

## 微小粒子状物質曝露影響調査研究報告書 (概要)

環境省では、一般大気環境における微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>: 大気中に浮遊する粒径 2.5 μm 以下の粒子状物質)の曝露と健康影響との関連性を明らかにすることを目的とし、平成 11 年度(1999 年度)より「微小粒子状物質曝露影響調査研究」を開始し、平成 18 年度(2006 年度)にかけて計 8 年間にわたって、曝露、疫学、毒性学の 3 つの分野について各種調査研究を継続的に実施し、我が国における微小粒子状物質の曝露と健康影響との関連性に関する知見の集積を図ってきた。

本調査研究の実施にあたっては、微小粒子状物質とその曝露影響に関する専門家から構成された「微小粒子状物質曝露影響調査検討会」において総合的・包括的な検討を行うとともに、当該検討会の下に、曝露調査、疫学調査、動物実験の 3 つの分野ごとに、各分野の専門家から成るワーキンググループを設置し(曝露評価ワーキンググループ、疫学ワーキンググループ、毒性評価ワーキンググループ)、専門的かつ実務的見地から検討作業を実施した。

以下に微小粒子状物質曝露影響調査研究報告書(平成 19 年 7 月)の概要を示す。

### 1. 曝露調査／曝露評価ワーキンググループ検討結果報告(別紙 1 参照)

#### (1) 調査内容

曝露評価ワーキンググループでは、本調査研究での疫学解析に必要な PM<sub>2.5</sub> 曝露データを得るとともに、わが国における大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度等の実態把握にも資することを目的とし、全国の疫学調査等地点における大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度及びその成分濃度の実測調査を実施した。また、大気中の PM<sub>2.5</sub> 測定技術に関する情報を整理し、平成 12 年に作成した微小粒子状物質質量濃度測定方法暫定マニュアル等の改定検討を行うとともに、疫学調査の一環で個人曝露量調査を実施するために必要な個人曝露量測定方法に関する調査を行った。

#### (2) 調査結果まとめ

大気中 PM<sub>2.5</sub> 曝露調査については、得られた測定データを疫学解析に活用するとともに、調査測定箇所等は限定されるものの、我が国の大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度及び成分組成の現状把握等を実施した。

大気中 PM<sub>2.5</sub> 濃度測定・分析方法に関する調査については、測定法等のさらなる確立を図る必要があるが、質量濃度測定に関して、平成 12 年度の暫定マニュアル策定以後新たに集積された知見や情報を踏まえ改定を行うとともに、成分分析方法に関するマニュアルを新たに策定した。

PM<sub>2.5</sub> 個人曝露量実測方法に関する調査については、現段階において実施可能な方法について検討を行い、疫学調査における個人曝露調査で用いる測定法の選定を行った。

## 2. 疫学調査／疫学ワーキンググループ検討結果報告（別紙2参照）

### （1）調査内容

疫学ワーキンググループでは、わが国における微小粒子状物質の健康影響に関する疫学的知見を得るため、諸外国の疫学研究等を参考に、複数の研究手法を組み合わせた疫学調査を複数の地域で実施し、微小粒子状物質の長期間及び短期間曝露による呼吸器系及び循環器系への影響について検討した。また、個人の曝露量と大気中PM<sub>2.5</sub>濃度との関係をみる個人曝露量調査も実施した。

#### （疫学調査項目）

- ・短期影響調査
  - －日死亡との関連性解析
  - －呼吸器系症状との関連性解析（喘息による夜間急病診療所の受診との関連性解析、気管支喘息児（入院児）のピークフロー値との関連性解析、喘息患児（通院児）のピークフロー値との関連性解析、小学生のピークフロー値及び1秒量との関連性解析）
  - －循環器系症状との関連性解析（埋め込み型除細動器による治療発生との関連性解析）
- ・長期影響調査（PM<sub>2.5</sub>長期曝露と小児及び保護者の呼吸器症状等との関連性解析）

### （2）調査結果まとめ

個人曝露調査については、平均濃度で検討する場合に屋内濃度と屋外濃度がほぼ同じ濃度とみなすことができ、また、個人曝露濃度が屋内濃度と概ね一致すること等から、地域を代表する環境測定濃度を指標として当該地域内の個人曝露評価を行うことの妥当性が示された。

短期影響調査については、日死亡との関連に関しては、調査対象地域の統合解析では、全死因や呼吸器疾患などで統計的に有意な上昇がみられ、地域単独の解析においても、一部地域において、統計的に有意な上昇がみられる場合がある等全体としては諸外国における知見を概ね支持するものであったが、推計された死亡リスクがやや低い傾向にあり、特に循環器系疾患による死亡リスクの大きさが異なる可能性が示唆された。また、死亡以外の健康影響指標のうち、異なる条件下の3つの集団を対象としたピークフロー値に関する調査では、数時間前の大気中PM<sub>2.5</sub>濃度又はSPM濃度の上昇がピークフロー値の低下と関連している傾向が示された。関連性の程度や関連性がみられた状況は必ずしも一致していなかったが、これらの結果は欧米等の研究で示されているPM<sub>2.5</sub>と喘息患者における肺機能との関連性に関する知見を概ね支持するものであった。

長期影響調査については、PM<sub>2.5</sub>濃度が3歳から7歳に至る子供の呼吸器症状等の有症状況及び喘息様症状の発症と関連していることを示す疫学的知見は得られず、一方、保護者における断面調査による持続性の咳や痰症状の有症状況にPM<sub>2.5</sub>をはじめとした大気汚染物質への曝露が関連している可能性が示唆されたが、今回の調査上の様々な制約の上での結果であることに留意する必要性も示された。

### 3. 動物実験／毒性評価ワーキンググループ検討結果報告（別紙3参照）

#### （1）調査内容

毒性評価ワーキンググループでは、わが国における微小粒子状物質に関する毒性学的知見を得るため、諸外国の疫学研究で報告されているPM<sub>2.5</sub>曝露に対する高感受性群（心肺疾患の患者、老齢）に着目し、高感受性要因を持つ動物等への現実大気中PM<sub>2.5</sub>の短期間曝露を実施し、による呼吸器系及び循環器系への影響について検討した。

#### （調査項目）

- ・大気中微小粒子状物質抽出物（PM<sub>2.5</sub>抽出物）を用いたPM<sub>2.5</sub>による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究（第1期研究）
  - －細胞を使ったPM<sub>2.5</sub>抽出物の影響に関する研究（ラットの血管内皮微小環境に及ぼす影響に関する研究）
  - －PM<sub>2.5</sub>抽出物の気管内投与が呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響に関する研究（細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響、心不全マウス及びラットの循環機能に及ぼす影響、若齢、老齢及び心肺疾患ラットの循環機能及び肺組織に及ぼす影響、自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響）
- ・CAPs（濃縮大気粒子）曝露システムを用いたPM<sub>2.5</sub>による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究（第2期研究）
  - －CAPs吸入曝露が肺障害に及ぼす影響に関する研究（マウスの細菌毒素による肺傷害に及ぼす影響）
  - －CAPs吸入曝露が循環機能に及ぼす影響に関する研究（モルモットのキニジン誘発不整脈に及ぼす影響、老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響、自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響）

#### （2）調査結果まとめ

第1期研究の結果、ラットの血管内皮細胞を用いた実験によりPM<sub>2.5</sub>抽出物がラットの血管内皮細胞に酸化ストレスを与え得ること、気管内投与実験により定性的ではあるがPM<sub>2.5</sub>抽出物がマウスの肺の炎症を増悪する作用、自然発症高血圧ラット（SHR）において心拍数の減少や副交感神経を介した影響などをもたらすことが確認された。

第2期研究の結果、CAPs曝露が肺障害に及ぼす影響に関しては、マウスを用いた実験等よりCAPs曝露が細菌毒素による肺の炎症性の変化を増悪させる可能性があること等が確認された。また、循環器系に及ぼす影響に関しては、高血圧ラットの実験よりCAPs曝露中に副交感神経系が優位となり心拍数の減少が観察されたが、一方で老齢ラット及び高血圧ラットの実験においてCAPsの曝露終了後に心拍数が上昇する傾向が見られており、CAPs曝露より循環器系に何らかの変化が生じることは否定できないと考えられた。

第1期のPM<sub>2.5</sub>抽出物気管内投与実験と第2期のCAPs吸入曝露実験ともに見られた変化は細菌毒素による肺の炎症の増悪であり、一方、高血圧ラットを用いた実験では、曝露中に心拍数が低下する傾向が認められたものの、微小粒子状物質が循環器系に及ぼす影響に関して明確な結果は得られなかった。

#### 4. まとめ

各ワーキンググループにおける8年間にわたる一連の調査研究を通じて、国内における一般大気環境中の微小粒子状物質の曝露と健康影響に関する一定の科学的知見が得られた。今後は、各ワーキンググループで得られた成果をベースに、諸外国における調査研究動向も踏まえつつ、今後の課題として挙げられた事項を中心に、更なる研究の進展と知見の集積が期待される。

今回の一連の調査研究結果を重ねて見ると、研究上の制約等があることやヒトと動物の種差等を考慮しなくてはならないが、呼吸器系について、疫学研究においてPM<sub>2.5</sub>濃度と健康影響指標に関する関連性が一部見られ、細菌毒素による肺の炎症の増悪が見られる毒性学研究の結果も合わせて見ると、興味深い示唆が得られた。一方、循環器系に関しては、呼吸器系の結果に比べると、今回の調査結果の範囲では、PM<sub>2.5</sub>曝露による影響を明瞭に示唆する知見は得られなかった。この点について、今後、欧米における疫学研究報告との違いにも着目し、その違いの要因について、様々な観点（微小粒子状物質の構成成分、循環器系疾患の死亡率や罹患状況、生活様式等の違い）から検証を進める必要性が示された。

微小粒子状物質曝露影響調査検討会（親検討会） 委員名簿

（平成19年4月現在：50音順・敬称略）

氏名	所属
岩井 和郎	（財）結核予防会結核研究所 顧問
内山 巖雄	京都大学大学院工学研究科 都市環境工学専攻 教授
香川 順	東京女子医科大学 名誉教授
笠貫 宏	東京女子医科大学 循環器内科学講座 主任教授
工藤 翔二	日本医科大学 呼吸器・感染・腫瘍内科 主任教授
小林 隆弘	東京工業大学統合研究院ソリューション研究機構 特任教授
松下 秀鶴	静岡県立大学 名誉教授
森田 昌敏	愛媛大学 農学部生物資源学科 教授
柳沢 幸雄	東京大学大学院 新領域創成科学研究科環境システム学専攻 教授
○横山 榮二	元 国立公衆衛生院 院長
芳住 邦雄	共立女子大学大学院 人間生活学専攻 教授

○：座長

微小粒子状物質曝露影響調査検討会 曝露評価ワーキンググループ 委員名簿

（平成19年4月現在：50音順・敬称略）

氏名	所属
鎌滝 裕輝	東京都環境局環境改善部有害化学物質対策課
後藤 純雄	麻布大学 環境保健学部健康環境科学科 教授
○坂本 和彦	埼玉大学大学院 理工学研究科 教授
田邊 潔	（独）国立環境研究所 化学環境研究領域 上級主席研究員
田村 憲治	（独）国立環境研究所 環境健康研究領域 総合影響評価研究室 主任研究員
西川 雅高	（独）国立環境研究所 環境研究基盤技術ラボラトリー環境分析化学研究室 室長
溝畑 朗	大阪府立大学 産学官連携機構先端科学イノベーションセンター センター長
明星 敏彦	（独）産業医科大学 産業生態科学研究所 労働衛生工学研究室 准教授
吉山 秀典	（独）産業技術総合研究所 九州センター実環境計測・診断ラボ 主任研究員

○：座長

微小粒子状物質曝露影響調査検討会 疫学ワーキンググループ 委員名簿

(平成19年4月現在：50音順・敬称略)

氏名	所属
秋葉 澄伯	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 健康科学専攻人間環境学講座 疫学・予防医学 教授
氏平 高敏	名古屋市健康福祉局 健康部 主幹
大森 崇	京都大学大学院医学研究科 社会健康医学系専攻医療統計学 准教授
小田嶋 博	(独) 国立病院機構 福岡病院 統括診療部 統括診療部長
小野 雅司	(独) 国立環境研究所 環境健康研究領域総合影響評価研究室 室長
佐藤 俊哉	京都大学大学院医学研究科 社会健康医学系専攻医療統計学 教授
島 正之	兵庫医科大学 公衆衛生学 教授
田村 憲治	(独) 国立環境研究所 環境健康研究領域総合影響評価研究室 主任研究員
中井 里史	横浜国立大学大学院 環境情報研究院 教授
中館 俊夫	昭和大学 医学部衛生学 教授
○新田 裕史	(独) 国立環境研究所 環境健康研究領域環境疫学研究室 室長
福崎 紀夫	新潟県保健環境科学研究所 調査研究室 室長
松田 直樹	東京女子医科大学 日本心臓血圧研究所循環器内科 講師
山崎 新	京都大学大学院医学研究科 医療疫学分野 准教授

○：座長

微小粒子状物質曝露影響調査検討会 毒性評価ワーキンググループ 委員名簿

(平成19年4月現在：50音順・敬称略)

氏名	所属
石原 陽子	久留米大学 医学部公衆衛生学講座 教授
岩井 和郎	(財) 結核予防会結核研究所 顧問
高野 裕久	(独) 国立環境研究所 環境健康研究領域 領域長
局 博一	東京大学大学院 農学生命科学研究科獣医学専攻比較病態生理学教室 教授
○平野 靖史郎	(独) 国立環境研究所 環境リスク研究センター環境ナノ生体影響研究室 室長
丸山 良子	東北大学 医学部保健学科看護学専攻 教授
山崎 新	京都大学大学院 医学研究科医療疫学分野 准教授
※小林 隆弘	東京工業大学統合研究院ソリューション研究機構 特任教授
・鈴木 忠男	元(財) 日本自動車研究所

○：座長 ※：顧問 ・：オブザーバー

## 曝露評価ワーキンググループ検討結果報告 (概要)

### 1. 調査項目

#### (1) 大気中 PM<sub>2.5</sub> 曝露調査

疫学調査での解析に必要な大気中 PM<sub>2.5</sub> 曝露データを得るとともに、わが国における大気中 PM<sub>2.5</sub> 濃度の地域特性や季節変動、経年変動等を把握するため、平成 13～18 年度にかけて、全国の疫学調査地点等における大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度及び成分濃度の実測調査を実施し、測定・分析データの整理・解析を行った。

#### ① 自動測定機 (TEOM) による大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度連続測定

全国 19 地点 (一般環境大気測定局 [一般局] 15 局、自動車排出ガス測定局 [自排局] 4 局) において、自動測定機 (TEOM) を用いた大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度の連続測定を実施し、他調査において継続測定されている全国 17 地点 (一般局 6 局、自排局 11 局) の大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度連続測定データとあわせて整理・解析を行った。

#### ② 成分分析試料採取用大気サンプラ (SASS) による大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度測定及び成分濃度分析

①の全国 19 地点において、四季に分けて季節ごとに 14 日間・年間計 56 日間、成分分析試料採取用大気サンプラ (SASS) を用いて PM<sub>2.5</sub> サンプルング (フィルタ採取) を行い、大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度の秤量測定及び PM<sub>2.5</sub> 成分濃度分析を実施した。

#### ③ アンダーセンエアサンプラ (ALV) を用いた大気中粒子状物質粒径別質量濃度測定及び成分濃度分析

①の全国 19 地点において、アンダーセンエアサンプラ (ALV) を用いてサンプルングを行い、粒径別質量濃度の秤量測定及び成分濃度分析を実施した。

#### ④ 測定方法による PM<sub>2.5</sub> 質量濃度差等に関する評価

本調査において PM<sub>2.5</sub> 質量濃度の測定に用いた TEOM と SASS の 2 種の測定方法に関して、各測定機器の特徴や測定期間等も踏まえ、得られた PM<sub>2.5</sub> 測定結果の差について評価するとともに、長期疫学調査で用いる年平均値の推定について検討した。

#### ⑤ 測定地点の特性等に関する評価

PM<sub>2.5</sub> 調査研究にあたり、得られた質量濃度測定値の地域代表性の有無を判断する際の検証法 (異常値判定法) について検討を行った。

#### (2) 大気中 PM<sub>2.5</sub> 濃度測定・分析方法に関する調査

上記 (1) の調査を実施するため、平成 12 年に「大気中微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) 質量濃度測定方法暫定マニュアル」を作成するとともに、同マニュアル作成以降に収集整理した PM<sub>2.5</sub> 計測技術に関する情報等をもとに、同マニュアルの改定版を策定し、併せて成分測定マニュアルの作成も行った。

### (3) PM<sub>2.5</sub> 個人曝露量実測方法に関する調査

わが国における環境大気中 PM<sub>2.5</sub> 濃度と個人曝露濃度との関係を把握するために、個人サンプラの捕集特性や個人曝露量調査法について検討し、疫学調査の一環で個人曝露量調査を実施するために必要な PM<sub>2.5</sub> 個人曝露濃度測定法に関する調査を行った。

《参考》

#### ○フィルタ振動法 (TEOM: Tapered Element Oscillating Microbalance)

TEOM は、測定機に取り付けられた円錐状の秤量素子の先端にフィルタカートリッジがセットされており、そこに捕集される粒子の質量増加によって振動素子の振動数が減少することを利用した測定方法である。この振動数の変化量を計測することで捕集質量を算出し、吸引した試料大気量から PM<sub>2.5</sub> の質量濃度を算出する。

#### ○成分分析試料採取用大気サンプラ (SASS: Speciation Air Sampling System)

SASS は、8チャンネルのサンプリング部を持ち、同時に最大4チャンネルのサンプリングが可能で、各成分(質量、イオン成分分析、炭素成分分析)の最適な採取フィルタ及びデニューダの取り付けができ、アーティファクトによる影響を取り除くことを目的として開発された装置である。

#### ○アンダーセンエアサンプラ (ALV)

ALV は、大気中粒子状物質を粒径ごとに9段階に分類してサンプリングを行うことが可能である。測定原理は、小さなノズルから捕集板に向かって試料ガスを高速で吹き付け、ガス中の粒子を慣性力によって捕集板上に衝突、分離捕集させるもので、このノズル口径を次第に小さくすることによって、下流に行くほど小さい粒子を分離捕集して粒径分布を測定する。

## 2. 調査結果

### (1) 大気中 PM<sub>2.5</sub> 曝露調査

※調査地点の分類

本調査結果は、下表に示す「地理的」及び「都市・非都市」ごとにデータを分類・平均して整理を行った。なお、本調査で分類・整理した調査結果は、限られた測定地点でのデータによるものであり、各地域や一般局・自排局などの傾向を代表したものではないことに留意する必要がある。

表 調査地点の分類

地理的な分類	都市・非都市による分類
(一般局)	1. 一般局 (都市部)
1. 北海道	茨城県, 埼玉県, 千葉県, 東京都, 愛知県, 大阪府, 兵庫県, 岡山県, 福岡県
2. 東北地方(宮城県)	2. 一般局 (非都市部)
3. 甲信越地方(新潟県)	北海道, 宮城県, 新潟県, 宮崎県
4. 関東地方(茨城県, 埼玉県, 千葉県, 東京都, 神奈川県)	3. 自排局
5. 東海地方(愛知県)	茨城県, 埼玉県, 千葉県, 東京都, 神奈川県, 愛知県, 大阪府, 兵庫県
6. 近畿・中国地方(大阪府, 兵庫県, 岡山県)	
7. 九州地方(福岡県, 宮崎県)	
(自排局)	
8. 関東地方(茨城県, 埼玉県, 千葉県, 東京都, 神奈川県)	
9. 東海地方(愛知県)	
10. 近畿地方(大阪府, 兵庫県)	

#### ①自動測定機 (TEOM) による大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度連続測定

- ・年平均値の推移は、自排局では調査期間中において年々減少し、一般局 (都市部) では平成13~14年度に減少しその後横ばい、一般局 (非都市部) は調査期間中ほぼ



横ばいであった。

- ・月平均値の推移は、全国的に春季から夏季にかけて（4～7月）または晩秋から初冬季（11月頃）に濃度が高くなる傾向にあった。
- ・時間変動は、朝8時前後及び夜19時前後に濃度が高く、季節別にみると、夏季は他の季節と異なり昼頃の濃度の低下傾向がみられなかった。

## ②成分分析試料採取用大気サンプラ（SASS）による大気中 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度測定及び成分濃度分析

### ○質量濃度

- ・年平均値推移は、平成13～15年度まで減少傾向、平成15年度以降は横ばいであった。
- ・季節別では、関東地方は春季及び秋季に濃度が高く、その他の地域は春季に濃度が高かった。
- ・TEOM/SASS比は、一般局（都市部）及び自排局では夏季で約1、他の季節で約0.8であった。一般局（非都市部）では春季でやや低いのを除き、他の季節では1に近い値を示した。TEOMはフィルタ部及び大気導入管を50℃に加温しているため、半揮発性物質が揮発することから、SASSに比べてやや低めの測定値を示す傾向にあった。夏季は外気の気温が高いために半揮発性物質がガス状で存在することが多い。このためTEOMとSASSの質量濃度の差が小さくなったものと思われた。

### ○成分濃度

#### <成分構成>

- ・PM<sub>2.5</sub>の主要な成分は元素状炭素（EC）、有機炭素（OC）、硝酸イオン（NO<sub>3</sub><sup>-</sup>）、硫酸イオン（SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>）、アンモニウムイオン（NH<sub>4</sub><sup>+</sup>）であった。
- ・一般局では硫酸イオンの占める割合が最も多く、自排局では元素状炭素の占める割合が最も多かった。また、一般局では、都市部が非都市部に比べ硝酸イオンの占める割合が多く、非都市部では都市部より硫酸イオンの占める割合が多かった。

#### <炭素成分>

- ・元素状炭素は、年平均値が全体的に減少傾向であった。
- ・有機炭素は、年平均値が年度ごとにばらつきがあるものの概ね横ばい傾向を示した。一般局では都市部が非都市部に比べ濃度が高く、自排局が一般局（都市部）より濃度が高かった。

#### <イオン成分>

- ・イオン成分の割合は、夏季に硫酸イオン濃度が上昇し、硝酸イオン濃度が減少した。気温の高い夏季には揮発性の高い硝酸塩がガス化する一方で、光化学反応が活性化し、二次生成されて粒子状になった硫酸塩が増加したためと考えられた。
- ・硫酸イオンは、年平均値が年度により濃度の増減がみられ、地域的には西日本の近畿・中国地方や九州地方でやや濃度が高かった。

- ・硝酸イオンは、年平均値が一般局・自排局ともに概ね横ばい傾向であり、一般局では都市部が非都市部に比べて高く、地域別でみると関東地方では他の地域に比べ濃度が高くなる傾向にあった。
- ・アンモニウムイオンは、年平均値が全体的に横ばい傾向で、都市部でやや濃度が高くなる傾向がみられた。

### ③アンダーセンエアサンプラ（ALV）を用いた大気中粒子状物質粒径別質量濃度測定及び成分濃度分析

#### ○質量濃度粒径分布

- ・微小粒子側の $0.5\mu\text{m}$ と粗大粒子側の $5\mu\text{m}$ の粒径をピークとし、 $1\sim 2\mu\text{m}$ が谷となる二山型の分布を示した。自排局では、微小粒子側の粒径の濃度が一般局に比べやや高かった。一般局では、微小粒子、粗大粒子ともに都市部が非都市部より濃度が高く、特に微小粒子側でその差が大きかった。
- ・春季は $4\sim 6\mu\text{m}$ 付近の粒径の濃度がピークとなり、特に九州地方で高かった。他の季節に比べ、春季において粗大粒子側の濃度が高かったのは、風による土壌や堆積物の巻き上げなど局所的な要因も考えられたが、春季は他の季節に比べ黄砂が観測される日数が多く、また、日本で観測される黄砂のピーク粒径は $4\mu\text{m}$ 前後といわれていることから、黄砂の影響を受けたことも考えられた。
- ・関東地方は秋季に他の地域と比べて微小粒子側の濃度がやや高くなる傾向を示した。

#### ○成分別粒径分布

##### <炭素成分>

- ・元素状炭素は、 $0.5\mu\text{m}$ 以下の微小粒子側の粒径に偏在し、一般局に比べ自排局で濃度が高かった。
- ・有機炭素は、 $0.6\mu\text{m}$ 付近の粒径をピークに濃度が高くなる傾向を示し、元素状炭素と同様、自排局で最も高かった。また、都市部（一般局）及び自排局では、 $4\mu\text{m}$ 付近の粒径も濃度がやや高かった。

##### <イオン成分>

- ・主なイオン成分（硫酸イオン、硝酸イオン、アンモニウムイオン）の粒径分布をみると、微小粒子側の一山型（硫酸イオン、アンモニウムイオン）と微小粒子・粗大粒子の二山型（硝酸イオン）に分類された。
- ・イオン成分は全体的に、自排局と一般局（都市部）は同じような傾向を示し、一般局（非都市部）は塩化物イオンの粗大側を除いて濃度が低くなる傾向を示した。
- ・硫酸イオンとアンモニウムイオンは、九州地方で濃度が高く、九州から東に行くにつれて微小粒子側の濃度が低くなる傾向を示した。
- ・硝酸イオンは、関東地方で微小粒子側の濃度が高くなる傾向を示した。

## ＜金属成分＞

- ・主な金属成分（アルミニウム、ナトリウム、鉄、カリウム、バナジウム、マンガン）の粒径分布をみると、粗大粒子側の一山型（アルミニウム、ナトリウム、鉄、マンガン（一般局（非都市部）））と微小粒子・粗大粒子の二山型（カリウム、バナジウム、マンガン（一般局（都市部）・自排局））に分類された。
- ・鉄、カリウム、バナジウム及びマンガンの微小粒子は、自排局及び一般局（都市部）が一般局（非都市部）に比べ濃度が高かったが、アルミニウム及びナトリウムでは大きな差はみられなかった。また、各成分とも春季に4~6 $\mu$ m付近の粒径で濃度が高かった。

## ④測定方法によるPM<sub>2.5</sub>質量濃度差等に関する評価

### ○TEOM が持つ誤差

TEOM データには、吸引流量の変動等の測定器の性能に基づく誤差として、測定値の2%程度の誤差が見込まれ、また、PM<sub>2.5</sub>の捕集部を50℃に加熱していることによる半揮発性物質の揮散の影響によって、SASSによるPM<sub>2.5</sub>濃度に対してTEOMのほうが低くなる傾向があった。この濃度誤差はPM<sub>2.5</sub>濃度や半揮発性成分濃度が高いほど顕著であり、また気温が低い時期ほど差が大きくなる傾向が見られた。

### ○PM<sub>2.5</sub>質量濃度の年平均値の推定

本調査で得られたPM<sub>2.5</sub>の測定値には、TEOMによる年間連続測定データと、SASSによる春夏秋冬の年4回各14日間（計56日間）のデータが存在する。各データに関する留意点を踏まえ、PM<sub>2.5</sub>質量濃度の年平均値推定方法として考えられる方法について比較検討した。

その結果、SASSによる年4回各14日間（計56日間）の測定の平均値を年平均値として用いる場合、誤差が概ね $\pm 2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、変動係数が約10%であり他の推定方法より誤差が小さいこと、SASSは米国の標準法に近い方法であり国際的な比較が可能であること、環境アセスメントでは年4回各2週間の測定で大気汚染物質の年平均値の推定が可能とされていること等を考慮し、PM<sub>2.5</sub>質量濃度の年平均値を推定する場合は、SASSの年間56日間の平均値をそのまま用いる方法が適当と考えられた。

上記の検討結果を踏まえ、長期疫学調査で用いる曝露データについては、SASSデータによる年平均の推定値を用いることとした。

## ⑤測定地点の特性等に関する評価

フィルタ法による質量濃度の地域代表性検証手法としては、成分分析値を用いた質量濃度推定手法モデル(Chemical mass closure model)が一般に知られており、検証法の検討では本法を基に日本の気候風土に合致したモデルの構築を行った。

策定した検証法をSASS調査結果に適応した結果、約9割が検証法における判定基準内にあり、SASS調査結果は概ね各地点を代表しているものと判断された。

## (2) 大気中PM<sub>2.5</sub>濃度測定・分析方法に関する調査

平成12年度に作成された「自動測定機による微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)質量濃度測定方法暫定マニュアル」及び「フィルタによる微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)質量濃度測定方法暫定マニュアル」について、作成時以降に集積した知見をもとに改定の検討を行うとともに、「大気中微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)成分測定マニュアル」についても併せて検討した。

今回のマニュアル改定・作成にあたっては、採取や測定に関わる実操作を記述したマニュアル本体と、記載内容に関する情報を取りまとめた解説の2部形式とした。

### ①自動測定機

現在、米国及び欧州連合において PM<sub>2.5</sub> の標準測定法として定められている方法は、フィルタ法による質量濃度測定のみである。

自動測定機については、測定環境や粒子の性状等が異なると測定原理の違いにより測定値に差異がでる場合があるのが現状であり、現在のところ欧米において標準測定法の等価法として認定された自動測定機はない。しかしながら、自動測定機は、質量濃度がリアルタイムで得られる点やコストがかからない点等の長所を有しており、現在国内外において実用化に向けた開発改良が活発に行われている。

今回の暫定マニュアル改定にあたっては、現在国内で市販され一定の使用実績のある検出原理による自動測定機について、主に以下の点を中心に、国内外における技術動向及び測定データ等を勘案しつつ記述内容の検討を行った。なお、改定にあたっては、平成12年の暫定マニュアル策定以後新たに集積された知見や情報等についてできるだけ記載するように努めた。

<改定の主要ポイント>

質量濃度算出に用いる大気流量の表示条件／試料大気導入口の設置高さ／測定範囲／校正・点検の項目と頻度／判断基準と異常時のデータ取り扱い 等

### ②フィルタ法

今回の暫定マニュアル改定にあたっては、フィルタ法について、主に以下の点を中心に、米国等における標準測定法の規定内容、国内外における技術動向及び規格規定動向等を勘案しつつ記述内容の検討を行った。なお、改定にあたっては、平成12年の暫定マニュアル策定以後新たに集積された知見や情報等についてできるだけ記載するように努めた。

<改定の主要ポイント>

質量濃度算出に用いる大気流量の表示条件／秤量条件／試料大気導入口の設置高さ／ラボブランク・トラベルブランクの取り扱い／マスクロージャーモデルを用いた質量濃度結果の地域代表性検証に関する検討／測定範囲 等

### ③成分測定

微小粒子状物質の性状、生成由来等の検討において、その構成成分の把握は有用であることから、大気中微小粒子状物質の成分（イオン成分、炭素成分、金属成分及び多環芳香族炭化水素成分）に関する採取及び分析を行う場合の参考として活用されることを想定し、今回新たに PM<sub>2.5</sub> の成分測定マニュアルを暫定的に作成した。

### (3) PM<sub>2.5</sub> 個人曝露量実測方法に関する調査

わが国における環境大気中 PM<sub>2.5</sub> 濃度と個人曝露濃度との関係を把握するために、個人サンプラの捕集特性や調査法について検討し、PM<sub>2.5</sub> 個人曝露濃度測定法について、現段階において実施可能な測定方法を提示した。

サンプラについては、24時間を測定単位として、これに適合するポンプとフィルタホルダの選定を行った。ポンプの条件としては、重量や大きさの点で吸引量が 2L/min 程度の吸引量とし、フィルタホルダは正確に PM<sub>2.5</sub> を分級捕集できることとした。これに該

当するサンプラとして、3種類の既製サンプラを候補とし、沿道や一般の環境での並行測定試験を繰り返して捕集性能などの比較を行った。その結果、基準として用いた FRM 測定値との相関や価格等の観点で1種類のサンプラを選定し、内部付着の解消や圧損対策の改良を加えた上で、疫学ワーキンググループにおける個人曝露調査で用いることとした。

## 疫学ワーキンググループ検討結果報告 (概要)

### 1. 調査項目

#### (1) PM<sub>2.5</sub>個人曝露調査

PM<sub>2.5</sub>個人曝露量と大気中PM<sub>2.5</sub>濃度との関連性について検討することを目的として、(3)の長期影響調査対象地域(全国7地域)に住む調査対象の一部世帯を対象に、PM<sub>2.5</sub>測定用個人サンプラを用いて、家屋内外のPM<sub>2.5</sub>濃度及びPM<sub>2.5</sub>個人曝露濃度測定を実施した。

#### (2) 短期影響調査

大気中PM<sub>2.5</sub>への短期的な曝露と呼吸器系及び循環器系との関連性について検討するため、死亡、受診、症状及び機能変化などの各種健康影響指標に着目した疫学調査を実施した。

##### ①日死亡との関連性に関する検討

日死亡とPM<sub>2.5</sub>濃度との関連性を調査するため、一般大気環境でのPM<sub>2.5</sub>濃度を継続的に測定している全国20地域を対象に、平成14～16年の人口動態調査死亡データ及び大気中PM<sub>2.5</sub>等濃度測定データに基づき、解析モデルとして国際的に用いられているGAM (Generalized Additive Model) 等を用いて(気温等の影響を調整)、全死亡(外因死を除く)・呼吸器疾患・循環器疾患等の死因別に、地域毎のPM<sub>2.5</sub>単位濃度増加当たりの日死亡リスクの増加量を推定した。

##### ②呼吸器系症状との関連性に関する検討

呼吸器系症状と粒子状物質濃度との関連性を調査するため、協力が得られた地域、病院や小学校を対象に、大気中PM<sub>2.5</sub>濃度と呼吸器系に関する受診及び呼吸機能との関連性に関する調査を実施した。

##### ○呼吸器系に関する受診との関連性

###### 1) PM<sub>2.5</sub>濃度と喘息による夜間急病診療所の受診との関連性解析

喘息による夜間急病診療所の受診者を対象に、統計モデルを用いて(気温等の影響を調整)、受診時刻前の時間帯毎の大気中PM<sub>2.5</sub>単位濃度増加当たりの受診リスクのオッズ比を推計し、大気中PM<sub>2.5</sub>濃度と喘息受診との関連性について検討した。

##### ○呼吸機能との関連性

###### 1) PM<sub>2.5</sub>濃度と気管支喘息児(入院児)のピークフロー値との関連性解析

長期入院治療中の気管支喘息患児を対象に、毎日午前7時と午後7時に病院内でスパイロメータを用いてピークフロー値を測定し、統計モデルを用いて(気温等の影響を調整)、ピークフロー値測定前のPM<sub>2.5</sub>単位濃度増加当たりのピークフロー値変化量を推計し、大気中PM<sub>2.5</sub>濃度とピークフロー値との関連性について検討した。

###### 2) 粒子状物質濃度と喘息患児(通院児)のピークフロー値との関連性解析

病院の治療を受け水泳教室に通う喘息患児を対象に、毎日起床時と就寝前の1日

2回、スパイロメータを用いてピークフロー値を自己測定し、統計モデルを用いて（気温等の影響を調整）、ピークフロー値測定前のSPM（PM<sub>2.5</sub>データがないためSPMで代替）単位濃度増加当たりのピークフロー値変化量を推計し、大気中SPM濃度とピークフロー値との関連性について検討した。

### 3) PM<sub>2.5</sub>濃度と小学生のピークフロー値及び1秒量との関連性解析

2小学校の4, 5年生を対象に、毎日起床時と就寝前の1日2回、電子式ピークフローメータを用いてピークフロー値及び1秒量の自己測定を実施し、統計モデルを用いて（気温等の影響を調整）、ピークフロー値測定前のPM<sub>2.5</sub>単位濃度増加当たりのピークフロー値変化量を推計し、大気中PM<sub>2.5</sub>濃度とピークフロー値との関連性について検討した。

## ③循環器系症状との関連性に関する検討

### 1) 粒子状物質濃度と埋め込み型除細動器による治療の発生との関連性解析

協力が得られた病院において埋め込み型除細動器により心室性不整脈の治療を受けている患者を対象に、除細動器に記録された心室性不整脈の治療記録を専門医により心室頻拍と心室細動に分類し、統計モデルを用いて（気温等の影響を調整）、SPM（PM<sub>2.5</sub>データがないためSPMで代替）単位濃度増加当たりの除細動器による心室性不整脈の治療発生リスクのオッズ比を推計し、大気中SPM濃度と除細動器による心室性不整脈の治療発生との関連性について検討した。

## (3) 長期影響調査

大気中PM<sub>2.5</sub>への長期的な曝露と呼吸器症状との関連性について検討するため、全国から大気汚染度の異なる7地域を選定し、各地域における平成13年10月から平成14年9月までの3歳児健康診査対象児全員とその保護者（父母）を対象に、関係自治体の協力を得て、呼吸器症状に関する質問票を用いた計5年間の追跡調査（子供は毎年、保護者は隔年）を実施した。

ベースライン調査における有症状況の断面解析、調査年毎の有症状況の繰り返し調査に基づく解析及び追跡期間中の発症に基づく解析を行い、大気中PM<sub>2.5</sub>濃度との関連性について検討した。

## 2. 調査結果

### (1) PM<sub>2.5</sub>個人曝露調査

7地域における家屋内外及び常時測定地点における測定により、地域内の一測定地点における測定濃度を地域住民の住宅屋外の環境濃度と考えることはほぼ妥当であると考えられた。各家屋の屋外濃度と屋内濃度の関係は、家屋によっては家屋内外の濃度の相関が弱いケースもあるものの、強い相関を示す例も多く、平均濃度で検討する場合には屋内濃度を屋外濃度とほぼ同じ濃度とみなすことができることが分かった。

ただし、沿道の住宅など屋外濃度が比較的高濃度になる場合や、気象条件で屋外濃度が上昇する場合は屋内濃度が屋外より低濃度になる傾向が認められたため、曝露評価に詳細な検討が必要な場合は、家屋の沿道との位置関係や気象条件の考慮の検討が必要になる。

今回の個人曝露調査対象者層は多くが常勤の職に就かない主婦であり、対象者数も限定されているため、結果の一般化には注意を要するが、個人曝露濃度は概ね屋内濃度と一致しており、平均濃度の場合、屋内濃度と屋外濃度はほぼ同じ濃度とみなすことができることを踏まえれば、対象地域内で生活する者の曝露評価において地域を代表する環境濃度を指標とする評価は妥当であると考えられた。

## (2) 短期影響調査

### ① 日死亡との関連性に関する検討

日死亡と  $PM_{2.5}$  日平均濃度との関連性について、全国 20 地域の H14 年から H16 年まで 3 年間の人口動態死亡統計と大気汚染濃度測定データに基づき、解析モデルとして国際的に同種の疫学研究の多くで用いられている GAM を適用して検討を行った結果、推計には多くの不確実性があるものの、以下のような結論を得た。

- ・  $PM_{2.5}$  濃度に対する日死亡リスク比は 1 を超える場合がみられ、20 地域における推計結果の統合値では、呼吸器疾患で統計的に有意な上昇がみられるものがあったが、循環器疾患については全死亡や呼吸器疾患と比べて日死亡リスク比は小さかった。
- ・ 地域別にみると、一部地域において、地域単独の解析で統計的に有意な上昇がみられた。また、政令都市 9 地域のみでの統合値においても統計的に有意な上昇がみられるものがあった。
  - ・ 他の解析モデルを適用した場合、共存大気汚染物質を含めた場合、属性（性、年齢及び死亡場所）によって分類して解析した場合などで、推計リスクの大きさや統計的な有意性は多少変化したが、全体としての傾向に大きな差異はみられなかった。

### ② 呼吸器系症状との関連性に関する検討

#### ○ 呼吸器系に関する受診との関連性

##### 1) $PM_{2.5}$ 濃度と喘息による夜間急病診療所の受診との関連性解析

夜間急病診療所に受診した患者を対象とした検討では、 $PM_{2.5}$  濃度と喘息による受診との間に一貫した関連性が認められなかった。

#### ○ 呼吸機能との関連性

##### 1) $PM_{2.5}$ 濃度と気管支喘息児（入院児）のピークフロー値との関連性解析

午後 4 時以降の大気中  $PM_{2.5}$  濃度の上昇と当日午後 7 時及び翌朝午前 7 時のピークフロー値の低下との関連性が示され、他の汚染物質を考慮しても、午前 7 時のピークフロー値は前日午後 9 時から当日午前 2 時までの大気中  $PM_{2.5}$  濃度との関連性が有意であった。

##### 2) 粒子状物質濃度と喘息患児（通院児）のピークフロー値との関連性解析

喘息患児のピークフロー値が大気中 SPM 濃度の 3 時間平均値と関連しており、SPM 濃度が高いと、その後測定したピークフロー値が有意に低いことが示された。この関連性は温暖期の起床時においてのみ認められ、温暖期の就寝時や寒冷期の起床時及び就寝時では一貫した有意な関連性は認められなかった。

##### 3) $PM_{2.5}$ 濃度と小学生のピークフロー値及び 1 秒量との関連性解析



小学生の夜間の肺機能値については、測定前の一部の時間帯におけるPM<sub>2.5</sub>濃度が高いとピークフロー値及び1秒量が低下するという有意な関連性がみられ、日中における大気中粒子状物質濃度の増加と当日夜の小学生の肺機能の低下との関連がみられた。しかし、有意な関連性が見出されたのは一部の時間帯についてのみであり、必ずしも一貫した影響を認めることはできなかった。

### ③循環器系症状との関連性に関する検討

#### 1) 粒子状物質濃度と埋め込み型除細動器による治療の発生との関連性解析

埋め込み型除細動器により心室性不整脈の治療を受けている対象集団において、SPMと除細動器による心室性不整脈の治療との発生との関連性は認められなかった。

#### <まとめ>

死亡の指標については、解析モデルとして国際的に用いられているGAMを適用して検討を行った結果、PM<sub>2.5</sub>濃度に対する日死亡リスク比は1を超える場合がみられ、20地域における推計結果の統合値では、呼吸器疾患で統計的に有意な上昇がみられるものがあった。

地域単独の解析においても、東京都23区など一部地域において、統計的に有意な上昇がみられる場合があった。また、政令都市のみの統合値においても統計的に有意な上昇がみられる場合があった。

異なる解析モデルを用いた場合、共存大気汚染物質を含めた場合、もしくは性、年齢、死亡場所によって分類して解析した場合などで推計リスクの大きさや統計的な有意性は変化したが、全体としての傾向に大きな差異はみられなかった。

これらの結果は諸外国における大気中微小粒子状物質と日死亡との関連性を示す多数の疫学的知見を概ね支持するものであった。しかしながら、推計された死亡リスクが米国における推計値と比較してやや低い傾向があり、特に循環器系疾患による死亡リスクの大きさが異なる可能性が示唆された。

死亡以外の短期影響指標のうち、地域内の夜間の急病時の初期診療を実施している夜間急病診療所において実施した喘息による受診数とPM<sub>2.5</sub>濃度との関連性に関する検討結果では、両者間に安定的な関連性は認められなかった。この結果については、本調査の対象が市の急病診療所に受診した者に限定され、診療時間帯も限られること等様々な制約の下で検討を行ったことにも留意する必要がある。

長期入院治療中の喘息児、水泳教室に通う喘息児及び一般の小学生という異なる条件下の3つの集団を対象としたピークフロー値に関する調査においては、数時間前の大気中PM<sub>2.5</sub>濃度もしくはSPM濃度の上昇がピークフロー値の低下と関連している傾向が示された。この関連性は他の共存大気汚染物質を考慮してもみられるものがあった。一方、有意な関連性がみられたのは一部の時間帯のみである場合や、特定の季節においてのみである場合など、関連性の程度や関連性がみられた状況は必ずしも一致していなかった。推計された単位濃度当たりのピークフロー値低下量については水泳教室に通う喘息児、入院喘息児及び一般小学生との間で大きな差はみられなかった。諸外国における喘息児を対象とした同種の検討においても推計されたピークフロー値の変化量には調査間で大きな差があり、影響の程度は種々の条件で変動するものと考えられた。今回のこれらの結果は、欧米等の研究で示されているPM<sub>2.5</sub>と喘息患者における肺機能との関連性とほぼ一致したものであった。

埋め込み型除細動器により心室性不整脈の治療を受けている集団において、SPM濃度

と除細動器による心室性不整脈の治療の発生との関連性は認められなかった。本調査は、調査当時、当該調査地域のPM<sub>2.5</sub>濃度データを収集することができず代替としてSPM濃度を用いたが、今後はPM<sub>2.5</sub>濃度との関連性についてもより詳細に検討する必要がある。

以上のように、PM<sub>2.5</sub>への曝露による短期影響については、本検討で取り上げた呼吸器系の死亡やその他の健康影響指標ではPM<sub>2.5</sub>濃度との関連性が認められるものがあり、得られた結果は、従来の諸外国での疫学的知見とほぼ整合する結果であった。

一方、循環器系死亡との関連性については、米国における知見とやや異なるとみられる結果となり、疾患別に見ると循環器系全体の結果と異なる傾向を示すものも見られ、循環器系への影響特性に関する更なる検討の必要性が示唆された。また、死亡以外の循環器系指標に関する検討は、今回は埋め込み型除細動器により心室性不整脈の治療を受けている集団を対象としたものに限られたものであり、今後は諸外国において取り上げられているその他の循環器系の影響指標についても広範囲に検討を進める必要がある。

### (3) 長期影響調査

PM<sub>2.5</sub>濃度が3歳から7歳にいたる子供の呼吸器症状等の有症状況及び喘息様症状の発症と関連していることを示す疫学的知見は得られなかった。子供においてPM<sub>2.5</sub>濃度と呼吸器症状等との関連性がみられなかったことは、調査実施上の制約から対象地域が限られていたために共存大気汚染物質による影響を解析上十分に調整できていない可能性や、調査対象地域内のPM<sub>2.5</sub>濃度分布の大きさに比べて地域間のPM<sub>2.5</sub>濃度差が小さかったこと、潜在的な交絡因子の影響など、PM<sub>2.5</sub>への曝露による影響を検討する上でいくつか重要な問題点を考慮しなければならない。

一方、保護者における持続性の咳や痰症状の有症状況にPM<sub>2.5</sub>をはじめとした大気汚染物質への曝露が関連している可能性が示唆された。この保護者における結果はベースライン調査のみならず3回の繰り返し調査の結果においてもみられたものである。保護者においてPM<sub>2.5</sub>濃度と持続性の咳や痰症状の有症状況との間に関連性がみられたことは、PM<sub>2.5</sub>への曝露が呼吸器系への影響を及ぼしている可能性を示唆するものであるが、その影響がPM<sub>2.5</sub>単独のものであるか、PM<sub>2.5</sub>と相関する共存汚染物質による見かけのものであるか、もしくはPM<sub>2.5</sub>とこれらの共存汚染物質の複合的影響であるかなど不明な点が多い。また、断面調査ないしその繰り返し調査であるという制約などから、PM<sub>2.5</sub>の真の影響を示した結果であるか否かの判断は慎重にしなければならない。

## 毒性評価ワーキンググループ検討結果報告 (概要)

### 1. 調査項目

#### (1) 大気中微小粒子状物質抽出物 (PM<sub>2.5</sub> 抽出物) を用いた PM<sub>2.5</sub> による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究 (第 1 期研究)

第 1 期では、CAPs 曝露システムが製作・稼動される前段階の予備的研究として、PM<sub>2.5</sub> 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、サンプラ等を用いて捕集された大気中微小粒子状物質の有機溶媒抽出成分 (PM<sub>2.5</sub> 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細胞実験を行った。

#### ①細胞を使った PM<sub>2.5</sub> 抽出物の影響に関する研究

##### 1) ラットの血管内皮微小環境に及ぼす影響に関する研究

PM<sub>2.5</sub> 抽出物の有機成分が内皮細胞や内皮細胞を取り巻く微小環境に影響を及ぼすのかについて明らかにすることを目的とし、培養実験系を用いた実験を実施した。

#### ②PM<sub>2.5</sub> 抽出物の気管内投与が呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響に関する研究

##### 1) 細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響

正常雄性マウス (6 週齢) を用いて、PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物等が細菌毒素による肺傷害を増悪するか否かについて検討するとともに、炎症性サイトカインとケモカインの局所発現、細菌毒素受容体の発現や抗炎症性サイトカインに及ぼす影響について遺伝子発現のレベルで検討し肺傷害に及ぼす影響機構について検討した。

##### 2) 心不全マウス及びラットの循環機能に及ぼす影響

心筋傷害モデルの一種であるドキシソルビシン (アドレアマイシン) 及びイソプロテレノールをラット及びマウスに投与して心機能異常モデル (心不全マウス及びラット) を作製し、PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物の気管内投与実験等を行い、心電図及び血圧に及ぼす影響について検討した。

##### 3) 若齢、老齢及び心肺疾患ラットの循環機能及び肺組織に及ぼす影響

若齢ラット (10~11 週齢)、老齢ラット (23~24 ヶ月齢) 及び食塩感受性高血圧ラットを用いて、PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物の気管内投与が呼吸・循環機能に及ぼす影響について検討した。

##### 4) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

正常血圧ラットと比較して心臓血管系への影響が鋭敏に現れる可能性がある自然発症高血圧ラット (SHR) 及びその対照群である Wistar/Kyoto ラット (WKY) を用いて、PM<sub>2.5</sub> による高血圧ラットの呼吸循環器系への影響を検討した。

#### (2) CAPs (濃縮大気粒子) 曝露システムを用いた PM<sub>2.5</sub> による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究 (第 2 期研究)

第2期では、平成15年度から平成18年度にかけて、横浜市内に設置された濃縮大気粒子（Concentrated Air Particles：CAPs）曝露システムを用いたCAPsの各種短期吸入曝露実験を実施した。

第2期においては、第1期における成果も踏まえつつ、PM<sub>2.5</sub>曝露に対する高感受性と考えられる病態である肺の炎症・不整脈・高血圧や老齢に着目し、これらの病態等を持つ動物又は類似する病態を誘発させた動物を用いて、計4課題のCAPs吸入曝露実験を行った。

各課題とも、複数年（4年間）にわたり計6～8回実験を繰り返すことにより進められた。これらの実験結果の評価にあたっては、各実験回別にCAPs曝露と生体影響指標との関連性を検討するだけでなく、全実験回を統合し解析することとした。統計解析にあたっては、まず、CAPs曝露有無と各生体影響指標との関連性解析を行い、CAPsの吸入曝露により心機能又は呼吸機能に有意な変化が起こりうるのかどうかについて検討し、次に、CAPs曝露により有意な変化が認められた場合を中心に、CAPs曝露濃度と生体影響指標との傾向性の解析を行い、必要に応じてCAPs成分と生体影響指標との関連を調べた。

#### ①CAPs吸入曝露が肺障害に及ぼす影響に関する研究

##### 1) マウスの細菌毒素による肺傷害に及ぼす影響

呼吸器系の炎症性傷害に着目し、第1期と同じ正常雄性マウス（6週齢）を用い、細菌毒素又はvehicle（対照溶液）を気管内投与後にCAPs吸入曝露を行い、マウスの細菌毒素による肺（の炎症性）傷害に及ぼす影響について検討した。

#### ②CAPs吸入曝露が呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究

##### 1) モルモットのキニジン誘発不整脈に及ぼす影響

キニジン投与による不整脈誘発モルモットを用い、CAPs吸入曝露がモルモットの不整脈の易誘発性に及ぼす影響を検討した。

##### 2) 老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

第1期と同様に老齢ラット（22～24ヶ月齢）を用い、CAPs吸入曝露が老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響について検討した。

##### 3) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

第1期同様、SHRラット及びWKYラットを用い、CAPs吸入曝露が高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響を検討した。

#### 《参考》 CAPs曝露システムについて

本研究で用いたCAPs曝露システムは、ハーバード大学において開発されたもので、サンブラにより捕集された大気中の微小粒子（PM<sub>2.5</sub>）をバーチャルインパクトによって粒径0.1μm～2.5μmの粒子とガスを含む粒径0.1μm以下に分粒し、これを繰り返すことによりPM<sub>2.5</sub>を高濃度に濃縮し、曝露チャンバーで動物への吸入曝露を実施するシステムである。米国等で大気中粒子状物質の吸入曝露実験などの目的で活用されている。

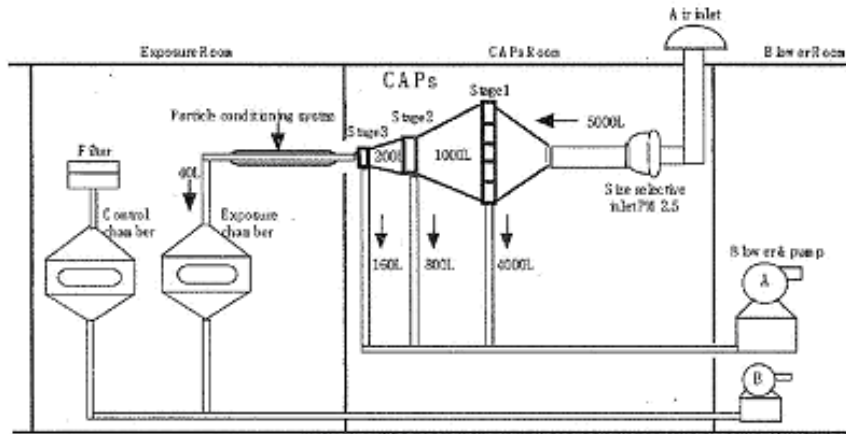


図 CAPs 曝露システムの構成

## 2. 調査結果

### (1) 大気中微小粒子状物質抽出物 (PM<sub>2.5</sub> 抽出物) を用いた PM<sub>2.5</sub> による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究 (第 1 期研究)

#### ①細胞を使った PM<sub>2.5</sub> 抽出物の影響に関する研究

##### 1) ラットの血管内皮微小環境に及ぼす影響に関する研究

PM<sub>2.5</sub> 抽出物は血管内皮細胞に酸化的ストレスを与え、凝固線溶系に影響を及ぼすことが示唆された。

#### ②PM<sub>2.5</sub> 抽出物の気管内投与が呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響に関する研究

##### 1) 細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響

PM<sub>2.5</sub> 抽出物は、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。

##### 2) 心不全マウス及びラットの循環機能に及ぼす影響

正常ラット及び心不全ラットともに、PM<sub>2.5</sub> 抽出物の気管内投与によって特異的な心電図影響は認められなかった。

##### 3) 若齢、老齢及び心肺疾患ラットの循環機能及び肺組織に及ぼす影響

若齢及び老齢ラットへの PM<sub>2.5</sub> 抽出物の気管内単回投与により、いずれも初期に軽度の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。

##### 4) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

自然発症高血圧ラット (SHR) において PM<sub>2.5</sub> 抽出物の投与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<sub>2.5</sub> 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。

## <まとめ>

第1期の気管内投与実験及び細胞を用いた結果から、ラットの血管内皮細胞を用いた実験によりPM<sub>2.5</sub>抽出物がラットの血管内皮細胞に酸化的ストレスを与え得ること、気管内投与実験により定性的ではあるがPM<sub>2.5</sub>抽出物がマウスの肺の炎症を増悪する作用、自然発症高血圧ラット（SHR）において心拍数の減少や副交感神経を介した影響などをもたらすことが確認された。

第1期の実験で得られた成果は、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の実験計画に反映させる観点でも有用であったが、気管内投与と吸入曝露とは気道内での分布等が異なる点も考慮する必要があり、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に含めて評価することとした。

## (2) CAPs（濃縮大気粒子）曝露システムを用いたPM<sub>2.5</sub>による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究（第2期研究）

今回の実験で用いたCAPs曝露システムは、大気中PM<sub>2.5</sub>を効率よく濃縮して小動物等に吸入曝露するために開発された装置であり、米国等での稼働状況及び国内での稼働上の問題点等を踏まえて設計・製作し設置した。

このシステムの濃縮特性について、濃縮率は実験日によって異なるが、動物曝露実験（平成15～18年度）を通じて概ね10～60倍程度（全体平均35倍）であった。また、濃縮率は粒径毎にやや異なり必ずしも一定ではなく、粒径0.1μm（100nm）以下の超微小粒子はほとんど濃縮されていないことから、同システムにより得られたCAPsは現実大気中PM<sub>2.5</sub>を高濃度で濃縮したものではあるが、その粒径分布や成分構成は大気中PM<sub>2.5</sub>と異なることに留意しておく必要がある。

### ①CAPs吸入曝露が肺傷害に及ぼす影響に関する研究

#### 1) マウスの細菌毒素による肺傷害に及ぼす影響

CAPs曝露は、細菌毒素による気管支肺胞洗浄液中への炎症細胞浸潤を増悪させた。また、曝露日によって、炎症性タンパク（IL-1β、MIP-1α、MCP-1、KC）の肺局所における発現を増強させたが、この結果は気道への炎症細胞浸潤と相関はしていなかった。また、CAPs曝露と炎症のパラメーターには、気道への好酸球浸潤について（CAPs曝露により）増強する傾向を認めた以外、相関は認めなかった。

以上より、CAPs曝露は時として細菌毒素と協調して肺での炎症・傷害を増悪しうることが示唆された。

### ②CAPs吸入曝露が呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究

#### 1) モルモットのキニジン誘発不整脈に及ぼす影響

キニジン投与による影響は、CAPs曝露群が除粒子対照群に比べて、わずかではあるが心臓の興奮性と再分極過程を抑制する傾向があるように見えた。また、CAPs曝露自体は曝露直後の麻酔下の多くの個体（モルモット）で心拍数を上げる方向に作用する可能性が考えられた。

今回の研究では、CAPsが明瞭に不整脈を誘発するといった現象は認められなかったが、心筋の興奮性をわずかながらも不安定にする可能性が存在するものと思われた。

## 2) 老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

PM<sub>2.5</sub>と心不全の関係を裏付けるに十分な心拍数、血圧、体温、自律神経活動性への明確な影響は認めなかったが、3日間曝露期間中の非曝露時間帯で、CAPs曝露群で心拍数の増加傾向を認めた。また、心機能指標とCAPs成分との間に一貫して関連傾向を認める成分は、認めなかった。

CAPsの心肺組織及び血管系での炎症反応を評価する気管支肺胞洗浄液と血液、血液凝固系、組織炎症性サイトカイン・ケモカインなどの指標には、除粒子対照群と比較してCAPs曝露の影響を反映し、鋭敏に増減した指標は認めなかった。

## 3) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

CAPs曝露により、副交感神経活動の指標であるHFの増加、心拍数の減少が確認された。交感神経活動の指標であるLH/HFには曝露の影響は認められなかった。呼吸器の指標であるPenhは曝露により増加傾向を示した。以上の影響は、SHRに強く出る可能性があった。血液凝固系の指標にはCAPs曝露の影響は出なかった。上記の指標と曝露粒子濃度との関連性については、明らかとは言えなかった。しかし、濃度が高いほど影響が出る可能性が考えられる例もあった。

### <まとめ>

第2期のCAPs曝露システムを用いた実験結果から、CAPs曝露が肺障害に及ぼす影響に関しては、マウスを用いた実験等よりCAPs曝露が細菌毒素による肺の炎症性の変化を増悪させる可能性があること等が確認された。

また、循環器系に及ぼす影響に関しては、高血圧ラットの実験よりCAPs曝露中に副交感神経系が優位となり心拍数の減少が観察されたが、一方で老齢ラット及び高血圧ラットの実験においてCAPsの曝露終了後に心拍数が上昇する傾向が見られており、今回の実験結果から呼吸器に沈着したCAPsが心拍数変化に影響するかどうかを推測することは難しいもののCAPs曝露より循環器系に何らかの変化が生じることは否定できないと考えられた。

### 《第1期及び第2期を通じたまとめ》

第1期のPM<sub>2.5</sub>抽出物の気管内投与実験と第2期のCAPs吸入曝露実験ともに見られた変化は、細菌毒素による肺の炎症の増悪である。微小粒子状物質の曝露による肺の炎症の増悪が、循環器系に直接影響を及ぼす可能性は低いとしても、肺の炎症を介した間接的な影響は必ずしも否定できない。また、SHRラットを用いた実験において、第1期と第2期ともに、CAPs曝露中に心拍数が低下する傾向が認められたものの、微小粒子状物質が循環器系に及ぼす影響に関して明瞭な結果は得られなかった。