性学研究（人ボランティア実験）に関するレビュー

1. 実験室での曝露研究

1.1 呼吸器系および全身への影響

1.1.1 DE：ディーゼル排気）または DEP

① DE または DEP の吸入

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、マクロファージの貪食能の有意な減少がみられた。

Rudell ら (1994) は、間欠的運動下（75W の負荷で 10 分間の運動と 10 分間の安静の繰り返し）で 1 時間、ディーゼル・エンジン（Scania Vabis AL36, 1968）からの希釈された排気に曝露チャンバーで 8 人の健康な非喫煙者（19～27 歳：平均年齢 23 歳）を曝露した。ディーゼル排気の希釈は、NO₂ レベルの中央値が 1.6 ppm のレベルになるように調節した。粒子数の中央値は、 $4.3 \times 10^6 / \text{cm}^3$ 、NO と CO の中央値は、それぞれ 3.7 と 27 ppm であった。スパイロメトリーや窒素洗い出し法によるクロージング・ボリュームに影響はみられなかった。全員が不快な臭い、眼刺激および鼻の刺激を認めたが、咽頭刺激、頭痛、めまい、嘔気、疲労感および咳に関しては、8 人のうち 3 人は認めなかった。これらの症状は、曝露後 30 分で消失した。

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; $2.6 \times 10^6 / \text{cm}^3$ 、NO₂ ; 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 mg/m³) 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。

Blomberg ら (1998)は、15 人の健康な非喫煙者で無症状の被験者 (男 11 人、女 4 人 ; 年齢中央値は 25 歳 ; 21~28 歳) をろ過空気または希釈されたディーゼル排気 ($300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 粒子、1.6 ppm NO_2) 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 発生は、Volvo TD 45B のディーゼル・エンジン (1991 年型) を用いた。DE によって引き起こされる抗オキシダント反応の動態を調べるために、曝露前、直後、および 5 時間半後に、鼻洗浄液と血液を採集した。気管支鏡検査は、DE 曝露後 6 時間目に行った。鼻洗浄液、気管支肺胞洗浄液および血漿サンプルについてアスコルビン酸、尿酸および還元型グルタチオン (GSH) 濃度を測定した。血漿および気管支肺胞洗浄液サンプルについては、malondialdehyde (MDA) および protein carbonyl 濃度を測定した。DE への 1 時間曝露後の鼻洗浄液のアスコルビン酸濃度は、ろ過空気曝露に比し DE 曝露で 12 倍増加したが [$0.58 (0.25-1.02)$ 対 $7.13 (4.68-10.79) \mu\text{mol}/\text{L}$]、曝露後 5.5 時間後にベースライン・レベルに戻った [$0.78 (0.26-1.51) \mu\text{mol}/\text{L}$]。鼻洗浄液の尿酸と GSH 濃度に関しては、DE 曝露の有意な影響はみられなかった。DE 曝露は、血漿、気管支洗浄液や BALF 中の抗オキシダント濃度に影響を与えなかった。また、MDA や protein carbonyl 濃度の変化もみられなかった。DE への急性曝露に対する生理学的反応は、鼻腔におけるアスコルビン酸レベルの増加であるが、この反応は、正常者の呼吸道におけるオキシダント・ストレスをさらに予防するのに十分であるようにみえると述べている。

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_{1.0}、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 (1999b) は、異なる 4 つの自動車キャビンのエア・フィルターの DE 成分の侵入を防ぐ効率を調べた。32 人の健康な非喫煙者 (男 15 人、女 17 人、平均年齢 29 歳 : 21 ~ 53 歳) をフィルターのない希釈された DE と 4 つの異なるフィルターを通して DE に 1 時間曝露した。ろ過されない DE の各成分濃度は、粒子 : 0.29 mg/m³、CO : 1.1 ppm、HC : 1.4 ppm、ホルムアルデヒド : 36 μg/m³、アセトアルデヒド : 27 μg/m³ であった。4 つのフィルターのうち 2 つは単純な粒子フィルター、他の 2 つは活性炭を伴ったガス状物質を減量する粒子フィルターであった。単純な粒子フィルターは、粒子濃度を約半分減らしたが、自覚症状の強度は減少しなかった。活性炭を伴ったフィルターは、有意に自覚症状と不快感を減少させた。鼻洗浄液 (好中球と好酸球、myeloperoxidase、IL-8 と tryptase)、rhinometry および肺機能 (FVC、FEV_{1.0}) への急性影響はみられなかった。

Rudell ら (1999a) 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 × 10⁶/cm³、NO₂ : 1.3 ppm、NO : 3.4 ppm、HC : 4.2 ppm、ホルムアルデヒド : 0.32 mg/m³)、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 L/min/m² 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、CD3+CD25+細胞 (CD=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、 $\text{PM}_{10} : 300\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{NO}_2 : 1.6\ \text{ppm}$ 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。

Salviら (2000)は、15 人の健康な志願者 (男 11 人、女 4 人、平均年齢 24 歳 ; 21~28 歳) を曝露チャンバーで 1 時間、希釈された DE または空気に曝露した。DE は、Volvo ディーゼル・エンジンで発生させ、曝露濃度は、 $\text{PM}_{10} : 300\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{NO}_2 : 1.6\ \text{ppm}$ 、 $\text{NO} : 4.5\ \text{ppm}$ 、 $\text{CO} : 7.5\ \text{ppm}$ 、総炭化水素 : $4.3\ \text{ppm}$ 、ホルムアルデヒド : $0.26\ \text{mg}/\text{m}^3$ 、および浮遊粒子 : $4.3 \times 10^6/\text{cm}^3$ になるように維持した。被験者は、曝露中、15 分の中等度の運動 (分時換気量 = $20\ \text{L}/\text{min}/\text{m}^2$) と安静を繰り返した。気管支内の粘膜バイオプシーと気管支洗浄 (BW) 細胞を得るために各曝露後 6 時間後に気管支鏡を行った。気管支組織におけるサイトカインタンパク質の発現量を定量するために、サイトカイン mRNA gene transcripts (遺伝子転写) の相対量を定量するための新しい鋭敏な技術である reverse transcriptase/polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay (RT-PCR ELISA : 逆転写酵素/ポリメラーゼ連鎖反応 ELISA) および computer-assisted image analysis (コンピューター補助画像解析) 付きの免疫組織化学染色を用いて、DE が、気管支上皮における IL-8 と growth-regulated oncogene-alpha ($\text{GRO-}\alpha$) タンパク質の発現量

の増加および気管支組織における IL-5 mRNA 遺伝子転写の増加傾向を供なった気管支組織と BW 細胞における IL-8 の遺伝子転写を増強させることを示した。DE への急性曝露後 6 時間で、気管支組織における IL-8 mRNA の遺伝子転写の表現は 17% の増加 ($p=0.02$) および BW 細胞では 240% の増加がみられた。この時点での DE 曝露後、気管支組織や BW 細胞の何れにおいても IL-1 β 、IL-4、TNF- α 、IFN- γ 、および granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF : 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子) の遺伝子転写レベルには有意な変化はなかった。DE は、気道上皮における IL-8 の免疫染色が陽性の面積を 198% 増加 [空気対ディーゼル : 2.3 (0.7~2.9) 対 4.5 (1.7~7.1) ; $p=0.04$] させ、GRO- α 染色では 229% 増加 [空気対ディーゼル : 0.9 (0.6~1.3) 対 2.0 (1.4~6.2) ; $p=0.01$] させた。GM-CSF や ENA-78 では差がみられなかった。DE への曝露後、11 人のうち 9 人が、気管支組織における IL-5 mRNA の遺伝子転写物の 230% の増加を示したが、BW 細胞では変化がみられなかった。これらの観察は、DE 誘発の気道の白血球浸潤の基礎的な機構を示唆し、疫学研究でみられる粒子状物質の大気レベルといろいろの呼吸器の健康指標との間で観察される関連について可能性のある説明を提供していると述べている。

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。

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、曝露チャンバー内に入る 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、NO₂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20L/min/m²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PM₁₀:108.3 μg/m³、CO:1.7 ppm、NO:0.6 ppm、NO₂:0.2 ppm、HC:1.4 ppm、HCHO:43.5 μg/m³であった。被験者は間欠的運動下(分時換気量が15~20 L/min/m²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β₂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 μmの空気力学径の50%カット-オフの

粒子 (PM₁₀) 濃度が 108 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (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 FEV_{1.0} 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_{1.0} 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 μm 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 MMD で 10 μm 以下の粒径 (PM₁₀) 濃度 : 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、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/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 L/min/m² 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- κ B (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- κ B、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。

② DEP の鼻腔内投与

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して述べている。

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 が検出されたにすぎなかったが、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 (1999) は、DEP が新抗原に対する粘膜 IgE 反応に対して粘膜アジュバントとして作用するかどうかを調べた。新抗原は、ヒトではクロス反応する既知の抗体をもたない marine mollusk (*Megathura crenulata* : 海の軟体動物) の血液から分離した糖タンパク質の keyhole limpet hemocyanin (KLH) を用いた。DEP は、ディーゼル乗用車からの排気を捕集したものである。被験者は、25 人の健康な非喫煙者 (男 11 人、女 14 人 ; 21~55 歳) で、全ての被験者は、塵ダニ・アレルゲンを除いて、少なくとも一つの空中アレルゲンに対して陽性の皮膚プリック・テストを示した。さらに全被験者は、季節性

の気道アレルギーの既往があるが無症状であった。10人のアトピーの被験者を、1 mg の KLH で鼻を最初に免疫して、次いで 100 μ g の KLH で隔週に 2 回鼻にチャレンジした。また、15人の異なるアトピーの被験者に DEP を各 KLH 曝露の 24 時間前に投与し、全く同じ鼻の KLH 免疫を行った。DEP は 0.3 mg を 200 μ L の食塩水に浮遊させ鼻にスプレーした。最初の KLH 投与後、14、28、29 および 32 日目に鼻洗浄を行い KLH に対する抗体を調べた。その結果、32 日目では、KLH のみへの曝露は、鼻洗浄液中で、抗 KLH IgG は全ての被験者に、IgA は 10 人中 8 人に、IgG4 は 10 人中 4 人に検出されたが抗 KLH IgE は誰にも検出されなかった。反対に、KLH に先立ち DEP でチャレンジすると、15人のうち 9人が抗 KLH 特異的 IgE を産生した。KLH のみでみられたのと同様のレベルで抗 KLH 特異的 IgG と抗 KLH 特異的 IgA も検出された。DEP と KLH を受けた被験者では、鼻洗浄液中の IL-4 レベルを有意に増加させたが、IFN- γ レベルは増加しなかった。一方、これらのレベルは、KLH のみを受けた被験者では変化がみられなかった。これらの研究は、DEP が新しい IgE 反応に粘膜アジュバントとして作用し、アレルギー感作を増加させるかもしれないことを示していると述べている。

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。

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 ケモカインに一様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、アレルギーがなくても、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。

Kongerud ら (2006)は、DEP を鼻に投与されたヒトにおいて2タイプの鼻の反応、即ちサイトカイン反応の変化と IgE 産生の増加が報告されているので、DEP 粒子および O₃ で処理された DEP の鼻における IgE およびサイトカイン産生への影響を調べた。被験者は、3年前より喫煙していない健康な志願者 46 人 (男 24 人、女 22 人、平均年齢 26.2 歳) と、ハウスダスト・ダニのアレルギー性喘息患者 17 人 (男 6 人、女 11 人、平均年齢 23.3 歳) であった。National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, MD) から購入した標準参照物質 (SRM) ; 1650 DEP (heavy-duty ディーゼル・エンジン排出粒子の代表) および前もって O₃ に曝露させた DEP (oz DEP) を 0.005% の牛血清アルブミン (BSA) を含む滅菌食塩水に加え 1.5 mg/ml に調整した。外鼻孔に 300 μg および対照として 0.005% BSA 200 μl を含む食塩水を外鼻孔に注入した。ベースラインとして、DEP 曝露 (注入) 前に外鼻孔に 4 mL の食塩水を噴霧した。被験者は、DEP 曝露前および曝露後 4 時間後および 96 時間後に鼻洗浄を受けた。その結果、何れの被験者グループにおいても、総細胞数、細胞のタイプ、細胞生存度、可溶性メディエーター (IL-8、IL-6、IgE、および GM-CSF) 濃度は、これらの DEP あるいは oz DEP の何れの曝露でも影響されず、また鼻孔内 NO 濃度にも変化はなかった。以上から、DEP は比較的非炎症性物質で無毒性であり、ヒトへの健康影響を評価する場合には、DEP の物理化学的な特性を考慮する必要があることが示唆されたと述べている。

1.1.2 CAPs または CCPs

① CAPs の吸入

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、23.1~311.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の範囲 (MMAD は 0.65 μm) であったが、これらを四分位に分類した [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 25L/min/m² 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_{1.0}、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±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±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。

Petrovic ら (2000)は、ハーバード大気粒子濃縮機を用いて、トロントのダウンタウンの大気から濃縮された PM_{2.5} (CAPs) の健康影響を調べた。4 人の若い健康な非喫煙者 (男女各々 2 人、18~40 歳) をろ過空気 (FA) および 23~124 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の CAPs にマスクを介して鼻呼吸で、安静下で 2 時間曝露した。CAPs は、低 (31.5±7.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、中 (52.9±33.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、高レベル (92.1±24.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) に分類し、肺機能、症状報告、炎症性細胞、血液凝固因子および心臓への影響を調べた。CAPs 曝露中の、平均ガス濃度は、O₃ が 9±8 ppb、NO₂ が 20±7ppb であった。曝露後、心臓の影響を増強するために、130 bpm の心拍数を目標に 30 分の運動を行った。その間、心臓の反応を調べた。12 誘導の心電図 (ECG) データの心臓病専門医によるレビューでは、曝露中、曝露後や曝露後 24 時間に臨床的に有意な心臓への影響はみられなかった。高レベルの CAPs 曝露に続いて、運動後に測定された血漿フィブリノゲンは、FA 反応 (2%の平均増加) に比べ曝露前値以上の増加傾向 (10%の平均増加) を示した。統計的に唯一の肺機能への有意な影響 (p<0.01) は、胸腔容量が FA 後の平均 5.6%の増加に比べて高レベルの CAPs 曝露後には平均 6.4%の小さな減少がみられたことであった。しかし、呼吸器症状の増加は伴わなかった。誘発された痰での評価

では呼吸器の細胞性炎症性反応はみられなかった。しかし、CAPs 曝露後に鼻洗浄液中の好中球のパーセンテージの増加傾向がみられた。このパイロット研究の結果から、トロントにおける濃縮された大気 PM_{2.5} のこれらのレベルへの若い健康な志願者の曝露は、有意な急性の健康影響を引き起こさないかもしれないことを示している。PM_{2.5} の心肺系の影響をさらに調べるためには、より多くの被験者と感受性のある人々に関する研究がさらに必要であろうと述べている。

Gong ら (2000) は、大気中の PM_{2.5} が異常に高いロサンゼルス首都圏にある移動性人体曝露実験室に PM_{2.5} 粒径選別装置と二つのインパクト段階のあるハーバード粒子濃縮機を設置した。曝露チャンバーは、約 2,000 L 容量の修正したボディープレチスモグラフで、200 L/min 近い流量で、大気圧下 25 cmH₂O 近い圧で操作した。濃縮機は、通常、PM_{2.5} の大気濃度の 7~9 倍の濃度を供給した。必要なときは、その出力の一部を、HEPA フィルターを通して曝露濃度をコントロールした。濃縮係数は、湿度および/または高汚染大気状態でインパクトのスリットの急速な汚れで時々減少した。チャンバー内で、安静下で研究者 (健康な男子、53 歳) での最初のテストでは、稀に一時的な軽度の胸骨下の刺激、濃縮機の開始あるいは停止時の圧変化による短い軽度の中耳の不快感、および曝露とは無関係に発生している時々の異所性の心拍を除けば、問題になるような影響はみられなかった。チャンバー内の最高濃度は、30 分平均で、300 μ g/m³ を超えた。続いて、4 人の健康者 (男女各々 2 人、年齢 19~41 歳) が、2 時間の平均濃度が 148~246 μ g/m³ の大気 PM_{2.5} に 2 時間の安静曝露を、そして、HEPA フィルター空気 (コントロール条件) での類似の曝露を受けた。肺機能、症状、動脈酸素飽和度や Holter 心電図 (3 人の被験者で曝露中および曝露後 22 時間記録) で医学的に有意な変化は観察されなかった。CAPs への曝露は、ロサンゼルス首都圏において、操作可能で倫理的にも実施可能であるといえる。健康成人、それから呼吸器や心血管系疾患患者の志願者に関する大きなスケールの研究を計画している。

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の間欠的運動下 (分時換気量が 25L/min/m² 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。曝露中のチャンバー内の粒子濃度は、23.1~311.1 μ g/m³ 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 (μ g/m³) は、Q-2 : 47.2 \pm 5.3、Q-3 : 107.4 \pm 9.3、Q-4 : 206.7 \pm 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 で刺激後の貪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。

Gong ら (2003a)は、18~45 歳の 12 人の健康な非喫煙者（男女各々 6 人、平均年齢 28 歳）と 12 人の喘息患者（男女各々 6 人、平均年齢 34 歳）を平均濃度が $174 \mu\text{g}/\text{m}^3$ （範囲 99~224）の微小サイズ（PM_{2.5}）範囲の濃縮大気粒子（CAPs）とろ過空気（FA）に曝露した。2 段式のハーバードのインパクト濃縮機と全身ボディチャンバーを用い、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 時間曝露した。曝露前後に、症状質問票、血圧、Holter 心電図、動脈血酸素飽和度、スパイロメトリー（FVC、FEV_{1.0}）、採血を行った。血液は、血球数；全身性炎症マーカー [IL-6、IL-8、血清 amyloid A、血漿溶解性 ICAM-1；凝固性マーカー（フィブリノゲン、因子 VII、von Willebrand 因子）、誘発性痰については、総細胞数；細胞分画；気道炎症マーカー [IL-6、IL-8、そして喘息患者では ECP] を調べた。いずれのグループも、FA に比し CAPs 曝露に起因するスパイロメトリーやルーチンの血液学的測定で有意な変化を示さなかった。両方のグループは、曝露後誘発された痰中の CAPs 関連の円柱細胞の減少、血液凝固能および全身性炎症におけるあるメディエーターの僅かな変化、および心拍変動の副交感神経刺激における軽度の増加を示した。収縮期血圧は、FA に比し CAPs 曝露中、喘息患者で減少し、健康者では増加した。心血管系（呼吸器系ではない）症状（眩暈など）は、両方のグループで CAPs 曝露により僅かに増加した。以上の結果から、都市の微小粒子曝露は、CAPs と FA の間の統計的に有意な差をもつ異なった生物学的エンドポイントを引き出し、また血液の炎症および心拍変動における観察された変化は、他の実験室や疫学研究から報告されている呼吸器系よりもむしろ全身的な影響と一致していると結論している。これらの結果を明確にするためには、他の生物学的エンドポイント、PM サイズ・モードやリスク因子を含めたさらなる研究が必要であろうと述べている。

Huang ら (2003)は、CAPs に 2 時間曝露された正常者が、肺の好中球性炎症を進展し、血中フィブリノゲンの増加を示すことを以前に示した (Ghio ら、2000) が、本研究は、CAPs 中の可溶性成分が、これらの変化にどのように寄与しているかを調べることにした。ろ過空気または CAPs の何れかに曝露された以前の研究 (Ghio ら、2000) から 37 人の若い健康な非喫煙者 (男 35 人、女 2 人、平均年齢 26.2 歳) に関するデータを再解析した。大気粒子は、Harvard/EPA の濃縮機を用いて Chapel Hill の大気から取り入れ、 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{m}$ の粒径の粒子を曝露室の入口で 6~10 倍に濃縮した (CAPs 濃度: $23.1\sim 311.1\ \mu\text{g}/\text{m}^3$)。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の静脈血サンプルと同様に曝露後の BAL について、細胞性および急性炎症エンドポイントについて解析した。CAPs の水溶性分画中の 9 つの最も豊富な成分 (V、Fe、Ni、Cu、Zn、As、Se、Pb、 SO_4) を定量化し、主成分分析を用いて、これらの溶解成分濃度と BALF と末梢血の細胞性と生化学的エンドポイントを相関させた。硫酸塩/Fe/Se 因子は好中球の BAL パーセンテージの増加と、また Cu/Zn/V 因子は血中フィブリノゲンの増加と関連していた。硫酸塩、Fe および Se の濃度は、PM 質量と高度に相関 ($R>0.75$) し、PM と Cu/Zn/V との相関は大きくなかった ($R=0.2\text{-}0.6$)。ヒトの調整された曝露からの結果は、PM の特異的成分と肺の好中球の流入および血中フィブリノゲン増加と関連付けし、汚染粒子の溶解成分が、PM に曝露されたヒトにおける肺と血液系に特異的に影響を与えるかもしれないことを示していると述べている。

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 ($\text{PM}_{2.5}$: $23.1\sim 311.1\ \mu\text{g}/\text{m}^3$) 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。

Gong ら (2003b)は、12 人の健康者グループ (男女各々 6 人、平均年齢 27.9 歳: 18~44 歳) と 12 人の喘息患者グループ (男女各々 6 人、平均年齢 33.5 歳; 18~45 歳) をロサンジェルスの大気 CAPs [$\text{PM}_{2.5}$: 平均濃度 $141\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($77\sim 185\ \mu\text{g}/\text{m}^3$)] およびろ過空気

に間欠的運動下（分時換気量が 15～20L/min/m² 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。両グループとも CAPs 曝露による症状、スパイロメトリーや通常の血液検査では有意な変化が認められなかった。両グループとも曝露後 24 時間の誘発痰中の円柱細胞の減少（約 50%）がみられ、曝露後 4 または 22 時間後の血中の ICAM-1、IL-6 や HRV の小さな変化がみられた。喘息グループでは、収縮期血圧がろ過空気曝露後に増加し、CAPs 曝露では減少したが、健康者グループでは、逆転していた。これらの結果は、CAPs への曝露は、肺の影響よりも全身性の影響を引き起こす傾向があることを示唆していると述べている。

Gong ら (2004b) は、13 人の年輩の COPD 患者（男 5 人、女 8 人：平均年齢 73 歳）と年齢をマッチさせた 6 人の健康者（男 2 人、女 4 人：平均年齢 68 歳）をロサンジェルスの大気の CAPs またはろ過空気に軽度の間欠的運動下（15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し）で 2 時間曝露した。CAPs (0.1～2.5 μm) 濃度の平均は 167 μg/m³ (104～201 μg/m³)、NO₂ は 49 ppb (18～89 ppb)、O₃ は 19 ppb (2～51 ppb) であった。CAPs による呼吸器症状、スパイロメトリーや誘発痰への有意な影響はみられなかった。CAPs に関連した動脈血酸素飽和度への有意な負の影響が、曝露直後に健康者で、より顕著にみられた。CAPs 曝露後、末梢血の好塩基球の増加が、健康者でみられたが、COPD 患者ではみられなかった。両方のグループで、赤血球数が、ろ過空気の曝露後 1 日目に僅かに増加したが、CAPs では変化がみられなかった。Ectopic beats（異所性拍動）は、COPD 患者でより頻繁にみられたが、ろ過空気に比し CAPs で軽度に減少した。HRV は、健康者でろ過空気よりも CAPs 曝露後に低下したが、COPD 患者では低下しなかった。COPD 患者が、健康者よりも敏感でないことに関してはさらに研究が必要であると述べている。

Gong ら (2005) は、18 人の高齢者の COPD 患者（男女各々 9 人：平均年齢 72 歳）と年齢をマッチさせた 6 人の健康者（男 2 人、女 4 人：平均年齢 68 歳）を間欠的運動下（分時換気量が倍になるような負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し）で 2 時間、ろ過空気 (FA)、PM_{2.5} 以下の粒子が主である CAPs (200 μg/m³)、0.4 ppm NO₂ およびこれらの混合物に曝露したところ、呼吸器症状、スパイロメトリーや誘発痰中の総細胞数と分画数は、CAPs や NO₂ の個々および混合曝露による統計的に有意な反応は検出できなかった。しかし、MMEF と動脈血酸素飽和度は、CAPs に関連した小さいが統計的に有意な減少がみられ、これらは、COPD 患者よりも健康者でより大きかった。CAPs 曝露はまた、痰中の円柱上皮細胞のパーセンテージの減少と関連していて、COPD 患者よりも健康者でより大きかった。これらの結果は、NO₂ への曝露は、これらの反応を有意に増強させなかったため、PM-NO₂ 混合物の呼吸器への影響は主に PM に由来していることを示していると述べている。

② CCPs の吸入

Gong ら (2004a)は、12 人の軽症喘息患者 (男 4 人、女 8 人 : 19~51 歳) と 4 人の健康者 (男女各々 2 人 : 20~46 歳) をロサンジェルスの大気中の Concentrated ambient Coarse Particles (CCPs : 濃縮された大気中の粗大粒子) に 2 時間間欠的運動下 (分時換気量が 15~20L/min/m² 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で曝露した。CCPs の平均濃度は、157 μg/m³ (56~218 μg/m³) で、質量の 80%が、2.5~10 μm、残りが 2.5 μm 以下であった。ろ過空気曝露に比し CCPs 曝露は、呼吸器症状、スパイロメトリー、動脈血酸素飽和度や呼気 NO および誘発痰中の総細胞数からみた気道炎症に有意な影響がみられなかった。心拍数の小さいが有意な増加と HRV の減少がみられ、これは喘息患者よりも健康者で大きかった。Cardiac ectopy は増加しなかった。これらの結果は、大気中の粗大粒子への急性曝露は、成人では、肺には明白な影響を及ぼさないが、心臓の自律神経系に変化を与えるようにみえると述べている。

1. 1. 3 粒子

① 吸入

i. ROFA

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 μg/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 μm 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 μm 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、29.7×10³ 細胞/mL と 25.4×10³ 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。

ii. 大気中の捕集粒子

Alexis ら (2006)は、9 人の健康な非喫煙者 (男 3 人、女 6 人 : 年齢 18~35 歳) に以下に示す 3 種類の被験物質をそれぞれネブライザーで、調整された 500 mL の一回換気量で 25 吸入/分の頻度で、約 30 分間経口吸入させた。被験物質は、対照群としてネブライズされた食塩水 (0.9%)、ノースキャロライナの Chapel Hill でサンプリングした PM_{10-2.5} で、生物学的物質を不活性化するために 120°C で 20 時間熱処理した PM_{10-2.5} (PM_{10-2.5}⁻) (3 mg の PM_{10-2.5} を 4 mL の 0.9% の無菌食塩水に再浮遊したもので、MMAD は 5 μ m) または熱処理をしていない PM_{10-2.5} (PM_{10-2.5}⁺) で、これらを別々の日に同様に吸入した。食塩水吸入時に、Tc99m-sulfur コロイド (SC) 粒子を食塩水に混合し、PM_{10-2.5} が気管支に供給されていることをガンマ・カメラで確認した。各々の吸入後 3 時間目に、痰を誘発させ、痰について炎症細胞とサイトカイン、炎症性サイトカインの mRNA、細胞表面の表現型および貪食機能を調べた。その結果、PM_{10-2.5}⁺吸入で、食塩水吸入に比して、炎症マーカーである好中球%とマクロファージの TNF-α の mRNA 発現量が有意 (p<0.05) に誘発された。また、eotaxin が増加し、マクロファージの表現型で免疫調節能が増加し、単球の貪食能も増加した。生物活性がマイナスの PM_{10-2.5}吸入では 好中球増加への影響はみられなかったが、TNF-α の mRNA、eotaxin レベル、細胞表面マーカーの反応および貪食能を有意 (p<0.05) に弱めた。以上より、PM_{10-2.5}の生物学的構成要素は、必ずしも好中球の反応を誘発しないが、マクロファージの反応調節には必要であると述べている。また、単球の細胞を活性化し、潜在的に、eotaxin レベルを増強することによりアレルギー患者におけるアレルゲンあるいは細菌に対する反応を増強する可能性が示唆されたと報告している。

iii. トナー

Andersen ら (1979)は、16 人の若い健康者 (男 12 人、女 4 人、21~26 歳 : 11 人が喫煙者) に 2、10 および 25mg/m³濃度の Xerox のトナー (カーボンブラックを含むプラスチック粉塵 : 1.9~5.3 μ m の粒子が全体の 41%、1.8 μ m 以下の粒子が 36%) を 5 時間吸入させた。鼻の粘液繊毛クリアランス率や鼻抵抗は、曝露による影響がみられなかったが、FEV_{1.0} の減少がみられた。

iv. 標準参照粉塵 (SRM1649a)

Riechelmann ら (2004)は、1976 年と 1977 年の間にワシントン DC で採集された National Institute of Standard & Technology の標準参照粉塵 (SRM1649a) を用い、150 および 500 μ g/m³の濃度をエアロゾル発生機で発生させ、30 人の健康な非喫煙者 (男 11 人、女 19 人 : 22~32 歳) に鼻マスクで 3 時間吸入させた。曝露後 30 分、8 時間および 24 時間目に、鼻分泌液を採集した。500 μ g/m³への曝露後 24 時間目では、鼻分泌液中の IL-1

β は 72.3%、IL-6 は 42.2%、IL-8 は 19.7% と有意に増加した。これらのサイトカインは、鼻の炎症細胞数と密接に関連していた。TNF- α 、MCP-1、ENA-78 や SP レベルは、曝露に関連した変化は認められなかった。これらの結果は、粒子状物質の短期間曝露が上気道疾患の頻度の増加をさせているという疫学的観察を実験的に支持していることが示唆されたと述べている。

v. 炭酸カルシウムなど

Riechelmann ら (2003) は、平均空気力学的粒子径が $15 \mu\text{m}$ の炭酸カルシウム (MgCO_3 、 SiO_2 、 Al_2O_3 および Fe_2O_3 を少量含む CaCO_3 が 99.1%) をエアロゾル発生機で 500、1,000 および $5,000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 濃度にしたものを鼻マスクで 3 時間、32 人の健康で鼻および副鼻腔障害のない非アレルギー性の志願者 (男 18 人、女 14 人：平均年齢 25 歳) に曝露し、曝露前後に nasal saccharin transport time (STT)、rhinomatometry で nasal patency (鼻腔通気性) および鼻の不快感に関する症状を調べた。STT および鼻腔通気性は、量-依存性の減少と鼻の乾燥感が観察され、低毒性の粒子状物質への急性曝露は鼻機能に影響を及ぼし、鼻症状を引き起こすかもしれないと述べている。

vi. 酸化鉄粒子

Lay ら (2001) は、16 人の健康な非喫煙者 (各々 8 人の男女；18~34 歳) に、高低 [粒子 mg 当たり、それぞれ、 3.26 ± 0.25 (SE) および $0.14 \pm 0.04 \mu\text{g}$ の溶解性の鉄] いずれかの水溶性鉄を含む酸化鉄粒子 (Fe_2O_3 ；直径 $1.5 \mu\text{m}$ の質量空気力学径) を $12.7 \text{ mg}/\text{m}^3$ の平均質量濃度 ($9.4 \sim 16.3 \text{ mg}/\text{m}^3$) で 30 分間、マウスピースを介して吸入させた。 Fe_2O_3 エアロゾルは、超音波ネブライザーを用いて発生させた。肺胞上皮の透過性は、粒子曝露後 30 分および 24 時間後に、ガンマ・カメラを用いて、吸入された放射性同位元素でラベルされた追跡分子 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA, diethylene triamine pentaacetic acid) の肺クリアランスを測定することにより評価した。 Fe_2O_3 粒子の吸入前後に、DLco とスパイロメトリーを行った。コントロールとして、別の日に、被験者が粒子を含まない空気を吸入して、同じことを行った。高濃度の溶解性 Fe を含むエアロゾルを吸入した被験者では、粒子のない空気に対し粒子吸入後の DPTA クリアランスの半減期は、吸入後 30 分 (それぞれ、 97.4 ± 15.4 対 116.1 ± 15.5 分) あるいは 24 時間 (それぞれ、 105.1 ± 13.8 対 106.9 ± 12.9 分) のいずれにおいても、有意差はみられなかった。同様に、低濃度の溶解性 Fe を含むエアロゾルを吸入した被験者では、粒子のない空気に対し、粒子吸入後の DPTA クリアランスの半減期は、吸入後 30 分 (それぞれ、 108.6 ± 31.9 対 95.6 ± 10.8 分) あるいは 24 時間 (それぞれ、 130.0 ± 18.0 対 105.8 ± 13.7 分) のいずれにおいても、有意差はみられなかった。粒子曝露と空気曝露の間で、DLco に有意差はみられなかった。スパイロメトリーの測定では小さな差がみられたが、統計的には有意でなかった。以上より、調べられた条件下では、健康な被験者における Fe_2O_3 粒子の吸入は、肺胞上皮の透過性、肺拡散能力や肺機能に評

価できる変化はおこさないと述べている。

② 気管内注入

i. 酸化鉄粒子

Ghio ら (1998)は、22 人の健康な非喫煙者 (男 18 人、女 4 人 : 18~35 歳) に、20 ml の食塩水と 20 ml の食塩水に浮遊した Fe 含有粒子をそれぞれ、気道へ注入した。球状の Fe 含有粒子はコロイド状の酸化鉄を spinning disk エアロゾル発生機を用いて発生させた。粒子の CMD は $2.6 \mu\text{m}$ であった。得られた粒子中のエンドトキシン濃度は、gelatin capillary 法では陰性であった。最終的に、 3.0×10^8 粒子 (5 mg) を 10.0 ml の無菌食塩水に浮遊させ、気管支ファイバースコープで区域気管支に注入した後、気道に残っている粒子を更に肺泡領域に送るために、さらに 10.0 ml の生理食塩水を注入した (合計 20.0 ml)。粒子注入後 1 (n=10)、2 (n=6) または 4 日 (n=6) の何れかに、志願者は、下気道のサンプルのために BAL を行い、L-フェリチン、トランスフェリン、およびラクトフェリン濃度を酵素免疫定量、immunoprecipitin analysis および ELISA で、トランスフェリン受容体を ELISA で、それぞれ測定した。粒子に曝露された下気道の洗浄液中の L-フェリチン濃度は、食塩水に曝露された区域中のタンパク質レベルに比較し曝露後 1 日目で有意に増加していた。しかし、2 日と 4 日目には正常値にもどっていた。食塩水の注入に比べ、トランスフェリンは、Fe 含有粒子への曝露後有意に減少していたが、粒子に曝露された肺の区域におけるラクトフェリンとトランスフェリンの受容体濃度は、有意に上昇していた。著者らは、Fe 含有粒子の注入は、下気道における Fe 代謝の不均衡と関連していると結論している。Fe 含有粒子注入に対する反応には、L-フェリチンとラクトフェリン濃度の増加が含まれるが、トランスフェリン濃度は減少していた。宿主によるこれらの一連の反応は、酸化ストレスを減少させるために、触媒的に Fe の利用の減少をおこした結果と思われたと述べている。関与している細胞は特定できなかったが、肺泡マクロファージが Fe の恒常性維持に関与しているという過去の報告もあり、その hypoferric (鉄欠乏) の反動は、永久的なものではなく、4 日以内に通常の Fe の恒常性に回復すると述べている。

Lay ら (1998)は、30 人の健康な非喫煙者 (男 24 人、女 6 人 : 平均年齢 25.5 歳 ; 19.6 ~35.5 歳) に気管支鏡を用い、 Fe_2O_3 を右中葉の内側または外側の区域に注入した。非放射性的球状の酸化鉄粒子はコロイド状の Fe_2O_3 を spinning disk aerosol generator で発生させた。CMD は $2.6 \mu\text{m}$ であった。Limulus amoebocyte lysate アッセイによるエンドトキシン濃度は、0.06~0.10 ng/ml であった。 3.0×10^8 の粒子を 10 ml の SPSS に浮遊させたものを 20 ml 注入した。肺内注入後、1 日から 91 日のいろいろの時期に肺泡マクロファージ (AM) コンパートメント内の粒子の保留をみるために BAL を行った。その結果、粒子は、0.5 日の急速相のクリアランス半減期と 110 日の長期間クリアランス半減期を伴った二相性のパターンで洗浄可能な肺泡マクロファージコンパートメントからクリアされた。

淨された肺胞マクロファージ内の粒子の細胞内の分布は、気管支および肺胞の BAL 分画では類似していた。粒子の注入は、BALF 中の好中球と肺胞マクロファージの数の増加によって特徴付けられ、注入後 24 時間で一時的な急性の炎症反応を誘発した。この反応は、無症状で、注入後 4 日以内に消滅した。

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 ng/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。

ii. ユタ渓谷で捕集された粒子

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 での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貪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。

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 μ 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亜区域に注入した（対照）。本研究で注入した 500 μ g は、Utah Valley で冬季の気温逆転時に PM₁₀ が 100 μ g/m³ 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 μ g の PM₁₀ 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、 α 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 μ 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 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 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。

iii. 大気中の捕集粒子

Schaumann ら (2004)は、東部ドイツの製錬所のあるヘットシュテット(Hettstedt)地域と田園地域のツェルブスト(Zerbst)地域において、Anderson サンプラーで 2001 年 1 月か

ら 2002 年 6 月まで PM_{2.5} を捕集し、エンドトキシン濃度が低いときの PM_{2.5} を浮遊液 50 μ g/mL に調整し、気管内投与前に 100 μ g/10mL に調整した。12 人の健康な被験者（男 4 人、女 8 人：平均年齢 27 歳）に気管支鏡を行い、ヘットシュテット地域の 100 μ g の PM の浮遊液を中葉の区域に、そして Zerbst 地域の 100 μ g の PM の浮遊液を舌区に、それぞれ注入した。投与後 24 時間目に同じ区域から BALF を採集した。その結果、両地域の PM_{2.5} は、BALF 中の白血球数を増加させた。ヘットシュテットの粒子は、ツェルブストに比べ、単球の有意な流入（ヘットシュテット：7.0%対 ツェルブスト：4.3%）をもたらした。BAL 細胞のオキシダント・ラジカルの発生とサイトカイン（IL-6 と TNF- α ）濃度は、ヘットシュテットの PM_{2.5} の注入後、有意に増加した。ヘットシュテットの PM_{2.5} 中のより高い濃度の遷移金属（ヘットシュテット/ツェルブスト：Zn=4.7、Cu=3.5、Ni=2.4、Cd=1.8 など）がこの炎症の増加の原因かもしれないと考えられたと述べている。

1.1.4 酸性エアロゾル

Utell ら (1980) は、急性インフルエンザに罹患した 11 人の若い健康者（男 9 人、女 2 人：平均年齢 19 歳：うち喫煙者 2 人）に 7,000 μ g/m³ の濃度の NaNO₃ エアロゾル（MMAD：0.49 μ m）または NaCl（コントロール）に曝露したところ、急性疾患後 1 週間に至るまで、NaNO₃ エアロゾルに反応して特異的気道コンダクタンス（specific airway conductance）の有意な減少を観察したが、NaCl エアロゾルには反応しなかった。これらの結果は、急性ウイルス性疾患罹患者は、健康者には影響を及ぼさない粒子状硝酸塩汚染物質で気道狭窄を起こすかもしれないことを示唆していると述べている。

Frampton ら (1992) は、12 人の健康な非喫煙者（男 10 人、女 2 人：20~39 歳）に曝露チャンバー内で 1,000 μ g/m³ の H₂SO₄ およびコントロールとして NaCl のエアロゾルに間欠的運動下（分時換気量が 40 L/min/m² 体表面積の負荷で各 30 分のうち 10 分間の運動）で 2 時間曝露させた。曝露後 18 時間目に BAL を採集した。エアロゾルは、Dautrebande D-30 ネブライザーで発生させ、MMAD は 0.9 μ m であった。H₂SO₄ 曝露中に 3 人が咳を、4 人が咽頭刺激を訴え、NaCl 曝露では一人が咳を 3 人が咽頭刺激を訴えた。曝露前に比し、曝露後および曝露後 18 時間目の肺機能（FVC、FEV_{1.0} または sGaw）には変化がみられなかった。H₂SO₄ 曝露に関連して、T リンパ球（CD3+）のパーセンテージが減少したが、その差は、統計的に有意でなかった。H₂SO₄ 曝露に関連して、肺胞マクロファージの antibody-dependent cellular cytotoxicity（ADCC）は、有意に増加した。in vitro では、活性酸素種（superoxide anion）の遊離またはインフルエンザ・ウイルスの不活性化の有意な変化はみられなかった。1,000 μ g/m³ の H₂SO₄ エアロゾルへの短時間曝露は、肺胞腔への炎症性細胞の流入を引き起こさないし、曝露後 18 時間の抗細菌防御の変化の証拠もみられなかった。CD3+ T リンパ球や肺胞マクロファージの ADCC への影響は、更に多くの被験者で調べる必要があると述べている。

Leduc ら (1995)は、工業都市で自然に発生するフォッグは、酸性の大気汚染物質で汚染されていることに着目して、現実に近い酸性フォッグの急性影響を調べた。ベルギーのブリュッセルでは、汚染されたフォッグ水の pH は、低い浸透圧 (30 mOsm) で pH3 位の低さである。現実的な酸性汚染フォッグの短期間の呼吸器の影響を調べるために、高濃度に汚染され工業化されたブリュッセルの酸性フォッグのサンプルを捕集し、このフォッグの特性を明らかにし、この都市地域で調べたフォッグに類した物理的・化学的特性をもったフォッグに顔面マスクを通して安静下で喘息患者の志願者を曝露した。フォッグ水は、ブリュッセル市内の 8 カ所でスクリーン捕集器を使用して水滴は慣性衝突で捕集し、水滴の化学組成は、伝導度、pH、比色計、高圧液体クロマトグラフィーおよび原子吸光法で 1 年間にわたって測定した。フォッグ水の組成は、アンモニウム・イオン (NH_4^+) と硫酸イオン (SO_4^{2-}) が主であった。被験者は 14 人の喘息患者 (男 9 人、女 5 人：26~70 歳) で、反復する喘鳴、胸部締め付け感および可逆性気道閉塞 (可逆性： $\text{FEV}_{1.0}$ の予測値の 10% 以上) の反復性のエピソードがあるか、または気道反応性の亢進 (PD20 が $7.8 \mu\text{M}$ メサコリン以下) があるものとした。気道反応性テストの 18 時間前に、テオフィリンや吸入薬を中止し、また 2 週間以内に経口副腎皮質ホルモンを服用していなく、副腎皮質ホルモンの吸入も 1 週間前に中止した。また検査の 4 週間以内に上気道または下気道の感染に罹患していなかった。喫煙者は、検査の 18 時間前から禁煙した。最初に、フォッグの酸性度のみの影響を調べた。喘息患者を安静下で、1 時間、pH 2.5 の浸透度 300 mOsm の $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の H_2SO_4 濃度のエアロゾル (ネブライザーで発生：MMAD： $9 \mu\text{m}$) に顔面マスクを通して曝露したが、肺機能やメサコリンに対する気道反応性には、有意な変化が観察されなかった。次に、10 人の喘息患者を pH 3.5 の 30 mOsm (自然に発生するフォッグで観察される主要なイオン) の硫酸塩と NH_4^+ の酸性フォッグ (MMAD： $7 \mu\text{m}$) に曝露したが、肺機能や気道反応性に変化はみられなかった。このことから、自然に汚染されたフォッグの酸性度と低浸透度を再現した酸性フォッグへの短期間曝露は、喘息患者で気道狭窄をもたらしたり、気道反応性を変化させたりしないと結論している。

Linn ら (1997)は、東部米国における夏季の大気汚染の急性健康影響を評価するために、実験室チャンバーで“夏季の酸性霞”にできるだけ近い状態を再現し、以前の疫学的証拠に基づいてこの混合汚染物質に敏感と考えられる若い志願者を曝露した。被験者は、9~12 歳の 41 人の被験者 (19 人の少年と 22 人の少女) を O_3 (0.10 ppm)、 SO_2 (0.10 ppm) および $0.6 \mu\text{m}$ の硫酸エアロゾル ($100 \pm 40 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の混合物に、 25°C と相対湿度 50% 下で曝露した。15 人の被験者は健康で、残りの 26 人のうち、5 人は喘息の既往があり、21 人は喘息のないアレルギーの既往歴があった。曝露は 4 時間で、その間、平均分時換気量 22 L/min の負荷で 15 分間運動、15 分間安静の間欠的な運動を行った。被験者全体でみると、運動中のスパイロメトリー、症状、および不快レベルでみると、清浄空気に比し、汚染曝

露に反応したが有意差はなかった ($p>0.05$)。アレルギー/喘息の被験者は、症状と吸入された推定硫酸エアロゾル量との間に有意な正の関連 ($r=0.50$, $p=0.01$) を示した。健康な被験者では、関連はみられなかった ($r=-0.47$, $p=0.08$)。これらのチャンバー曝露研究で、大気の“夏季の酸性霞”に曝露された子供の以前の疫学研究で報告された影響よりも少ない影響が認められたと述べている。

Zelikoff ら (1997)は、12 人の健康な非喫煙者 (男 10 人、女 2 人 : 21~37 歳) と 5 羽のウサギ (14~16 週齢) を 1 mg/m^3 の H_2SO_4 エアロゾルに 3 時間曝露し、曝露後 BALF を採集し、 H_2SO_4 エアロゾルのヒトとウサギへの影響の比較を行った。コントロールとして NaCl エアロゾルを同様に曝露した。 H_2SO_4 エアロゾルは、Dautrebande D-30 ネブライザーで発生させた (H_2SO_4 エアロゾルの MMAD は $0.88 \mu\text{m}$ 、NaCl エアロゾルの MMAD は $0.51 \mu\text{m}$)。被験者は、曝露チャンバーで間欠的運動下 (分時換気量が 40 L/min になるような負荷で各 30 分のうち 10 分間の運動) で曝露された。 H_2SO_4 エアロゾル曝露の影響に関しては、BALF 中の総タンパク質、細胞数や好中球 (%) は、ヒトもウサギも変化が認められなかったが、ウサギで LDH の有意の増加がみられた。マクロファージによる黄色ブドウ球菌の摂取率は、ウサギでは有意な減少がみられたが、ヒトでは認められなかった。マクロファージの活性酸素 ($\cdot\text{O}_2^-$) および H_2O_2 産生に関しては、刺激しない場合はヒトもウサギも変化が認められなかったが、serum-opsonized zymosan (血清オプソニン化ザイモサン、SOZ) で刺激した場合は、 $\cdot\text{O}_2^-$ 産生は、ヒトもウサギも有意に減少したが、 H_2O_2 産生は差が認められなかった。マクロファージの Fc 受容体発現は、ヒトおよびウサギで僅かに減少がみられた。マクロファージの latex 粒子の貪食能は、ウサギで 34% の増加がみられたのに対して、ヒトでは 22% の減少がみられた。

Tunnicliffe ら (2001)は、粒子状 H_2SO_4 への曝露の grass 花粉アレルギー (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 $\text{FEV}_{1.0}$ が 15% 低下するアレルギーの誘発量 (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、 $100 \mu\text{g/m}^3$ または $1,000 \mu\text{g/m}^3$ 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ギー・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、 $100 \mu\text{g/m}^3$ 、および $1,000 \mu\text{g/m}^3$ 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 時間の間の $\text{FEV}_{1.0}$ の最大のパーセント変化) は、それぞれ、-14.1%、-16.7%、および -18.4% であった。 $1,000 \mu\text{g/m}^3$ 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 $100 \mu\text{g/m}^3$ 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 花粉アレルギー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。

1.1.5 粒子+ガス

Tunnicliffe ら (2003)は、医師により軽症の喘息と診断された 12 人 (男 7 人、女 5 人 ; 平均年齢 ; 35.7 歳) と正常な健康成人 12 人 (男 5 人、女 7 人 ; 平均年齢 ; 34.5 歳の非喫煙者) の被験者は椅子に腰掛け頭部のみの曝露システムで、安静下で 1 時間、200 ppb の SO₂、および 200 μg/m³ と 2,000 μg/m³ の ammonium bisulphate (NH₄HSO₄, AB) と H₂SO₄ (SA) (MMD 0.3 μm) のエアロゾルに曝露させた。エアロゾルは、standard medical nebulizer で発生させた。影響指標は、△FEV_{1.0}が主なアウトカムで、第二のアウトカムには、症状、換気、呼気 NO 濃度および鼻洗浄液中のアスコルビン酸 (AA) と尿酸 (UA) 濃度が含まれた。どのグループのどの曝露でも、スパイロメトリー (FEV_{1.0}、FVC、MMEF) や症状には有意な変化はなかった。SO₂ 曝露では、喘息グループでは、空気曝露に比し呼吸数の有意な増加 (SO₂: 958.9 呼吸/時間 ; 空気 : 906.8 呼吸/時間) がみられたが、平均呼吸量には変化がみられなかった (SO₂ : 318.8 litres ; 空気 : 311.4 litres)。AB 曝露では、喘息患者で呼気 NO の有意な上昇 (200 μg/m³ で +1.51 ppb と 2000 μg/m³ で +1.39 ppb) がみられたが、正常グループではみられなかった。また鼻洗浄液中の AA および UA 濃度については、曝露前後の AA の平均濃度は、喘息グループよりも正常グループで有意差はないがより高い傾向にあった。各グループ内では、AA は、どの曝露でも有意に変化しなかった。UA は、全ての曝露で曝露前よりも曝露後の方が高く、特に正常グループでは、SO₂ 曝露を除いて顕著であった。空気に比較しどの曝露でも UA の平均の変化では、有意差がなかった。この研究で用いられた汚染物質の曝露濃度は、大気濃度よりも一般に遙かに高かった。より低い濃度での短い曝露は、有意な影響を示しそうにないが、より長期間のより低濃度曝露の影響は、除外できないと述べている。

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)、O₃、O₃ とオフィス粉塵の混合 (オフィス粉塵 ; 75 μg/m³、O₃ ; 300 ppb、O₃ とオフィス粉塵の混合 ; 300 ppb + 75 μg/m³) 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、O₃ 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 O₃ 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。

1.1.6 超微小粒子

Kuschner ら (1997a) 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 μm 、濃度の中央値 : 33 mg/m^3 (20~42 mg/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。

Kuschner ら (1997b) は、6 人の健康な非喫煙者 (男 4 人、女 2 人：21~43 歳) に微小および超微小の MgO 粒子を顔面マスクを介して口呼吸で吸入させ、吸入後 18~20 時間目に BALF 中の細胞やサイトカイン、肺機能および末梢血の好中球数を調べた。MgO 粒子は、溶鉱炉システムを利用して発生させた MgO フュームを利用し、カスケード・インパクトで粒径を調べた。MgO フュームの 98.6% が直径 1.8 μm 以下で重量別の粒子の 42.0% は直径 0.1~0.18 μm 、28.6% が直径 0.1 μm 以下の微小粒子であった。曝露時間は、いろいろの範囲の蓄積曝露を得るために変えて、個人別にみると 15 分から 45 分にわたっていた。Mg フュームの濃度も 5.8~230 mg/m^3 にわたり、蓄積 Mg 量も 261~6,435 $min \times mg/m^3$ (平均 4,138.5 $min \times mg/m^3$) にわたった。その結果、BALF 中の炎症性細胞濃度や IL-1、IL-6、IL-8、TNF、肺機能や末梢血の好中球数に変化はみられなかった。これらの知見は、ZnO 粒子の吸入による肺の炎症反応と対照的であった。高濃度の微小および超微小の MgO 粒子曝露は、肺に炎症反応をもたらさないことを示唆し、粒径に加えて粒子の化学的成分が呼吸器への影響の重要な決定因子であると述べている。

Frampton (2001) は、健康な非喫煙者 (18~55 歳：人数・性別の記載なし) を安静下で、マウスピースを用いて 2 時間、10 $\mu g/m^3$ (2×10^6 粒子/ cm^3 に相当) の炭素の超微小粒子 (UFP) に曝露し、曝露前、曝露直後、3.5 時間および 21 時間後に、気道沈着分画、呼吸器症状、スパイロメトリー、血圧、パルスオキシメータ、IL-6、SAA、フィブリノゲンや第 VII 因子、ICAM-1 を調べた。気道における炎症性細胞を調べるために曝露後 21 時間目に痰の誘発を行った。また、継続的に 24 時間心電図もとった。予備的な知見では、粒子曝露に関連した症状や肺機能などに変化はみられなかったが、比較的高い沈着分画がみられたことを報告している。

Pietropaoli ら (2004)は、40 人の健康者と 16 人の軽症の喘息患者（両者とも非喫煙者）をろ過空気と炭素超微小粒子にマウスピース・システムを介して曝露した。超微小粒子（UFP）は、無水アルゴンでスパーク放電により純粹の黒鉛電極で継続的に発生させた。CMD は $0.025 \mu\text{m}$ 、平均質量の直径は $0.035 \mu\text{m}$ であった。最初のプロトコルの UPREST は、安静下で 12 人の健康者（男女各々 6 人：平均年齢 30.1 歳）が $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ UFP あるいはろ過空気に 2 時間曝露された。二番目のプロトコルの UPDOSE は、12 人の健康者（男女各々 6 人：平均年齢 26.9 歳）を $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ UFP、 $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ UFP および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）で曝露した。三番目のプロトコルの UPASTHMA は、16 人の喘息患者（男女各々 8 人：平均年齢 23.0 歳）を間欠的運動下で 2 時間、 $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ UFP と清浄空気に曝露した。四番目のプロトコルの UP50 は、UFP 吸入が血管機能を変化させるかどうかを 16 人の健康者（男女各々 8 人：平均年齢 26.9 歳）を間欠的運動下で 2 時間 $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ UFP と清浄空気に曝露し DLco も測定した。肺機能と気道炎症は、症状スコア、肺機能テスト、および気道の NO パラメーターで評価された。気道炎症細胞は、プロトコルの幾つかで誘発された痰の解析で測定された。10 または $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で UFP に曝露された場合、健康者や喘息患者で、これらの測定の何れにも差がみられなかった。しかし、 $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の高濃度に 16 人の健康者を曝露すると、曝露後 21 時間で、MMF ($-4.34 \pm 1.78\%$ [UFP] 対 $+1.08 \pm 1.86\%$ [空気]、 $p=0.042$) および DLco ($-1.76 \pm 0.66 \text{ ml}/\text{min}/\text{mmHg}$ [UFP] 対 $-0.18 \pm 0.41 \text{ ml}/\text{min}/\text{mmHg}$ [空気]、 $p=0.040$) の減少を引き起こした。症状、誘発された痰や呼気 NO パラメーターは、これらの研究の何れにおいても一貫した差はみられなかった。これらの結果は、UFP は、正常者では肺胞ガス交換の損傷を供なった軽度の small-airways の機能障害を起こすことを示唆している。これらの影響は、気道炎症には関係していないようにみえた。正常者におけるこれらの知見を確認し、さらに敏感な患者集団と比較し、病態生理学的機構を明らかにするために、さらに研究が必要であると述べている。

Beckett ら (2005)は、12 人の健康な非喫煙者（男女各々 6 人：平均年齢 35 歳；23～52 歳）を $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の超微小（CMD 40.4 nm ：吸入粒子濃度の中央値 $4.6 \times 10^7/\text{cm}^3$ ）および類似の質量の蓄積モードの微小粒子（CMD 291.2 nm ：吸入粒子濃度の中央値 $1.9 \times 10^5/\text{cm}^3$ ）の ZnO 粒子を安静下で経口的に 2 時間吸入させた。自覚症状、血圧、心電図（HRV）、サイトカイン（IL-6）、凝固因子（第 VII 因子、フィブリノゲンなど）、末梢血（NK 細胞、CD8+細胞など）を曝露前および曝露後 24 時間まで調べた。また曝露後 24 時間目に誘発痰を採取し、炎症細胞などを調べた。これらの曝露条件では、これらの影響指標に曝露による影響は観察されなかったことを報告している。

Frampton ら (2006)は、56 人の 18～40 歳の非喫煙者（40 人の健康者と 16 人の喘息患

者)に元素状炭素粒子(黒鉛電極の電気放電で発生;CMD:~25 nm)を3つの別々のプロトコル[UPREST:安静下で12人の健康者(平均年齢30.1歳)に $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、UPDOSE:12人の健康者(26.9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分の運動と15分の安静の繰り返し)で10および $25\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、およびUP50:16人の健康者(26.9歳)を間欠的運動下で $50\mu\text{g}/\text{m}^3$]で2時間ノーズクリップを付けてマウスピースで吸入させた。4番目のプロトコル(UPASTHMA)では、16人の喘息患者(23.0歳)に間欠的運動下で $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ の超微小粒子を吸入させた。曝露前および曝露後0、3.5および21時間後に血液、心拍数および動脈血酸素飽和度を調べた。曝露前および曝露後0、3.5、21および45時間後に採血した。健康な被験者では、運動を伴った粒子曝露は、単球の接着分子であるCD54とCD18および顆粒球のCD18とCD49dの表現を減少させた。また、血中の単球、好塩基球および好酸球の濃度に関係した減少および活性マーカーのCD25のリンパ球表現の増加がみられた。喘息患者では、 $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ UFPsへの運動を伴った曝露は、単球および好酸球のCD11bおよび顆粒球のCD54の表現を減少させた。粒子曝露は、また、CD4+ T細胞、好塩基球および好酸球のパーセンテージを減少させた。これらの結果から、元素状炭素のUFPsの吸入は、肺血管床における白血球の貯留の増加と一致したパターンで、末梢血の白血球分布と接着分子の表現を変化させるといえると述べている。

1.2 心血管系（循環器系）および全身への影響

1.2.1 DE

Mills ら (2005)は、30 人の男性の健康な非喫煙者 (20-38 歳) をろ過空気または希釈 DE に間欠的運動下 (分時換気量 ; 25L/min/m² 体表面積の負荷で 15 分間の運動と安静の繰り返し) で 1 時間曝露した。DE は、Vorvo 社の 4.5L ディーゼルエンジンで供給し、粒子濃度を 300 μg/m³ に維持した。NO₂ は 1.6ppm、NO は 4.5ppm、CO は 7.5ppm、総炭化水素は 4.3ppm、ホルムアルデヒドは 0.26 μg/m³、浮遊粒子は 1.2×10⁶/cm³ であった。両側の前腕の血流 (FBF) と炎症性因子を曝露後 2 および 6 時間目に片側上腕内にブラジキニン (100~1,000 pmol/minn)、アセチルコリン (5~20 μg/min)、ニトロプルシド・ナトリウム (2~8 μg/min) およびベラパミル (10~100 μg/min) を注入前および注入中に測定した。DE または空気への曝露後の心拍数、血圧、FBF、白血球、好中球、IL-6、TNF-α、ET-1 や CRP には影響がみられなかった。ブラジキニン、アセチルコリンやニトロプルシド・ナトリウムは、空気または DE への曝露後 FBF で用量依存性の増加 (全てに関して p<0.0001) がみられた。血流の増加は、DE への曝露後 2 時間で、ブラジキニン (p<0.05)、アセチルコリン (p<0.05) およびニトロプルシド・ナトリウム (p<0.001) 注入で弱められ、6 時間持続した。ベラパミルによる血管拡張は、空気または DE への曝露の影響を受けなかった。ブラジキニンは、血漿組織プラスミノゲン活性化因子 (t-PA) の用量依存性の増加をもたらしたが、ディーゼルへの曝露後 6 時間抑制された (p<0.001)。以上から、都市環境で曝露される程度に薄められた DE の吸入は、血管緊張の調節と内因性のフィブリン溶解現象といった血管機能を障害し、大気汚染がアテローム血栓症や急性心筋梗塞の病因に関連する可能性がある機構を提供していると述べている。

1.2.2 CAPs および CCPs

① CAPs への曝露

Petrovic ら (2000)は、ハーバード大気粒子濃縮機を用いて、トロントのダウンタウンの大気から濃縮された PM_{2.5} (CAPs) の健康影響を調べた。4 人の若い健康な非喫煙者 (男女各々 2 人、18~40 歳) をろ過空気 (FA) および 23 から 124 μg/m³ の CAPs にマスクを介して鼻呼吸で、安静下で 2 時間曝露した。CAPs は、低 (31.5±7.9 μg/m³)、中 (52.9±33.9 μg/m³)、高レベル (92.1±24.6 μg/m³) に分類し、肺機能、症状報告、炎症性細胞、血液凝固因子および心臓への影響を調べた。CAPs 曝露中の、平均ガス濃度は、O₃ が 9±8 ppb、NO₂ が 20±7ppb であった。曝露後、心臓の影響を増強するために、130 bpm の心拍数を目標に 30 分の運動を行った。その間、心臓の反応を調べた。12 誘導の心電図 (ECG) データの心臓病専門医によるレビューでは、曝露中、曝露後や曝露後 24 時間に臨床的に有意な心臓への影響はみられなかった。高レベルの CAPs 曝露に続いて、運動後に測定された血漿フィブリンゲンは、FA 反応 (2% の平均増加) に比べ曝露前値以上の増加傾向 (10% の平均増加) を示した。統計的に唯一の肺機能への有意な影響 (p<0.01) は、胸腔容量が

FA後の平均5.6%の増加に比べて高レベルのCAPs曝露後には6.4%の小さな平均減少がみられたことである。しかし、呼吸器症状の増加は伴わなかった。誘発された痰での評価では呼吸器の細胞性炎症性反応はみられなかった；しかし、CAPs曝露後に鼻洗浄液中の好中球のパーセンテージの増加傾向がみられた。このパイロット研究の結果から、トロントにおける濃縮された大気PM_{2.5}のこれらのレベルへの若い健康な志願者の曝露は、有意な急性の健康影響を引き起こさないかもしれないことを示している。PM_{2.5}の心肺系の影響をさらに調べるためには、より多くの被験者と感受性のある人々に関する研究がさらに必要であろうと述べている。

Gongら(2003a)は、18～45歳の12人の健康な非喫煙者(男女各々6人、平均年齢28歳)と12人の喘息患者(男女各々6人、平均年齢34歳)を平均濃度が174 μ g/m³(範囲99～224)の微小サイズ(PM_{2.5})範囲の濃縮大気粒子(CAPs)とろ過空気(FA)に曝露した。2段式のハーバードのインパクト濃縮機と全身ボディチャンバーを用い、間欠的運動下(分時換気量が15～20L/min/m²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。曝露前後に、症状質問票、血圧、Holter心電図、動脈血酸素飽和度、スパイロメトリー(FVC、FEV_{1.0})、採血を行った。血液は、血球数；全身性炎症マーカー[IL-6、IL-8、血清 amyloid A、血漿溶解性 ICAM-1；凝固性マーカー(フィブリノゲン、因子VII、von Willebrand 因子)、誘発性痰については、総細胞数；細胞分画；気道炎症マーカー[IL-6、IL-8、そして喘息患者ではECP]を調べた。いずれのグループも、FAに比しCAPs曝露に起因するスパイロメトリーやルーチンの血液学的測定で有意な変化を示さなかった。両方のグループは、曝露後誘発された痰中のCAPs関連の円柱細胞の減少、血液凝固能および全身性炎症におけるあるメディエーターの僅かな変化、および心拍変動の副交感神経刺激における軽度増加を示した。収縮期血圧は、FAに比しCAPs曝露中、喘息患者で減少し、健康者では増加した。心血管系(呼吸器系ではない)症状(眩暈など)は、両方のグループでCAPsで僅かに増加した。以上の結果から、都市の微小粒子曝露は、CAPsとFAの間の統計的に有意な差をもつ異なった生物学的エンドポイントを引き出し、また血液の炎症および心拍変動における観察された変化は、他の実験室や疫学研究から報告されている呼吸器系よりもむしろ全身的な影響と一致していると結論している。これらの結果を明確にするためには、他の生物学的エンドポイント、PMサイズ・モードやリスク因子を含めたさらなる研究が必要であろうと述べている。

Devlinら(2003)は、清浄空気とCAPsに2時間曝露された10人の健康な老年者(男7人、女3人；平均年齢66.9歳；60～80歳)でheart rate variability(HRV：心拍変動)を測定した。CAPsは、Chapel Hillの大気中の0.1～2.5 μ mの粒子をHarvard/EPA濃縮機で6～10倍に濃縮した。被験者は2時間曝露の間、15分の安静と15分の中等度の運動(25L/min/m²体表面積)を繰り返した。各被験者が曝露されたCAPs濃度は、21.2～80.3

$\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、平均 $40.5 \pm 8.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。HRV の変化を、曝露前、直後および 24 時間後に測定した。老年者は、曝露直後に時間と頻度の両方で HRV の有意な減少を示した。これらの変化のあるものは、少なくとも 24 時間持続した。以前の研究で CAPs に曝露された 22 人の若い健康な志願者（男 17 人、女 5 人；平均年齢 28.8 歳；18~40 歳）で集められた HRV データでは、CAPs による変化はみられなかった。調整されたヒトの曝露研究における心拍変動におけるこれらの濃縮大気粒子による変化は、最近のパネル研究で報告されている類似の知見を増補し、粒子状物質が心血管系に悪影響を及ぼすかもしれない機構の可能性を示唆していると述べている。

Ghio ら (2003)は、20 人の健康な若い非喫煙者（男 14 人、女 6 人；平均年齢 25.3 歳；18~40 歳）をろ過空気 ($n=5$) または平均 PM 質量が $120.5 \pm 14.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で範囲が $15.0 \sim 357.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の CAPs ($n=15$) のいずれかに間欠的運動下（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、血液学的指標を測定した。CAPs は、ノース・カロライナ州の Chapel Hill の大気中の $0.1 \sim 2.5 \mu\text{m}$ の粒子を、3 段階のインパクターのハーバード/EPA 大気微小粒子濃縮機で濃縮してえられた。ろ過空気と CAPs に曝露された個人の反応の差は、独立した平均の t-テストを用いて検証された。二つのグループ間で有意な差 ($p < 0.10$) が t-テストで示唆されたら、その関係は、直線回帰法でさらに評価された。回帰分析は、曝露された粒子質量と、(1) 24 時間後の血液中の白血球 (WBC) 数の減少、(2) 24 時間後の LDH 濃度の減少、および (3) 24 時間後のフィブリノゲンレベルの上昇との間の有意な直線関係を確認した。血液中の炎症性メディエーターやフィブリノゲン以外の凝固/fibrinolysis (繊維素溶解) の指標のいずれにも変化がみられなかった。著者は、健康な志願者の CAPs への曝露は、WBC 数や LDH の両方の減少およびフィブリノゲン濃度の増加と関連していると結論している。

② CCPs への曝露

Gong ら (2004a)は、12 人の軽症喘息患者（男 4 人、女 8 人；19~51 歳）と 4 人の健康者（男女各々 2 人；20~46 歳）をロサンジェルスの大気を濃縮した CCPs に 2 時間間欠的運動下（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）で曝露した。CCPs の平均濃度は、 $157 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($56 \sim 218 \mu\text{g}/\text{m}^3$) で、質量の 80% が、 $2.5 \sim 10 \mu\text{m}$ 、残りが $2.5 \mu\text{m}$ 以下であった。ろ過空気曝露に比し CCPs 曝露は、呼吸器症状、スパイロメトリー、動脈血酸素飽和度や呼気 NO および誘発痰中の総細胞数からみた気道炎症に有意な影響がみられなかった。さらに、心拍数の小さいが有意な増加と HRV の減少がみられ、これらの反応は喘息患者よりも健康者で大きかった。Cardiac ectopy は増加しなかった。これらの結果は、大気中の粗大粒子への急性曝露は、成人では、肺には明白な影響を及ぼさないが、心臓の自律神経系に変化を与えるようにみえると述べている。

③ CAPs+オゾン (O₃)

Brook ら (2002)は、25 人の健康な非喫煙者 (男 15 人、女 10 人；平均年齢 34.9 歳) について、ろ過空気 (FA) の吸入に対する反応と 150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の CAPs+120 ppb O₃ の 2 時間吸入に対する血管反応を比較するために無作為化された二重盲検のクロスオーバー研究を行った。被験者は、実験前に 8 時間以上絶食した。Brachial artery (上腕動脈) の血管反応は、超音波検査法で測定し、brachial artery diameter (BAD：上腕動脈の直径) は、被験者が安静時に仰向けの姿勢で測定された。Endothelial-dependent vasomotion は、flow-mediated dilatation (FMD) および endothelial-independent vasomotion は、nitroglycerin-mediated dilatation (NMD) によって測定された。曝露中の PM_{2.5} (CAPs) 濃度は 153.0 \pm 34.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O₃ 濃度は 120.3 \pm 2.8 ppb であった。CAPs+O₃ への曝露は、ろ過空気吸入に比し上腕動脈の有意な血管収縮を引き起こした (-0.09 \pm 0.15 mm 対 +0.01 \pm 0.18 mm、P=0.03) が、FMD (+0.29 \pm 4.11 % 対 -0.03 \pm 6.63 %、P=0.88)、NMD (+3.87 \pm 5.43 % 対 +3.46 \pm 7.92 %、P=0.83) や血圧の反応には有意差がみられなかった。以上の結果から、都市環境でみられる濃度の微小粒子状大気汚染と O₃ の短期間吸入は、急性の導管動脈の血管収縮を引き起こすと結論している。

Urch ら (2004)は、PM_{2.5} の総および成分質量濃度と急性血管反応の関係を調べるために、24 人の若い健康な喘息のない非喫煙者 (男 14 人、女 10 人；平均年齢 35 歳) を FA (ろ過空気) と 150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の CAPs+120ppb の O₃ を目標濃度にして 2 時間曝露した。BAD は、曝露前後に超音波検査で測定した。曝露装置は、交通量の多いトロントのダウンタウンに設置され、PM 濃縮機は、大気 PM_{2.5} 濃度の約 10 倍に濃縮された空気力学径が 0.15~2.5 μm の粒子を供給した。トロントにおける 2000 年から 2001 年の PM_{2.5} の主要成分は、42.3%が有機物質 (有機炭素 \times 1.4)、21.0%が硫酸塩、18.7%が硝酸塩、10.9%がアンモニウム、3.4%が元素状炭素、2.4%が微量元素、そして 1.1%が K と Cl であった。CAPs+O₃ 曝露日の 23 時間の大気中の主要な PM_{2.5} 成分の平均濃度は以下の通りであった。PM_{2.5} 濃度の中央値は 16.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (4.0~31.6 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、総炭素の中央値は 4.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、そのうち有機炭素が 89%、元素状炭素が 11%であった。硝酸塩、硫酸塩およびアンモニウム・イオン濃度の中央値は、それぞれ 4.0、2.9 および 1.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、また他の成分の中で最高濃度を示したものは、Ca で、中央値は 0.12 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。曝露濃度は、PM_{2.5} の総質量の中央値は 147.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (101.5~257.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、総炭素の中央値は 22.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、その大部分は有機炭素 (中央値は 19.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ：10.5~51.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) で、元素状炭素の中央値は 2.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.9~8.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) であった。他の成分の中央値は、0.002 (Cd) から 0.775 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Ca) の範囲であった。主な化学成分について BAD の測定結果を解析することにより、各成分と各個人の動脈反応の間の関連の強さを比較することができた。曝露フィルターから PM_{2.5} の重量質量濃度と無機イオン含有量を測定した。同じ場所の同じ日に捕集された 23 時間の大気 PM_{2.5} フィルターを微量元素と有機および元素状炭素の曝露濃度を推定

するために用いた。コントロールとして各被験者の FA 曝露を用いて測定され、また推定 PM 成分のレベルについて直線回帰分析を行った。この回帰分析から、CAPs+O₃ 曝露日と FA 曝露日を、曝露前と曝露後の BAD の差 (Δ BAD) で比較すると、PM_{2.5} 濃度は、 Δ BAD の差の良い予測指標とは言いがたかったが、 Δ BAD と有機および元素状炭素濃度との間には有意な負の相関がみられた。健康への悪影響に最も関係している PM 成分を理解することは、公衆の健康への利益を最大にする汚染緩和戦略を進展させる努力にとっても重要であると述べている。

Urch ら (2005)は、23 人の正常血圧の非喫煙者の健康成人 (男 13 人、女 10 人 ; 平均年齢 32 歳 ; 19~50 歳) を顔面マスクを介して 2 時間、CAPs (トロントの濃縮大気微小粒子 : 空気動力学径が 2.5 μ m 以下の粒子状物質 ; PM_{2.5}) + O₃ (CAPs+O₃) と粒子のない空気 (PFA) に曝露した。CAPs+O₃ 曝露では、PM_{2.5} の平均濃度は 147 \pm 27 (範囲 : 102~214) μ g/m³、O₃ の平均濃度は 121 \pm 3 (範囲 : 115~128) ppb であり、PFA 曝露では、それぞれ、2 \pm 2 μ g/m³ と 8 \pm 5 ppb であった。拡張期血圧 (DBP) の有意な増加が、CAPs+O₃ の 2 時間曝露で観察された [中央値の変化、6 mmHg (9.3%) ; 95% 信頼区間 (CI)、0~11 ; p=0.013、Wilcoxon signed rank test]。この増加は、PFA 中の小さな 2 時間の変化 (中央値の変化、1 mmHg ; 95% CI、-2~4 ; p=0.24) とは有意に異なっていた (p=0.017、基礎 BP では未調整)。DBP の 2 時間の変化および平均動脈圧 (2/3 拡張期血圧 + 1/3 収縮期血圧) と PM_{2.5} の有機炭素分画の濃度との間に強い相関 (それぞれ、r=0.53、p<0.01 ; r=0.56、p<0.01) を示したが、総 PM_{2.5} 質量とは関連を示さなかった (r \leq 0.25、p \geq 0.27) ことは、CAPs+O₃ の反応をさらに調査する必要があることを示唆していると考えられる。これらの知見は、環境中の PM_{2.5} と O₃ の関連濃度への曝露は、急速に DBP を増加させることを示唆していると考えられる。BP 変化の大きさが、PM_{2.5} の炭素含量と関連していたことは、自動車交通への曝露が、心血管系疾患の潜在性の危険因子になりうるということと、以前の研究と共通の結果を提供しているのかもしれないと述べている。

1.3 まとめ

1.3.1 DE と DEP

都市環境で曝露しうる程度に希釈された DE (粒子濃度として 100~300 μ g/m³) への 1~2 時間曝露で、健康な非喫煙者で、気道抵抗の増加は認められるが標準的な肺機能検査 (スパイロメトリー) では一般に変化が認められないが、鼻洗浄液、誘発痰、BALF や気管支生検で気道の炎症性反応が有意に観察されること、アトピー性喘息患者では、コルチコステロイドの吸入療法を受けていても、メサコリンに対する気道反応性の有意な亢進や喀痰中の IL-6 の有意な増加、健康な非喫煙者で DE 曝露による気道の急性炎症に proinflammatory サイトカインの誘発と redox-sensitive 転写因子の活性化が関連している可能性、また血管緊張の調節と内因性のフィブリン溶解現象といった血管機能の障害、喘

息患者の気管支粘膜の IL-10 の増加が報告されている。

Diaz-Sanchez らの一連の研究により、健康な非喫煙者で、0.3 mg の DEP の鼻腔内投与で、鼻腔内洗浄液中の IgE の増加（但し、0.15 や 1.0 mg では認められない）やブタクサに感作された非喫煙者で DEP とブタクサ抗原の投与は抗原特異的 IgE の増加、またアジュバント効果など既存のアレルギー性炎症を増強させる効果があることは既に示されているが、Diaz-Sanchez ら（1999）は、健康な非喫煙者で新しい抗原（KLH）に対しても DEP が感作を増強させることを示した。しかし、健康者および喘息患者で DEP は比較的非炎症性であるという報告もあり、ヒトに対する反応は多様で、DEP の物理化学的特性で異なることにも注意を払うべきである。

1.3.2 粒子

① CAPs

大気中の PM_{2.5} を濃縮し、数十～311 μg/m³ 濃度の CAPs 曝露では、高濃度曝露でも健康な非喫煙者、喘息患者や年輩の健康者や COPD 患者で、呼吸器症状や一般的な肺機能検査（スパイロメトリー）では影響が認められない。年輩の COPD 患者よりも年輩の健康者で動脈血酸素飽和度のより強い減少や成人健康者では変化が認められないとする報告もある。しかし、健康な非喫煙者で、BALF 中の好中球の増加や血中フィブリノゲンの増加が認められており、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 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。

また、大気中の濃縮された PM_{10-2.5}（56～218 μg/m³）への曝露では、症状やスパイロメトリー、動脈血酸素飽和度や呼気 NO、誘発痰に影響は認められないが、健康者で喘息患者よりも HRV のより大きな減少が報告されている。

② 粒子の構成要素

PM_{10-2.5} に含まれる生物学的構成要素は、健康な非喫煙者のマクロファージの反応調節に影響を与え、単球を活性化し eotaxin レベルを増強すること； ammonium bisulphate（NH₄HSO₄）（200 および 2,000 μg/m³、MMD 0.3 μm）への 1 時間曝露で、喘息患者で呼気中 NO の増加；酸化鉄粒子（CMD 2.6 μm）を健康な非喫煙者の区域気管支に注入すると、下気道における鉄代謝の平衡異常、一時的な急性の気道炎症症状を誘発することが報告されている。また、硫酸エアロゾル（1,000 μg/m³）への曝露後に一定量のアレルゲン吸入させると喘息反応を増強させることが報告されている。

③ 粒子とガスの混合曝露

CAPs（PM_{2.5}）と O₃ の混合曝露：CAPs（153 μg/m³）と O₃（120 ppb）への 2 時間曝

露で、健康な非喫煙者で急性の上腕動脈の血管収縮；CAPs ($147 \mu\text{g}/\text{m}^3$) と O_3 (120ppb) への2時間曝露で、健康な非喫煙者の上腕動脈の直径の差(CAPs+ O_3 とろ過空気曝露の差)は、 $\text{PM}_{2.5}$ よりも有機および元素状炭素濃度と関連すること；CAPs ($147 \mu\text{g}/\text{m}^3$) と O_3 (121 ppb) への2時間曝露で、健康な非喫煙者の拡張期血圧および平均動脈圧を増加させ、その増加は $\text{PM}_{2.5}$ とは関連がみられないが、CAPs中の有機炭素分画と関連することが報告されている。

1.3.3 超微小粒子

炭素超微小粒子 (10、25、 $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ；CMD：0.025 μm) の2時間吸入で、 $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ で、健康な非喫煙者のMMFとDLcoの減少がみられsmall-airwaysへの影響が示されている。高濃度の微小および超微小の酸化マグネシウム・フューム ($5.8\sim 230 \text{mg}/\text{m}^3$) は、BALFに炎症性所見をもたらさないが、酸化亜鉛フューム ($33 \text{mg}/\text{m}^3$) は、炎症性所見をもたらしたことから、粒子の化学的成分が呼吸器への影響の重要な決定因子であることを示している。

2. 野外：パネル研究

2.1 山火事

Tan ら (2000)は、1997年6月から1997年12月の6ヵ月間、決められたプログラムの同じ屋外の活動(5~8時間/日)をしている徴兵の男子の志願者30人(19歳~24歳;平均21.6歳、喫煙者7人、非喫煙者23人)について、山火事による煙霧が始まった後の1997年9月に調査を開始し、煙霧が去り、汚染指標が有意に低い値に戻るまでの2ヵ月間調査を続けた。大気汚染濃度は、シンガポールの15の大気モニタリング・ステーションから得た。影響指標は、スパイロメトリーと採血を週間隔で行い、煙霧中に5回、煙霧後3回の結果を得た。シンガポールの15の大気モニタリング・ステーションからの1997年1月から1998年1月までの24時間平均のPM₁₀レベルは、8月から10月までは許容安全レベルの50 μg/m³を超えていた。煙霧中の1997年9月23日~10月29日のPM₁₀の日平均値は47~216 μg/m³の範囲であり、この期間を通した平均値±S.D.は125.4±44.9 μg/m³であった。またNO₂とSO₂の平均値は、それぞれ128.9±23.5 μg/m³と78.7±31.2 μg/m³であった。煙霧中(9月29日、10月27日)に調べた末梢血のpolymorphonuclear leukocytes (PMN:多形核白血球)にしめるband cell(杆状球)の割合を煙霧がクリアした後の期間(11月21日、12月5日)と比較した。幾つかの日に単球と血小板数に変動がみられたが、杆状球で観察された変化に比べ、あまり一貫性はみられなかった。一連の解析結果は、異なる遅延日でPM₁₀およびSO₂と杆状球の変化の相関を示している。PM₁₀と杆状球の間関係は、遅延のない日と最も良い関係を示していたが、SO₂は、3日の遅延で杆状球と最も良い関係を示した。大気汚染のその他の指標(NO₂、O₃、CO)に関する類似の解析は、差を示さなかった。単球は日によって何らかの変動があるが、単球とPM₁₀やSO₂レベルとの間には統計的に有意な関係はなかった。煙霧中および後のFEV_{1.0}とFVCには統計的に有意な差はなかった。これらの結果は、大気汚染の指標は、PM₁₀では遅延ゼロ日と1日で、SO₂では3日と4日の遅延で、PMNのパーセンテージとして示された杆状核白血球(band neutrophil)数の上昇と有意(p<0.000)に関連していた。著者は、バイオマス燃焼によって引き起こされる大気汚染は、骨髄からのPMN前駆物質の遊離の増加によりヒトにおける血液中の杆状球数の上昇と関連していて、この反応は、急性の大気汚染と関連する心肺系罹患の病因に寄与していると考えている。

2.2 道路トンネル内空気

Svartengren ら (2000)は、軽症のアレルギー性喘息の20人の志願者(男女各々10人;19~55歳)について、大気汚染物質と呼吸器症状と肺機能との関係を調べた。4週間の間隔をあけて、花粉の季節を除いた1996年12月から1997年2月の間で、二回調べられた。調査期間中のストックホルムの天候は、かなり寒く平均気温は-1.4℃、相対湿度は76%であった。被験者はストックホルム市の道路トンネルで、朝のラッシュ時間(8:00~9:00)の

30 分間、道路脇に駐車した車の中で、座位で曝露された。車の窓は閉じて、曝露中換気ファンを作動させた。このトンネルは、長さ～1,500 m で、一日の交通量は～35,000 台である。NO₂は chemiluminescence 法、PM₁₀と PM_{2.5}は TEOM で測定した。30 分のトンネル曝露前、中および後に呼吸器症状と肺機能を測定し、道路トンネル内の大気汚染に曝露させない対照群も同様に測定した。曝露後 4 時間、即ち 13:00 に、低量の吸入アレルゲン（シラカンバまたはオオアワガエリ花粉アレルゲン）でチャレンジされた。その後 10 時間、呼吸器症状と肺機能を追跡した。対照群の被験者は、郊外地域のホテルで、低い汚染レベルの大気に曝露された。初期相の喘息様反応は、アレルゲン吸入後 15 分の特異的気道抵抗の増加として、遅延相は、アレルゲン吸入後 3～10 時間の肺機能の一秒間の努力性呼気量の減少として測定された。アレルゲン吸入後 18 時間まで喘息様症状と薬の使用が、モニターされた。その結果、曝露中の個人曝露の NO₂の中央値レベルは、313 μg/m³ (203～462 の範囲)、10 μm (PM₁₀) と 2.5 μm (PM_{2.5}) の 50%カットオフの aerodynamic diameter (空気力学的径) の粒子の中央値レベルは、それぞれ、170 μg/m³ (103～613 μg/m³ の範囲) と 95 μg/m³ (61～218 μg/m³ の範囲) であった。トンネル内での曝露中の自覚症状は、認められなかった。しかし、300 μg/m³ 以上のトンネル内の NO₂ レベルに曝露された被験者は、対照群に比べ、より低い肺機能と同様にアレルゲン曝露に続いて有意に大きな初期反応と遅延相でより多くの喘息様症状を示した。また、100 μg/m³ 以上の PM_{2.5} 曝露を受けた被験者は、対照群に比べ、僅かに増加した初期反応を示した。以上の結果から著者は、道路トンネル内の大気汚染への曝露は、続いて吸入されたアレルゲンに対し有意に喘息様反応を増強させるかもしれない、と述べている。

2.3 まとめ

バイオマス燃焼（山火事）による大気汚染（煙霧中の PM₁₀の平均値は 125.4 μg/m³) は、杆状核白血球数の増加と関連すること、トンネル内の大気汚染 [各汚染物質の中央値と範囲：PM_{2.5} (95 μg/m³ : 61～218)、PM₁₀ (170 μg/m³ : 103～603)、NO₂ (313 μg/m³ : 203～462)] に 30 分間曝露されたアレルギー性喘息患者にシラカンバまたはオオアワガエリ花粉アレルゲンをチャレンジすると有意に喘息様反応が増強されることが報告されている。

3. 引用文献

- Alexis, N.E., Lay, J.C., Zeman, K., Bennett, W.E., Peden, D.B., Soukup, J.M., Devlin, R.B. & Becker, S. (2006) Biological material on inhaled coarse fraction particulate matter activates airway phagocytes in vivo in healthy volunteers. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117, 1396-1403.
- Andersen, I., Lundqvist, G.R., Proctor, D.F. & Swift, D.L. (1979) Human response to controlled levels of inert dust. *American Review of Respiratory Disease*, 119, 619-627.
- Beckett, W.S., Chalupa, D.F., Pauly-Brown, A., Speers, D.M., Stewart, J.C., Frampton, M.W., Utell, M.J., Huang, L.S., Cox, C., Zareba, W. & Oberdorster, G. (2005) Comparing inhaled ultrafine versus fine zinc oxide particles in healthy adults: a human inhalation study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 171, 1129-1135.
- Blomberg, A., Sainsbury, C., Rudell, B., Frew, A.J., Holgate, S.T., Sandstrom, T. & Kelly, F.J. (1998) Nasal cavity lining fluid ascorbic acid concentration increases in healthy human volunteers following short term exposure to diesel exhaust. *Free Radical Research*, 28, 59-67.
- Brook, R.D., Brook, J.R., Urch, B., Vincent, R., Rajagopalan, S. & Silverman, F. (2002) Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation*, 105, 1534-1536.
- Devlin, R.B., Ghio, A.J., Kehrl, H., Sanders, G. & Cascio, W. (2003) Elderly humans exposed to concentrated air pollution particles have decreased heart rate variability. *European Respiratory Journal Supplement*, 40, 76s-80s.
- 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.
- Diaz-Sanchez, D., Garcia, M.P., Wang, M., Jyrala, M. & Saxon, A. (1999) Nasal challenge with diesel exhaust particles can induce sensitization to a neoallergen in the human mucosa. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104, 1183-1188.
- Diaz-Sanchez, D., Jyrala, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Frampton, M.W. (2001) Systemic and cardiovascular effects of airway injury and inflammation: ultrafine particle exposure in humans. *Environmental Health Perspectives*, 109 Suppl 4, 529-532.
- Frampton, M.W., Stewart, J.C., Oberdorster, G., Morrow, P.E., Chalupa, D., Pietropaoli, A.P., Frasier, L.M., Speers, D.M., Cox, C., Huang, L.S. & Utell, M.J. (2006) Inhalation of ultrafine particles alters blood leukocyte expression of adhesion molecules in

- humans. *Environmental Health Perspectives*, 114, 51-58.
- Frampton, M.W., Voter, K.Z., Morrow, P.E., Roberts, N.J., Jr., Culp, D.J., Cox, C. & Utell, M.J. (1992) Sulfuric acid aerosol exposure in humans assessed by bronchoalveolar lavage. *American Review of Respiratory Disease*, 146, 626-632.
- 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.
- Ghio, A.J., Carter, J.D., Richards, J.H., Brighton, L.E., Lay, J.C. & Devlin, R.B. (1998) Disruption of normal iron homeostasis after bronchial instillation of an iron-containing particle. *American Journal of Physiology*, 274, L396-403.
- 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.
- Ghio, A.J., Hall, A., Bassett, M.A., Cascio, W.E. & Devlin, R.B. (2003) Exposure to concentrated ambient air particles alters hematologic indices in humans. *Inhalation Toxicology*, 15, 1465-1478.
- 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.
- Gong, H., Jr., Linn, W.S., Clark, K.W., Anderson, K.R., Geller, M.D. & Sioutas, C. (2005) Respiratory responses to exposures with fine particulates and nitrogen dioxide in the elderly with and without COPD. *Inhalation Toxicology*, 17, 123-132.
- Gong, H., Jr., Linn, W.S., Sioutas, C., Terrell, S.L., Clark, K.W., Anderson, K.R. & Terrell, L.L. (2003a) Controlled exposures of healthy and asthmatic volunteers to concentrated ambient fine particles in Los Angeles. *Inhalation Toxicology*, 15, 305-325.
- Gong, H., Jr., Linn, W.S., Terrell, S.L., Clark, K.W., Geller, M.D., Anderson, K.R., Cascio, W.E. & Sioutas, C. (2004a) Altered heart-rate variability in asthmatic and healthy volunteers exposed to concentrated ambient coarse particles. *Inhalation Toxicology*, 16, 335-343.
- Gong, H., Jr., Sioutas, C. & Linn, W.S. (2003b) Controlled exposures of healthy and asthmatic volunteers to concentrated ambient particles in metropolitan Los Angeles. *Research Report / Health Effects Institute*, 1-36; discussion 37-47.
- Gong, H., Linn, W.S., Terrell, S.L., Anderson, K.R., Clark, K.W., Sioutas, C., Cascio, W.E., Alexis, N. & Devlin, R.B. (2004b) Exposures of elderly volunteers with and without chronic obstructive pulmonary disease (COPD) to concentrated ambient fine particulate pollution. *Inhalation Toxicology*, 16, 731-744.
- Gong, V.R.H., Sioutas, C., Linn, W.S., Clark, K.W., Terrell, S.L., Terrell, L.L., Anderson, K.R., Kim, S. & Chang, M.-C. (2000) Controlled human exposures to concentrated ambient fine particles in metropolitan Los Angeles: Methodology and preliminary health-effect findings. *Inhalation Toxicology*, 12, 107 - 119
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kongerud, J., Madden, M.C., Hazucha, M. & Peden, D. (2006) Nasal responses in asthmatic and nonasthmatic subjects following exposure to diesel exhaust particles. *Inhalation Toxicology*, 18, 589-594.
- Kuschner, W.G., D'Alessandro, A., Wong, H. & Blanc, P.D. (1997a) Early pulmonary cytokine responses to zinc oxide fume inhalation. *Environmental Research*, 75, 7-11.
- Kuschner, W.G., Wong, H., D'Alessandro, A., Quinlan, P. & Blanc, P.D. (1997b) Human pulmonary responses to experimental inhalation of high concentration fine and ultrafine magnesium oxide particles. *Environmental Health Perspectives*, 105, 1234-1237.
- 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.
- Lay, J.C., Bennett, W.D., Kim, C.S., Devlin, R.B. & Bromberg, P.A. (1998) Retention and intracellular distribution of instilled iron oxide particles in human alveolar macrophages. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 18, 687-695.
- Lay, J.C., Zeman, K.L., Ghio, A.J. & Bennett, W.D. (2001) Effects of inhaled iron oxide particles on alveolar epithelial permeability in normal subjects. *Inhalation Toxicology*, 13, 1065-1078.
- Leduc, D., Fally, S., De Vuyst, P., Wollast, R. & Yernault, J.C. (1995) Acute exposure to realistic acid fog: effects on respiratory function and airway responsiveness in asthmatics. *Environmental Research*, 71, 89-98.
- Linn, W.S., Gong, H., Jr., Shamoo, D.A., Anderson, K.R. & Avol, E.L. (1997) Chamber exposures of children to mixed ozone, sulfur dioxide, and sulfuric acid. *Archives of Environmental Health*, 52, 179-187.
- Mills, N.L., Tornqvist, H., Robinson, S.D., Gonzalez, M., Darnley, K., MacNee, W., Boon, N.A., Donaldson, K., Blomberg, A., Sandstrom, T. & Newby, D.E. (2005) Diesel exhaust inhalation causes vascular dysfunction and impaired endogenous fibrinolysis. *Circulation*, 112, 3930-3936.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- Petrovic, S., Urch, B., Brook, J., Datema, J., Purdham, J., Liu, L., Lukic, Z., Zimmerman, B., Tofler, G., Downar, E., Corey, P., Tarlo, S., Broder, I., Dales, R. & Silverman, F. (2000) Cardiorespiratory effects of concentrated ambient PM_{2.5}: A pilot study using controlled human exposures. *Inhalation Toxicology*, 12, 173-188
- Pietropaoli, A.P., Frampton, M.W., Hyde, R.W., Morrow, P.E., Oberdorster, G., Cox, C., Speers, D.M., Frasier, L.M., Chalupa, D.C., Huang, L.S. & Utell, M.J. (2004) Pulmonary function, diffusing capacity, and inflammation in healthy and asthmatic subjects exposed to ultrafine particles. *Inhalation Toxicology*, 16 Suppl 1, 59-72.
- 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.
- Riechelmann, H., Rettinger, G., Lautebach, S., Schmittinger, S. & Deutschle, T. (2004) Short-term exposure to urban dust alters the mediator release of human nasal mucosa. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 46, 316-322.
- Riechelmann, H., Rettinger, G., Weschta, M., Keck, T. & Deutschle, T. (2003) Effects of low-toxicity particulate matter on human nasal function. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 45, 54-60.
- Rudell, B., Blomberg, A., Helleday, R., Ledin, M.C., Lundback, B., Stjernberg, N., Horstedt, P. & Sandstrom, T. (1999a) Bronchoalveolar inflammation after exposure to diesel exhaust: comparison between unfiltered and particle trap filtered exhaust. *Occupational and Environmental Medicine*, 56, 527-534.
- 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.
- 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
- Rudell, B., Sandstrom, T., Hammarstrom, U., Ledin, M.L., Horstedt, P. & Stjernberg, N. (1994) Evaluation of an exposure setup for studying effects of diesel exhaust in humans. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 66, 77-83.
- Rudell, B., Wass, U., Horstedt, P., Levin, J.O., Lindahl, R., Rannug, U., Sunesson, A.L., Ostberg, Y. & Sandstrom, T. (1999b) Efficiency of automotive cabin air filters to reduce acute health effects of diesel exhaust in human subjects. *Occupational and Environmental Medicine*, 56, 222-231.
- 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.
- Salvi, S.S., Nordenhäll, C., Blomberg, A., Rudell, B., Pourazar, J., Kelly, F.J., Wilson, S., Sandstrom, T., Holgate, S.T. & Frew, A.J. (2000) Acute exposure to diesel exhaust increases IL-8 and GRO- α production in healthy human airways. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 550-557.
- Schaumann, F., Borm, P.J., Herbrich, A., Knoch, J., Pitz, M., Schins, R.P., Luettig, B., Hohlfeld, J.M., Heinrich, J. & Krug, N. (2004) Metal-rich ambient particles (particulate matter 2.5) cause airway inflammation in healthy subjects. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 170, 898-903.
- 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.
- 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.
- Svartengren, M., Strand, V., Bylin, G., Jarup, L. & Pershagen, G. (2000) Short-term exposure to air pollution in a road tunnel enhances the asthmatic response to allergen. *European Respiratory Journal*, 15, 716-724.
- Tan, W.C., Qiu, D., Liam, B.L., Ng, T.P., Lee, S.H., van Eeden, S.F., D'Yachkova, Y. & Hogg, J.C. (2000) The human bone marrow response to acute air pollution caused by forest fires. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 161, 1213-1217.
- Tunncliffe, 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.
- Tunncliffe, W.S., Harrison, R.M., Kelly, F.J., Dunster, C. & Ayres, J.G. (2003) The effect of sulphurous air pollutant exposures on symptoms, lung function, exhaled nitric oxide, and nasal epithelial lining fluid antioxidant concentrations in normal and asthmatic adults. *Occupational and Environmental Medicine*, 60, e15.
- Urch, B., Brook, J.R., Wasserstein, D., Brook, R.D., Rajagopalan, S., Corey, P. & Silverman, F. (2004) Relative contributions of PM_{2.5} chemical constituents to acute arterial vasoconstriction in humans. *Inhalation Toxicology*, 16, 345-352.
- Urch, B., Silverman, F., Corey, P., Brook, J.R., Lukic, K.Z., Rajagopalan, S. & Brook, R.D. (2005) Acute blood pressure responses in healthy adults during controlled air pollution exposures. *Environmental Health Perspectives*, 113, 1052-1055.
- Utell, M.J., Aquilina, A.T., Hall, W.J., Speers, D.M., Douglas, R.G., Jr., Gibb, F.R., Morrow, P.E. & Hyde, R.W. (1980) Development of airway reactivity to nitrates in subjects with influenza. *American Review of Respiratory Disease*, 121, 233-241.
- Zelikoff, J.T., Frampton, M.W., Cohen, M.D., Morrow, P.E., Sisco, M., Tsai, Y., Utell, M.J. & Schlesinger, R.B. (1997) Effects of inhaled sulfuric acid aerosols on pulmonary immunocompetence: A comparative study in humans and animals. *Inhalation Toxicology*, 9, 731-752.