

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR-14-'94

粒子状物質を主体とした大気汚染物質の  
生体影響評価に関する実験的研究

Experimental Studies on the Health Effects of Air Pollutants  
Containing Diesel Exhaust Particles

昭和 63 年度～平成 4 年度  
FY 1988～1992

NIES

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

国立環境研究所特別研究報告

# 粒子状物質を主体とした大気汚染物質の 生体影響評価に関する実験的研究

Experimental Studies on the Health Effects of Air Pollutants  
Containing Diesel Exhaust Particles

昭和63年度～平成4年度

FY 1988～1992

環境庁 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

特別研究「粒子状物質を主体とした大気汚染物質の生体影響評価に関する実験的研究」

(期間 昭和63年度～平成4年度)

特別研究責任者：横山栄二 (昭和63年度)

小泉 明 (平成元年度)

嵯峨井勝 (平成2～4年度)

特別研究幹事：嵯峨井勝 (昭和63年度～平成元年度)

報告書編集担当：嵯峨井勝

## 序

都市部の窒素酸化物に係る大気環境は、種々の努力にもかかわらず依然として改善を要する状況にある。この原因は主に自動車の排気ガスによると考えられており、増加が著しいディーゼル車の排気ガスの影響も関係していると考えられる。一方、ディーゼル排気ガスに含まれる粒子状物質が肺がんを発生させる可能性やアレルギー性鼻炎を引き起こす可能性が指摘されている。

このような現状に鑑み、当研究所では、昭和63年度から平成4年度の5年間にわたり特別研究「粒子状物質を主体とした大気汚染物質の生体影響評価に関する実験的研究」を実施した。これにより、ディーゼル排気中の粒子状物質が酸素の一電子還元体であるスーパーオキシドを生成し、このスーパーオキシドが毒性を発現し、ひいては持続的炎症等の気管支ぜん息様の病態を引き起こすことを、ディーゼル排気中の粒子状物質をマウスに気管内投与する実験で見いだした。これにより、ディーゼル排気中の粒子状物質が、ヒトの気管支ぜん息を引き起こす可能性を実験的に示したといえる。

ディーゼル排気中の粒子状物質と気管支喘息との関連を確認するためには、今回のような投与方法による実験ではなく、ディーゼル排気中の粒子状物質を動物に吸わせる、いわゆる吸入実験で、①血管透過性の亢進、②粘液質の過剰分泌、③気管支粘膜下組織に炎症が起こること等について解明する必要がある。このため、平成5年度から5ヶ年計画で新たに特別研究「ディーゼル排気による慢性呼吸器疾患発症機序の解明とリスク評価に関する研究」を開始したところである。

今後、大気環境改善のためディーゼル車対策を中心とする大気汚染対策の推進が一層求められると考えられる。このためにも本研究の成果が活用されることを期待したい。

平成6年3月

国立環境研究所

所長 市川 惇 信

## 目 次

1	研究の目的と経緯	1
1.1	研究の目的	1
1.2	研究の経緯	1
2	研究の成果	3
2.1	ディーゼル排気微粒子(DEP)によるぜん息様病態発症の証明に関する実験的研究	3
2.1.1	はじめに	3
2.1.2	最近の大気環境について	3
2.1.3	大気汚染と気管支ぜん息との間の因果関係について	4
2.1.4	DEPの活性酸素産生を介した肺毒性について	4
2.1.5	DEPの血管内皮細胞傷害による血管透過性の亢進	6
2.1.6	DEPの気管内への繰り返し投与によるぜん息様病態の発症	6
2.1.7	気管支ぜん息の定義の変化	9
2.1.8	まとめ	9
2.2	アレルギー反応に関する研究	10
2.2.1	硫酸エアロゾルのIgE抗体産生に及ぼす影響	10
2.2.2	硫酸エアロゾルとNO <sub>2</sub> との複合暴露のIgE抗体産生に及ぼす影響	10
2.2.3	硫酸エアロゾルとNO <sub>2</sub> による肥満細胞からのヒスタミン遊離	10
2.2.4	フライアッシュあるいはディーゼル排気微粒子(DEP)のアレルギー反応に及ぼす影響	11
2.2.5	ディーゼル排気微粒子(DEP)によるアジュバンド効果発現のメカニズム	12
2.2.6	まとめ	12
2.3	気道過敏性に関する研究	13
2.3.1	気道過敏性に関する研究の現状	13
2.3.2	硫酸エアロゾル暴露による気道の過敏性	13
2.3.3	硫酸エアロゾル暴露後の抗原感作のアレルギー反応に及ぼす影響	13
2.3.4	ディーゼル排気微粒子(DEP)の鼻粘膜の過敏性に及ぼす影響	14
2.3.5	まとめ	15
2.4	アレルギー性鼻炎発症に対するディーゼル排気微粒子(DEP)の影響	15
2.4.1	はじめに	15
2.4.2	アレルギー性鼻炎症状の評価	15
2.4.3	アレルギー性鼻炎発症に対するDEPの影響について	16
2.4.4	鼻腔内適用したDEPの抗原誘発鼻粘膜反応に対する影響	18
2.4.5	まとめ	18
2.5	呼吸器腫瘍発生に及ぼす大気汚染物質の影響に関する実験的研究	20
2.5.1	呼吸器腫瘍発生に及ぼすNO <sub>2</sub> の影響	20

2.5.2	NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> 及び硫酸エアロゾルの複合暴露による肺腫瘍発生促進作用に関する実験的研究	22
2.5.3	ディーゼル排気微粒子(DEP)による肺腫瘍発生と高脂肪食, β-カロチン食の影響	23
2.5.4	ディーゼル排気微粒子(DEP)による発がん研究の現状と問題点	25
2.5.5	まとめ	26
2.6	浮遊粒子状物質(SPM)の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究	26
2.6.1	幹線道路周辺における夏期のSPM, NO <sub>2</sub> 濃度	26
2.6.2	沿道住宅の長期SPM, NO <sub>2</sub> 濃度調査	27
2.6.3	まとめ	30
	[引用文献]	31
	[資料]	
I	研究の組織と研究課題の構成	35
1	研究の組織	35
2	研究課題と担当者	36
II	研究成果発表一覧	38
1	誌上発表	38
2	口頭発表	43

# 1 研究の目的と経緯

## 1.1 研究の目的

近年、我が国における大気汚染については、従来の硫酸化物(SO<sub>2</sub>)や降下媒塵を中心とした固定発生源型汚染から、交通量の多い大都市、幹線道路沿いなどにおける二酸化窒素(NO<sub>2</sub>)や浮遊粒子状物質(SPM)を主体とした移動発生源型汚染に関心が移りつつある。特に近年、ディーゼル車の増加が著しく、環境庁の自動車排出ガス測定局測定結果では、ディーゼル車の影響があると思われる大都市部の浮遊粒子状物質とNO<sub>2</sub>の環境基準の達成率は依然低い水準で推移しており、ヒトの健康に及ぼす影響が懸念されている。一方で、気管支ぜん息等のアレルギー性疾患が増加しているという調査結果が報告されている<sup>1)</sup>。また、厚生省の人口動態統計によると、肺癌による死亡率も増加している。これら疾患の発生と大気汚染との関連が疑われているので、両者間の因果関係の実験的研究による解明が一層重要になってきている。

これら大気汚染物質のうち、NO<sub>2</sub>はこれまでに膨大な研究報告があるにもかかわらず、ぜん息の原因であることを実験的に証明したもの、なかでも、ぜん息病態において最も重要な気管支粘膜下への好酸球の浸潤を伴う炎症の発生を証明した報告は全くない。一方、ディーゼル排気微粒子(DEP)に関する研究についてみると、変異原性や発がん性に関する研究報告はきわめて多いが、DEPがIgE<sup>\*1</sup>産生時にアジュバント<sup>\*2</sup>効果を示すということ以外に、ぜん息に直接焦点を当てた研究報告はほとんど見当たらない。さらに加えて、最近のぜん息はIgE産生とは直接関係しないケースも多く、そのメカニズムはいまだ不明といわなければならない。また、DEPの発がん性に関しても、DEPの中のベンゾ(a)ピレンやニトロアレンなどに代表される強力な発がん物質がDEP発がんの原因と考えられてきた。しかし、最近ディーゼル排気(DE)そのものと、発がん物質を含まないただのカー

ボンブラック(CB)あるいは酸化チタン(TiO<sub>2</sub>)をDE中のDEPと同じ濃度にしてラットに2年間吸入させたところ、三者の間の発がん率はほとんど同じであったという結果が1992年にドイツのブラウンホッフアーエアロゾル毒性研究所<sup>2)</sup>とアメリカの吸入毒性研究所(ITRI)<sup>3)</sup>から同時に発表され、これまでいわれてきたDEP中のニトロアレン等の発がん物質の実際の発がんに及ぼす意義が議論を呼んでいるところである。このような状況に加えて、近年日本ではディーゼル車の増加が著しいことから、ディーゼル排気による気管支ぜん息と発がん性についてはさらに詳しい研究が必要と考えられていた。

本特別研究では、ヒトの健康への影響評価に資するための研究、すなわちSPMと気管支ぜん息やアレルギー性鼻炎等の慢性呼吸器疾患および肺癌発生との間の因果関係の解明を行うことを目的として、硫酸エアロゾルの吸入ならびにDEPの気管内投与による影響の解析を行った。

## 1.2 研究の経緯

本特別研究は昭和63年度から平成4年度までの5ヵ年計画でスタートした。当初は吸入実験による硫酸エアロゾルの呼吸器に及ぼす影響の研究からスタートした。しかし、研究の過程でよりプライオリティの高いDEPの健康影響を検討すべきことが議論された。折しも、研究所の機構改革の時期と重なり、研究設備のあり方も議論され、その中でディーゼル排気発生装置作成の予算が認められ、さらに研究遂行に機能的な組織が作られ、平成2年度からDEPの研究が本格化した。しかし、当初は図1に示した実験装置のうち、ダイリュージョントンネルのところまでしか完成していなかったため、DEPの懸濁液の気管内投与による実験に集中した。

研究としては、DEPの懸濁液をマウスに気管内投与すると、DEPそれ自身が化学反応を起こして活性酸素を生成し、それが肺の毛細血管を覆っている内皮細胞を傷害し、①血管透過性を高め、肺に様々な傷害を引き起こすことを明らかにした。平成3年度からはDEP(0.1mgあるいは0.2mg)を16回繰り返し投与する慢性実験を行い、DEPが②痰のものと粘液を過剰に分泌し、③好中球や好酸球、特に好酸球の浸潤が著しい重篤な炎症症状を

<sup>\*1</sup> 免疫グロブリン(Immuno-globulin, Ig)は分子量により4つのクラス(分子量の順にIgG, IgM, IgE, IgA)に分類される。IgE抗体は肥満細胞などと結合してアレルギー反応を起こす。正常ヒト血清中濃度はきわめて低い(数百ng/ml)が、寄生虫感染、枯草熱などで増加する。

<sup>\*2</sup> 抗原とともに注射された時に、抗原に対する免疫応答を増強する効果。DEPにはIgE産生を増強する効果、いわゆるアジュバント効果があると言われている。

起こすことを見だし、DEPが気管支ぜん息様病態の誘発物質である可能性をマウスを用いて示した。また、このDEPを鼻腔に投与すると鼻腔内の血管透過性を高め、浮腫による鼻づまりや鼻水などの鼻炎症状を引き起こすことも明らかにした。さらに、アレルギー性呼吸器疾患発症と関連の深いIgE抗体産生能を高めるメカニズムを解析し、アレルギー反応へのDEPの関与を示唆する成績を得ることができた。また、平成4年度には0.1mgあるいは0.2mgのDEPをマウスに毎週1回ずつ、16回繰り返し投与する慢性実験で、④気道過敏性をも引き起こすことを見だし、DEPがマウスで気管支のぜん息様基本病態のすべてを発現することを明らかにした。

また、DEPの発がん性については、マウス1匹当たり0.05mgあるいは0.1mgのDEPの1週間に1回ずつ10週

間にわたる繰り返し投与で肺腫瘍が認められ、特に高脂肪食摂取では悪性腫瘍が普通脂肪食の5倍にも増加し、この増加はβ-カロチン添加群では著しく抑制されることを見出した。これらの結果から、高脂肪食は生体内で過酸化脂質をはじめとする活性酸素を生成することに加えて、β-カロチンがそれら活性酸素を消去する作用を持つことなどから、DEPに由来する活性酸素がDEP発がん重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

今後は、ディーゼル排気暴露実験装置(図1)のすべてが完成したので、気管内投与や鼻腔内投与だけでなく、吸入実験によってこれらの成績の確認と量-反応関係の解析を次の特別研究「ディーゼル排気(DE)による慢性呼吸器疾患発症機序の解明とリスク評価に関する研究」の中で、平成5年度から9年度にかけて行う予定である。

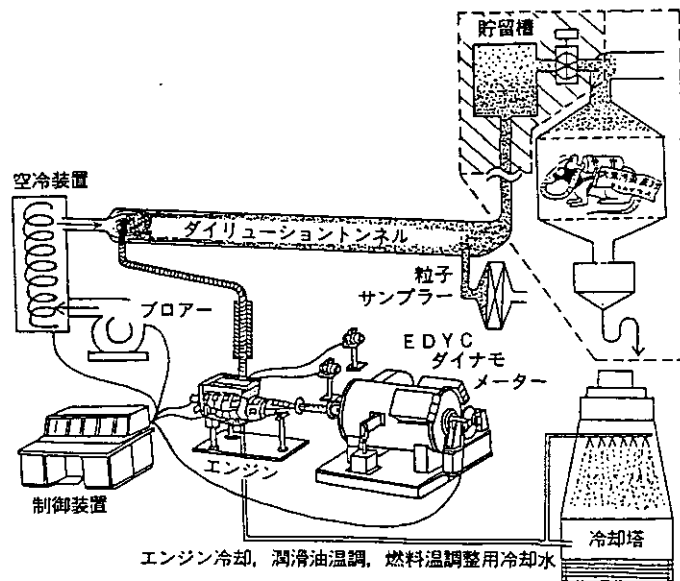


図1 ディーゼル排気暴露実験装置の概略図



## 2 研究の成果

### 2.1 ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるぜん息様病態 発症の証明に関する実験的研究

#### 2.1.1 はじめに

近年、大都市部の大気環境は依然として厳しい状況にあり、この原因のひとつとして自動車の排気ガスの影響が考えられている。例えば、東京都内では窒素酸化物 ( $\text{NO}_x$ ) 総排出量の約7割は自動車に由来するという。また、最近ではディーゼル車が増加し、大気汚染の大きな比重を占めている。特に、ディーゼル車に由来する排気微粒子に注目が集まっており、「東京都環境科学研究所89年度年報」によれば、東京都内の浮遊粒子状物質の3~4割はディーゼル車に由来すると言われている。このようなことから大都市大気汚染源の一つとしてディーゼル車が注目されている。

いくつかの動物実験によりディーゼル排気 (DE) あるいはディーゼル排気微粒子 (DEP) が肺がんを発生させること<sup>4)</sup>やアレルギー性鼻炎を引き起こすこと<sup>5)</sup>が報告されている。一方、気管支ぜん息についてみると、ディーゼル排気を主体とする大気汚染が気管支ぜん息の発症と関係しているという報告<sup>6,7)</sup>があるが、その実験的証明はいまだになされておらず、その因果関係には多くの疑問が残されている。

我々は最近、DEPが酸素の一電子還元体であるスーパーオキシド ( $\text{O}_2^-$ ) を生成し、この  $\text{O}_2^-$  が肺毒性を発現し、ひいてはぜん息様の病態を引き起こしていることを示唆する事実を見いだしたので報告する。

#### 2.1.2 最近の大気環境について

(1) 大気環境の悪化と児童のぜん息発症率の増加傾向  
1991年、環境庁は8つの小学校の児童約5,000人を対象に5年間 (1986~1990年) にわたって健康影響調査を行った結果を報告した<sup>8)</sup>。調査者全体の5年間平均したぜん息様症状有症率と過去9年間の平均  $\text{NO}_2$  濃度との間に有意な相関は認められなかったが、新規発症者についてみると、 $\text{NO}_2$  濃度が高い地域では低い地域と比較してぜん息様症状新規発症率が高い傾向があり、有意な相関が認めれている (図2)。さらに、平成2年度の学校保健統計によると、ぜん息児童の割合は昭和50年代初め頃の約2倍に増加しているという。

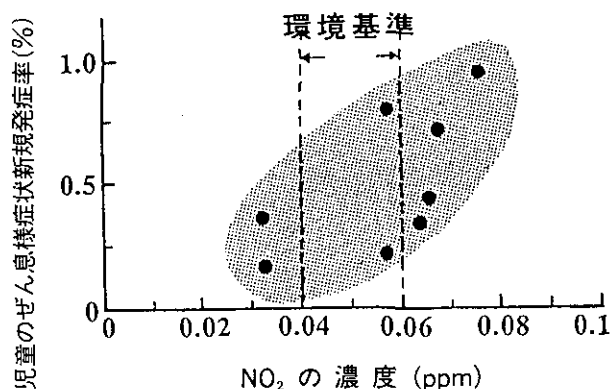


図2 8つの小学校ごとにみた  $\text{NO}_2$  の濃度と子供のぜん息様症状新規発症率 (男女計) との間の相関<sup>8)</sup> (本図は文献<sup>8)</sup>より嵯峨井勝氏が作図)

このように、最近の大気環境が改善されていないことと、もう一方で、ぜん息患者が増加しているという現実があることから、我々はその一部分が自動車排気、特にディーゼル排気による可能性があると考え研究を行った。

#### (2) 大都市大気中の $\text{NO}_2$ と浮遊粒子状物質 (SPM) との相関

大都市部で問題となっている大気汚染物質は主に  $\text{NO}_2$  と浮遊粒子状物質 (SPM) であるが、我々のチームの田村らがこの両汚染物質間の相関を調べた結果を図3に示す。調査は東京都板橋区と世田谷区で行ったもので

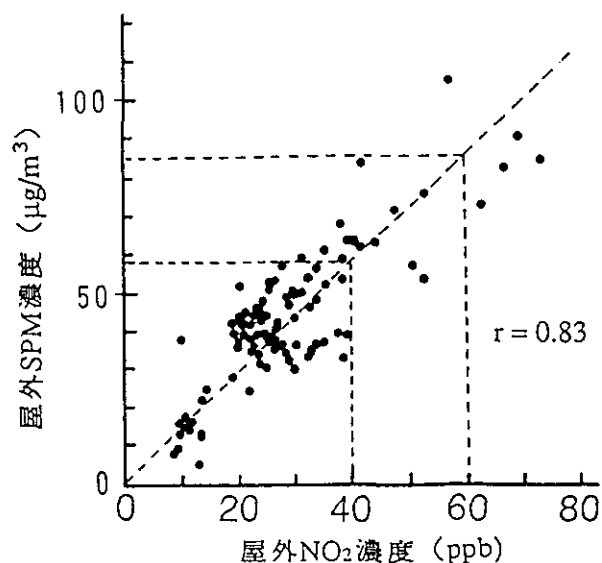


図3 東京都内の各地域における屋外の  $\text{NO}_2$  濃度と SPM 濃度との間の相関

あるが、屋外の浮遊粒子状物質 (SPM, 2  $\mu\text{m}$ 以下のSPM) においてはDEPがその主成分) の濃度と屋外のNO<sub>2</sub>濃度との間には非常に高い有意な相関があることが見いだされた。このことは、NO<sub>2</sub>汚染の激しい所では粒子状物質 (SPM) の汚染も激しいことを示している。

### 2.1.3 大気汚染と気管支ぜん息との間の因果関係について

これまで、気管支ぜん息の発症は、図4の右側に示すように、IgE産生を介するI型アレルギー反応によって説明されてきた。しかし、大気汚染と気管支ぜん息との因果関係については、その発症メカニズムがI型アレルギー反応によるとするならば、ぜん息患者のIgE値は高くなければならぬ。言い換えれば、IgE抗体を沢山作る素因が遺伝的に高い人がぜん息になりやすいのであり、ぜん息と大気汚染とは関係ないとする意見になる。一方、大気汚染地域に住んでいるぜん息患者のIgE値が調べられたが、その値は健常者と比較して決して高くはないことがすでに四日市市<sup>9)</sup>、川崎市<sup>10)</sup>、大阪市<sup>11)</sup>などでの調査が報告されている。これらの知見から、少なくとも大気汚染地域の住民のうちアレルギー体質の人だけがぜん息になったわけではないので、その因果関係と発症メカニズムには不明な点が残されている。そうした中で、その発症機序についてはIgE産生増加の他にも感染、薬物摂取あるいは精神的ストレス等が考えられているが、大気

汚染物質による発症メカニズムについてはまだ分かっていない。

一方、気管支ぜん息は複雑な疾病であるが、その病態を要約すると表1に示す4つが上げられる<sup>12)</sup>。ところでこれまで、NO<sub>2</sub>がぜん息発症の原因物質ではないかと考えられてきた<sup>13,14)</sup>が、NO<sub>2</sub>は4つの基本病態のうち、高濃度で血管透過性を亢進させることと一時的に気道をわずかに過敏にすることが知られているが、その他の病態、特に3番目の炎症性の病態が持続的に起こることを示す報告は全く見当たらない。

表1 気管支喘息の基本病態

1	血管透過性の亢進
2	粘液の過剰分泌
3	気管支粘膜下の炎症 (好酸球の浸潤)
4	気道過敏性の亢進

そこで我々は両者間の因果関係の有無を実験的に証明することを目的に、マウスを用いて以下のようなディーゼル排気微粒子 (DEP) によるぜん息様病態の発現に関する研究を行った。

### 2.1.4 DEPの活性酸素産生を介した肺毒性について<sup>15)</sup>

(1) DEP気管内投与マウスの死亡率とSODの死亡率抑制効果について

DEPの肺に及ぼす毒性を調べるために、DEPを界面活

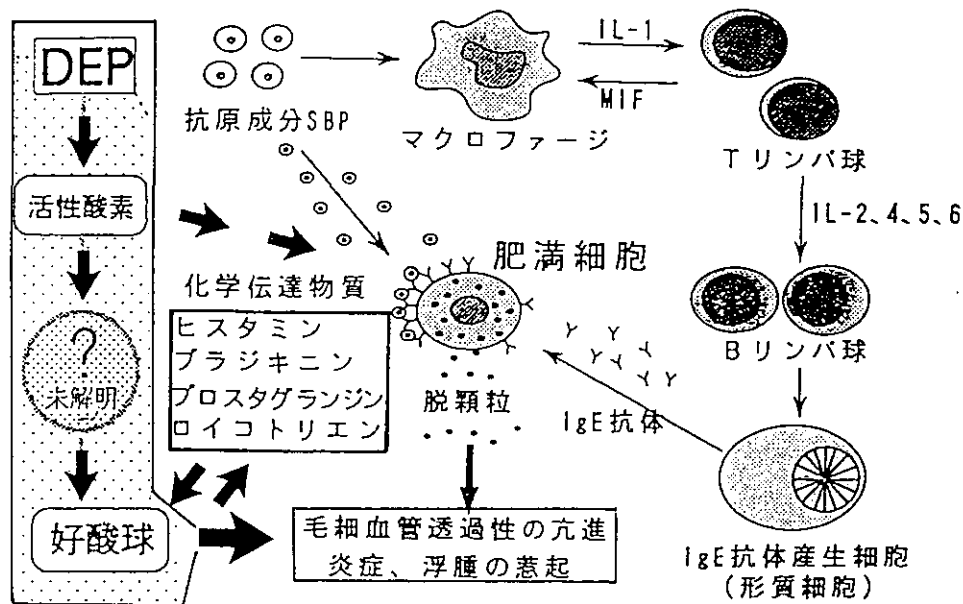


図4 抗原吸入によるI型アレルギー反応 (右側) とディーゼル排気微粒子 (DEP) による非アトピー型アレルギー反応 (左側) の模式図

性剤 (0.05%のTween80) を含むリン酸緩衝液 (pH7.4) に懸濁し、6週令のICR系雄マウス(各群10匹ずつ)に気管内投与し、その24時間以内の死亡率を調べた。その結果は、図5に示すように、LD<sub>50</sub>が0.6mgで、0.9mg投与では100%のマウスが死亡した。なお、このマウスの死因は血管内皮細胞傷害による肺水腫であった。また、このICR系マウスはDEPに対して最も丈夫な強いマウスで、調べた7系統の中で最も弱いマウスはC57/BLであり、0.2mg投与で100%が死亡した。

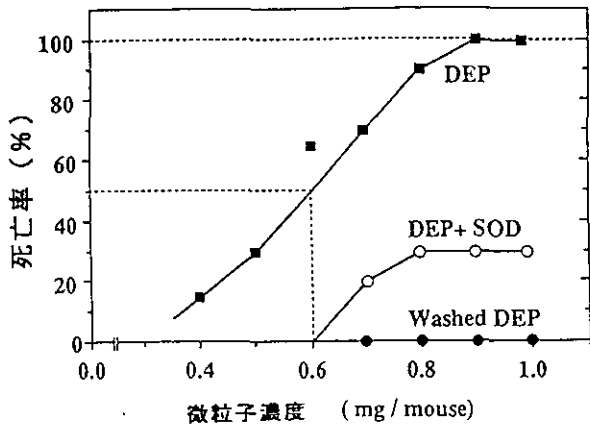


図5 ディーゼル排気微粒子 (DEP) の気管内投与によるICR系雄マウスの死亡率曲線  
DEP, ディーゼル排気微粒子, SOD, スーパーオキシドジスムターゼ (O<sub>2</sub>を消去する酵素, 尻尾の静脈から投与), Washed DEP, DEPをメタノールで洗った残りのスス

一方、DEPを気管内投与する1時間前に、O<sub>2</sub>を代謝する酵素のスーパーオキシドジスムターゼ (ポリエチレングリコール結合型-SOD, PEG-SOD) を尾静脈から投与しておくと、100%のマウスが死亡する量のDEP投与でも、死亡率は30%以下に低下した。この結果はDEP毒性の本体はO<sub>2</sub>あるいはそれから派生したヒドロキシルラジカル (•OH) であることを示唆している。

また、DEPをメタノールで十分洗浄して有機画分を除いた残査のDEPを1.0mg以上投与した場合、DEPを貧食した多数のマクロファージの遊走が認められたがマウスの死亡例は1例も認められなかった。このことより、肺水腫の原因になる血管内皮細胞傷害はマクロファージがDEP貪食時に放出するO<sub>2</sub>によるのではなく、DEP自身が産生するO<sub>2</sub>による可能性が示唆された。

## (2) DEPのスーパーオキシド(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)等活性酸素産生について

DEPがそれ自身で化学反応によってO<sub>2</sub>を産生してい

るかどうかをチトクロームC還元法で確認した。反応系は0.05% Tween80を含む50mMリン酸緩衝液(pH7.4)に各量のDEPを懸濁し、ここに50μMのチトクロームCを添加し、O<sub>2</sub>によるチトクロームC還元を550nmの吸光度の増加で調べた。図6には反応液1ml中0.25mgのDEPによるチトクロームC還元、すなわちO<sub>2</sub>産生のタイムコースを示した。O<sub>2</sub>産生はインキュベーション時間につれて増加し、*in vitro*系での増加は1週間以上も続く。さらに、この反応系にSODを加えるとO<sub>2</sub>の発生は全く認められなくなった。

また、このメタノール抽出画分に、DMSOに溶したスピントラップ剤DMPOを添加したときのESR測定ではO<sub>2</sub>そのもののESRシグナルが得られ、SOD添加でこれらシグナルはすべて消失したことから定性的にもO<sub>2</sub>が産生されていることが確認された。

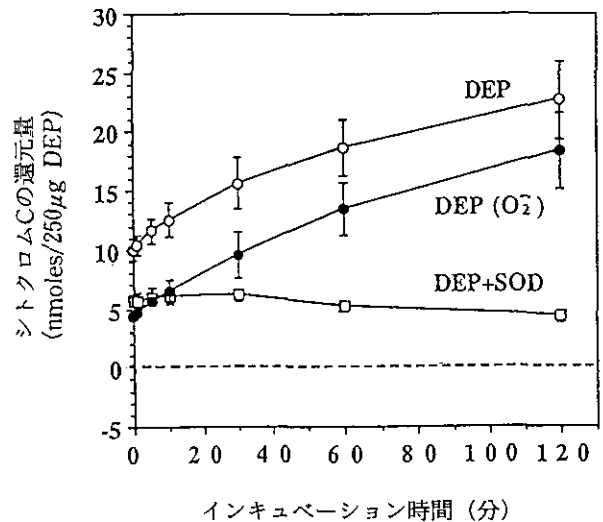


図6 ディーゼル排気微粒子 (DEP) の試験管でのスーパーオキシド (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 生成のタイムコース  
○: DEP (0.25mg) でのO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生, □: DEP (0.25mg) + SOD 投与群のO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生,  
●: ○と□の差, すなわち真のO<sub>2</sub><sup>-</sup>産生量

## (3) DEPからのヒドロキシルラジカル(•OH)産生について

DEPはそれ自身で化学的にO<sub>2</sub>を生成し、これがH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>に変化した後に、DEP中に含まれている鉄、銅等の遷移金属の触媒によるフェントン反応によって•OHを産生する可能性が考えられる。事実、このDEPの中には鉄が126 ppm, 銅が12ppm, クロームが6ppm, マンガンが2ppm, その他の微量元素が含まれていた(西川雅高氏測定)。そのため、前記ESR測定のO<sub>2</sub>生成系から•OHスカベン

ジャー（消去剤）であるジメチルスルフォキシド（DMSO）を除いてESRシグナルを測定したところ、1:2:2:1の明瞭な $\cdot\text{OH}$ のシグナルが得られた。また、 $\cdot\text{OH}$ 産生を $\alpha$ -KMBによるエチレン生成系を用いて測定したところ、インキュベーション時間およびDEP添加量に依存してエチレンが生成し、 $\cdot\text{OH}$ スカベンジャーのDMSOや安息香酸ナトリウム塩の添加によってエチレン生成は阻害された。このことから、DEPからは $\cdot\text{OH}$ も生成していることが定量的にも確認された。これらの結果より、DEPから $\text{O}_2^-$ および $\cdot\text{OH}$ が生成する可能なメカニズムを推測した（図7）。

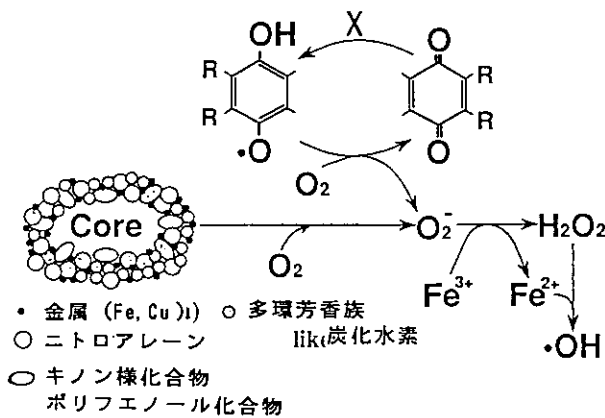


図7 ディーゼル排気微粒子 (DEP) からのスーパーオキシド ( $\text{O}_2^-$ ), ヒドロキシルラジカル ( $\cdot\text{OH}$ ) 等活性酸素の産生機序の推定図

### 2.1.5 DEPの血管内皮細胞傷害による血管透過性の亢進<sup>16)</sup>

血管内皮細胞傷害による血管透過性の亢進は肺水腫の原因となっている可能性もある。また、この血管透過性の亢進は気管支粘膜下の浮腫の原因にもなっている可能性もある。これを確認するために、微小循環傷害の検索試薬としてモナストラルブルー色素 (MoB) を用いて病理学的に血管内皮細胞傷害を調べた。この方法は、30~40 nmの粒径を持つMoBが血管内皮細胞の損傷部位で、内壁から露出して血管基底膜上に沈着するので、その沈着した色素量を光学顕微鏡下で観察するものである。

ICR系マウスに0.8mg DEPを投与後、屠殺する30分前にMoB溶液を尾静脈より150 $\mu\text{l}$ 投与した。屠殺後、マウスの肺を10%ホルマリン液で固定し、ヘマトキシリン-エオジン染色してから顕微鏡下でモナストラルブルー色素の沈着強度 (color magnitude) を調べた。

対照群にはMoB色素の沈着は全く認められなかったが、DEP投与群では肺胞壁毛細血管の基底膜に顕著な色素沈着が認められた。この沈着色素量はDEP投与30分後から増加し、2~4時間後に最高レベルに達した。この色素沈着の増加に伴い肺の水分含量および肺湿重量当たりの水分含量比も増加した。また、DEP投与1時間前あるいは24時間前にPEG-SODを気管から肺に投与しておいたマウスではPEG-SODを投与していないマウスに比べて肺胞壁毛細血管への色素沈着量は低く、肺水分含量も明らかに低い値を示した（図8）。なお、この肺水腫による死亡はおおむね24時間以内に観察され、2日目以降に死亡する例はまれであった。

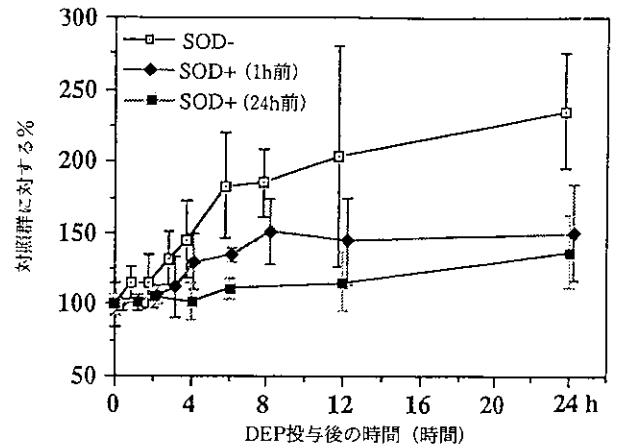


図8 ディーゼル排気微粒子 (DEP, 0.8mg) 気管内投与の1時間前と24時間前にPEG-SODを前投与しておいたマウスの肺水分含量の経時変化  
 PEG-SODを24時間前に投与しておいた場合の方が肺水腫が効果的に防止されている。

### 2.1.6 DEPの気管内への繰り返し投与によるぜん息様病態の発症<sup>17)</sup>

(1) DEP気管内投与による粘液の過剰分泌について

DEPを繰り返し気管内に投与するとマウスの気道は極めて過敏になり、粘液を多量に分泌するようになることを認めた。実験はICR系雄マウスに0.2mgのDEPを毎週1回ずつ、連続16週間投与した。また、DEPを投与する24時間前にPEG-SODを前投与した。各群の5, 8, 11, 16週目に肺の病理標本を作製し、さらに肺胞洗浄液中の粘液の指標として結合型シアル酸濃度を調べた（図9）。

図から分かるように、5週目ではDEP投与群の結合型シアル酸は対照群より3.5倍に増加しており、PEG-SOD投与群では粘液の合成・分泌は抑制されていた。このこ

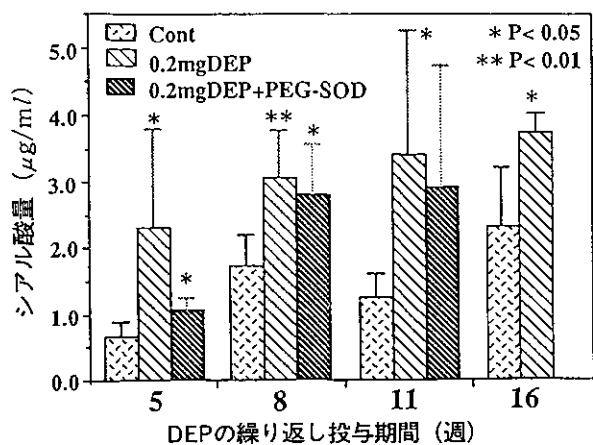


図9 ディーゼル排気微粒子 (DEP, 0.2mg) の繰り返し気管内投与による肺内粘液の増加とPEG-SOD前投与による抑制効果

とは、気道の粘液の合成・分泌は $O_2$ によって促進されていることを示唆し、Alderらが *in vitro* で示した結果を *in vivo* でも支持する結果となった。8~11週目では0.2 mgのDEP投与群の粘液合成・分泌はさらに促進されていた。しかし、PEG-SOD同時投与群では抑制効果は認められなかった。また、DEPの繰り返し投与マウスの気管支のPAS染色病理像では大~中等大気管支上皮の線毛細胞が減少し、PAS染色で赤く染まる粘液を多量に含んだ粘液分泌細胞の著しい増成が認められた(図10)。このことは電子顕微鏡でも確認した。また、11~16回投与では杯細胞が気道を閉塞してしまうこともあることが認められた(図10-d)。

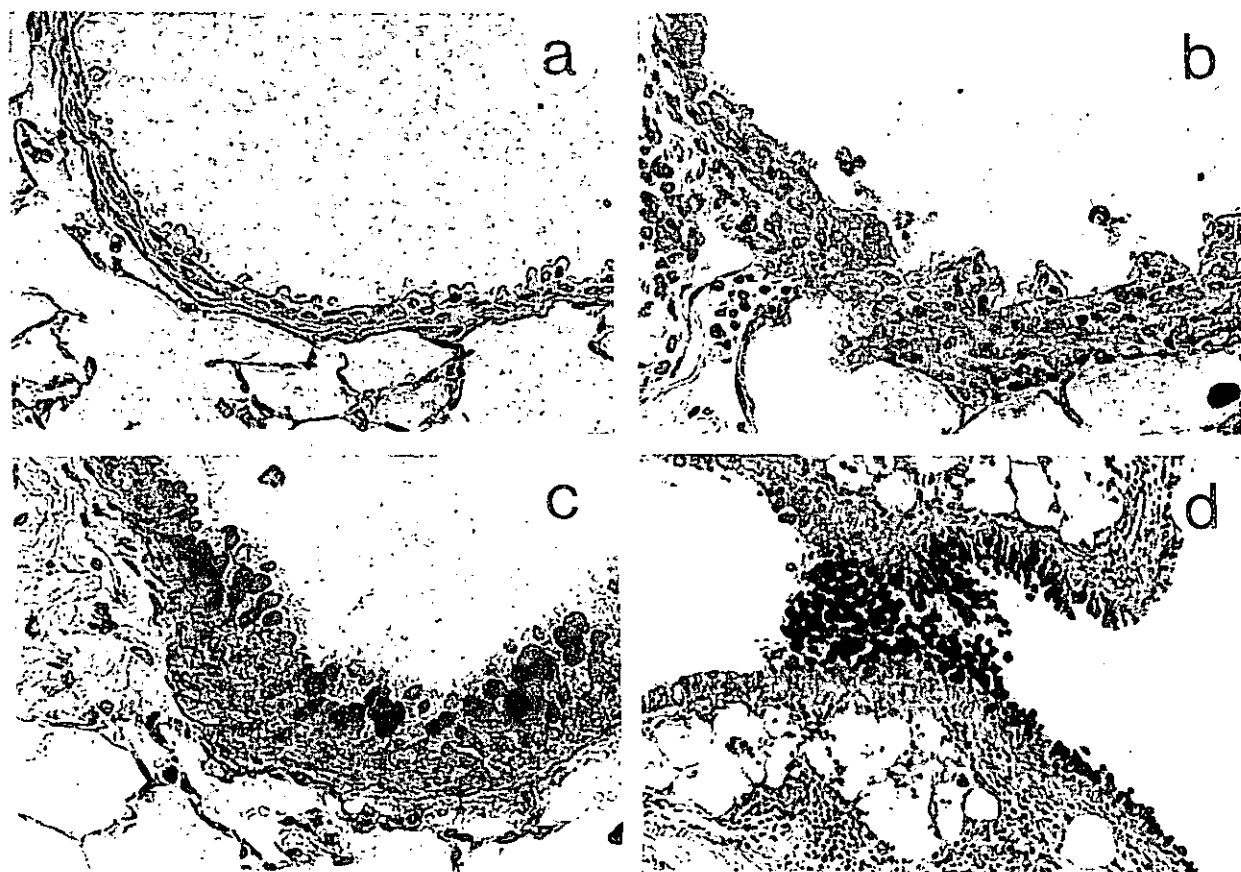


図10 ディーゼル排気微粒子 (DEP, 0.2mg) の繰り返し投与による気管支上皮細胞および気管支粘膜下組織の変化  
 a: 対照マウスの気管支周辺(×100), b: 0.2mgDEPを8回投与したマウスの気管支周辺(×100); 気管支上皮の肥厚と好中球の浸潤が認められる。c: 0.2mgDEPを11回投与したマウスの気管支周辺(×100); 気管支上皮はほとんど杯細胞に置きかわり、しかも何層にも肥厚し細胞の脱落もみられる。d: 0.2mgDEPを16回投与したマウスの気管支周辺(×50); 杯細胞の増殖で気道の閉塞が見られ、肺胞壁は肥厚化している。気管支粘膜下組織には炎症細胞やリンパ球の浸潤が見られる。

(2) 気管支粘膜下組織における好酸球等炎症性細胞の浸潤

0.1mgあるいは0.2mgのDEPを繰り返し気管内に投与すると、気道の粘膜下組織に炎症性細胞の好中球、好酸球、リンパ球あるいは単球などが浸潤しているのが認められた。これは気管支ぜん息の重要な病態の一つであり、特に、好酸球の浸潤は重要である。この病理標本の気管支粘膜下組織の炎症細胞をディフクイック染色液で染め分け、好酸球と好中球数をかぞえ、その結果を図11に示した。DEP投与初期には、まず好中球が増え、8回投与の頃にピークとなり、その後好中球は減り、逆に好酸球数が増加してきて、典型的な慢性的炎症が認められた。また、DEP投与前にPEG-SOD前処理したマウスでは、リンパ球の著しい浸潤が認められたが、好酸球の浸潤は完全に抑制されていた。また、好中球の浸潤には全く変化がなかった。

さらに、これら炎症性細胞は、光学顕微鏡観察だけでなく、電子顕微鏡でも確認し、確かに好中球、好酸球、リンパ球等が多数認められ、単球、線維芽細胞等も認められた(図12, 古山昭子氏撮影)。また、肥満細胞も認められたが極めてまれであった。

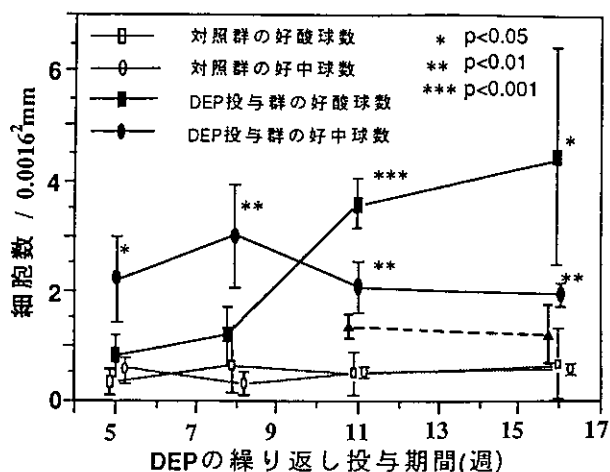


図11 ディーゼル排気微粒子 (DEP) を毎週一回ずつの繰り返し投与による気管支粘膜下組織の好中球数と好酸球数の経時変化  
ぜん息の定義として最も重要な好酸球の浸潤が11週目頃より増加し、その増加は持続しており、慢性症状の発現を示している。なお▲……▲はPEG-SODをDEP投与前日に毎週前投与したマウスの好酸球数の変化を示している。

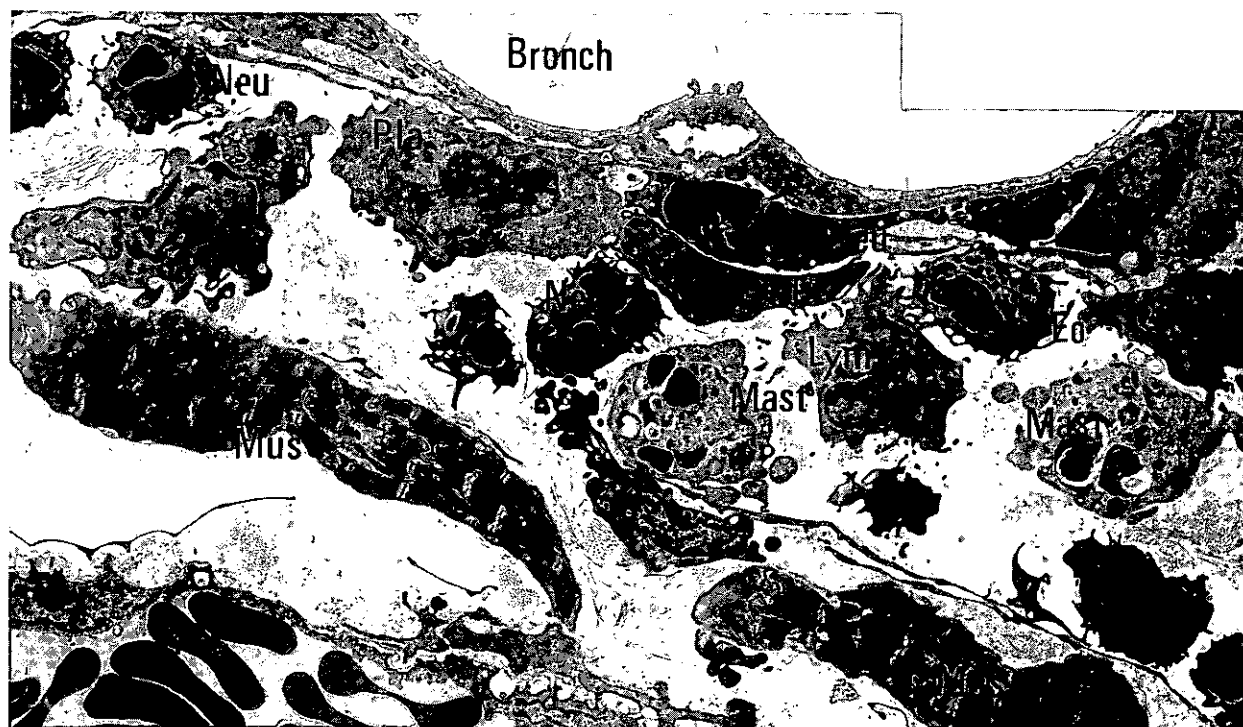


図12 ディーゼル排気微粒子 (DEP) を毎週1回ずつ11回投与したマウスの気管支から肺胞領域にかけての炎症細胞の浸潤を示す電子顕微鏡写真 (×5000)  
Neu: 好中球, Eo: 好酸球, Lym: リンパ球, F: 線維芽細胞, Mast: 肥満細胞, Mus: 筋肉, RBC: 血管内の赤血球, Pla: プラズマ細胞

### (3) 気道過敏性の亢進

DEPをマウスに気管内投与すると、①血管透過性の亢進、②粘液質の過剰分泌、③気管支粘膜下組織の炎症(炎症性細胞の浸潤)が起こった。しかし、ぜん息というときには、これらに加えて、④気道の過敏性も認められなければならない。これについては、最近、帝京大学医学部大田健助教授との共同研究により気道がきわめて過敏になっていることが証明された。実験は、我々が上記のように0.1mgあるいは0.2mgのDEPを1週間に1回ずつ、16週間にわたって気管内投与したマウスを使って、麻酔下でアセチルコリンを気道収縮刺激薬として用い、その濃度を段階的に上げてゆき、どの濃度で気道抵抗が増加するかを調べた。その結果、対照マウスでは約2000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ のアセチルコリンで気道抵抗が1.5倍に増加したのに対して、0.1mgDEPを投与されたマウスの気道抵抗が1.5倍になるのは約200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり0.2mgDEP投与では約20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。0.2mgでは100倍の差となり、十分に気道が過敏になっていることを示している。ちなみに、健常人ではアセチルコリンが20,000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で気道抵抗が亢進するのに対して、ぜん息患者では600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で亢進すると言われ、約30倍の差がある。しかし、かなり悪い状態のぜん息患者では100倍から200倍も違う例もあり、この値はぜん息の状態によって大きく変動する。また、PEG-SOD前処理後DEPを投与したマウスの気道抵抗性は対照マウスのそれよりも約2倍高いアセチルコリンでようやく起こり、予想した以上にPEG-SOD前処理が気道過敏性の抑制に効果的であった。

この気道過敏性のメカニズムについて考えると、図13に示したように、上に③として述べた好酸球がmajor basic protein (MBP), eosinophil cationic protein (ECP)やeosinophil peroxidase (EPO)等の細胞毒性の強いタンパク質を放出し、本来は外から侵入してきた細菌、ウイルスあるいは体内の寄生虫等に対する生体防御システムが、自分自身の気管支上皮細胞を傷害し、この上皮細胞の底面に分布している知覚神経を露出させ、これによって気道が過敏に反応するようになったものと考えられている<sup>12)</sup>。

#### 2.1.7 気管支ぜん息の定義の変化

最近、ぜん息とは「気道過敏症の亢進であり、可逆的な気道狭窄である」としてきたこれまでの定義から変わってきている。たとえば、1992年6月にNIH(米国立

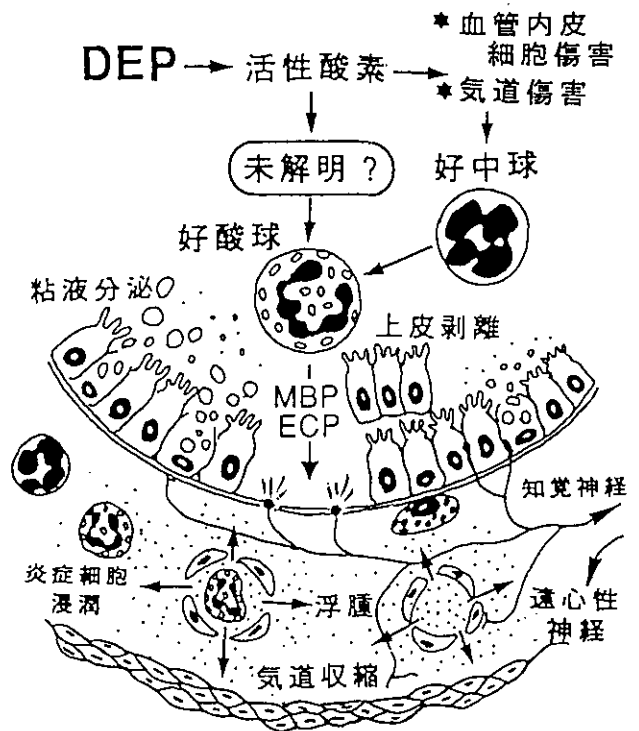


図13 ディーゼル排気微粒子 (DEP) による好酸球の浸潤と気道過敏性の亢進を示唆するメカニズム

衛生研究所)でまとめた「ぜん息の診断と管理のための国際委員会報告」<sup>13)</sup>の定義の項によると、「気道閉塞、可逆性、気管支過敏性という観点からのこれまでのぜん息の定義では、ぜん息の秩序がよく理解できないために不十分なものとなっている」とした上で、「ぜん息はマスト細胞や好酸球など多くの細胞が関係する気道の慢性的炎症傷害である。ぜん息になりやすい人では、この炎症により症状が生じる。この炎症は、たいていの場合、自然にあるいは治療によって回復する可逆的な、広範にわたるが、通常変動する気道閉塞性傷害を伴い、またさまざまな刺激に対する気道過敏性の増大をも同時にもたらす」としている。

#### 2.1.8 まとめ

以上、マウスを用いて「ぜん息様病態の発症」というために必要な4つの基本病態、①血管透過性の亢進、②粘液の過剰分泌、③好酸球の慢性的浸潤を伴う炎症の発現、④気道の過敏性を証明することができた。このことから、DEPはヒトにおいてもぜん息を引き起こす可能性がある物質と考えられる。さらに、これまで気管支ぜん息はI型アレルギー(アトピー性)反応による疾患と考えられてきたが、今回の研究では、図4の左側に示したように、I型アレルギー反応とは明らかに異なり、抗原

抗体反応を介さない非アトピー性の機序でぜん息様の病態が発現することを見いだした。さらに、今回の実験におけるぜん息様病態の発現には活性酸素が極めて重要な役割を果たしていることも判明した。

なお、本研究は最終的には今回のような気管内投与という人工的な投与方法による実験ではなく、①ディーゼル排気 (DE) そのものを吸わせる、いわゆる吸入実験で上記の4つの基本病態が起こることを証明する必要がある。それが証明できたら、②どの程度のディーゼル排気濃度で気管支ぜん息が起こるのかという量-反応関係を明らかにする必要がある。さらに、それらの動物実験で得られた結果と、ヒトの個人曝露量の解析に関する疫学的調査結果と合わせて、③ヒトの健康に及ぼす危険率 (リスク) を評価する方法論の確立等、今後明らかにすべきことは沢山残されている。これらについては、平成5年度から9年度にかけて行われる特別研究「ディーゼル排気による慢性呼吸器疾患発症機序の解明とリスク評価に関する研究」で継続する予定である。

## 2.2 アレルギー反応に関する研究

慢性閉塞性呼吸器疾患の発症から増悪に至る過程に影響を与える可能性のある因子としては、気道の過敏性、アレルギー反応の亢進などがある。このアレルギー反応の亢進に及ぼす大気汚染物質の影響を解析するため、粒子状物質とNO<sub>2</sub>等の単一または複合曝露の影響について検討した。

アレルギー反応は、ダニやカビ等のハウスダストあるいは花粉等の抗原に対して体の中でできた抗体が、再び侵入してきた抗原と肥満細胞上で反応するとき起きる免疫反応の一つである (図4参照)。この反応が気管支ぜん息やアレルギー性鼻炎の重要な機序とされている。ここではじめに、硫酸エアロゾルがアレルギー反応において重要な役割を果たしているIgE抗体産生にどのような影響を及ぼすかを検討した。

### 2.2.1 硫酸エアロゾルのIgE抗体産生に及ぼす影響

BALB/c 雄マウスに硫酸エアロゾル1.0mg/m<sup>3</sup>、3.2mg/m<sup>3</sup>あるいは清浄空気を3, 7, 14日間連続曝露し、PCA反応でIgE抗体価を、ELISA法でIgG抗体価を測定した。まず、硫酸エアロゾル曝露前に抗原 (卵白アルブミン) を腹腔内投与しておき、硫酸エアロゾル曝露直後に再度抗原をエアロゾルとして経気道投与してIgE抗体産生能

を調べた。この場合、いずれの曝露群においても対照群との間に差異は認められなかった。ところが、IgG抗体産生能は3.2mg/m<sup>3</sup>の硫酸エアロゾル群で有意に低下していた。次に、硫酸エアロゾル曝露直後に抗原をエアロゾルとして吸入させ、1週間後に抗原をアジュバントとともに腹腔内投与するヘルパーT細胞誘導系を用いてIgE抗体産生への影響を調べたところ、やはり硫酸エアロゾルのIgE抗体産生増強効果は認められなかった。一方、IgG抗体産生能は、14日間曝露の場合のみ低下していた<sup>19)</sup>。

### 2.2.2 硫酸エアロゾルとNO<sub>2</sub>との複合曝露のIgE抗体産生に及ぼす影響

次に、硫酸エアロゾルとNO<sub>2</sub>の複合曝露について検討した。IgE抗体産生の誘導には、曝露後抗原のエアロゾルを吸入させ、1週間後に抗原とアラム (Al(OH)<sub>3</sub>アジュバント) を腹腔内投与する実験系と、曝露前に抗原を腹腔内投与し、曝露後に抗原をエアロゾル投与する実験系を用いた。3.2mg/m<sup>3</sup>の硫酸エアロゾルと4ppmのNO<sub>2</sub>の2週間、4週間曝露を行った。

硫酸エアロゾル、あるいは、NO<sub>2</sub>単独曝露の場合の結果と同様に、複合曝露においてもIgE抗体価に対照群と比べて有意な差異は認められなかった。抗原刺激の方法をかえてもIgE抗体価に違いはみられなかった。また、モルモットに硫酸エアロゾルを2週間曝露し、抗原 (卵白アルブミン) のエアロゾル感作により特異的IgE、IgM抗体産生を誘導したが、有意な変化は認められなかった。

これらの結果より、硫酸エアロゾル曝露により抗体産生能は変化しないか、むしろ低下傾向が示された。

### 2.2.3 硫酸エアロゾルとNO<sub>2</sub>による肥満細胞からのヒスタミン遊離

アレルギー反応の発現には、IgE抗体産生とともに肥満細胞が重要な役割を果たしている。異なる濃度の硫酸エアロゾルを曝露したモルモットの肺から肥満細胞を分離し、抗原刺激、カルシウムイオノフォア刺激により誘導されるヒスタミン遊離の変動を調べ、以下の結果を得た。0.3mg/m<sup>3</sup>の硫酸エアロゾルの2週間曝露では、両刺激により肥満細胞からのヒスタミン遊離の増加傾向が認められたが、対照群との間に有意差は認められなかった。1.0mg/m<sup>3</sup>の4週間曝露の間では、抗原刺激に対しては2週間目に、イオノフォア刺激に対しては1, 2週間目に



それぞれ有意な増加が認められた(図14)が、4週間暴露では対照群との間に差がなくなっていた。3.2mg/m<sup>3</sup>の4週間暴露実験においては、抗原刺激に対して2週間目に有意なヒスタミンの遊離増加がみられたが、4週間暴露ではやはり変化は認められなくなっていた。一方、イオノフォア刺激の場合には、1、2週間目では変化がなく、4週間暴露ではむしろ抑制がみられた<sup>20)</sup>。

4ppmNO<sub>2</sub>と1.0mg/m<sup>3</sup>の硫酸エアロゾルの2週間複合暴露実験を行い、肥満細胞への影響を調べたところ、4ppmNO<sub>2</sub>単独暴露では抗原刺激に対してヒスタミン遊離はみられなかったが、イオノフォア刺激に対しては2週間暴露で有意なヒスタミン遊離の増加がみられた。複合暴露では、抗原刺激、イオノフォア刺激の場合ともに有意な変動はみられなかった。

これらの結果より、硫酸エアロゾル暴露はIgE抗体産生系よりは肥満細胞機能に影響を与えている可能性が示唆されたと考えられる。

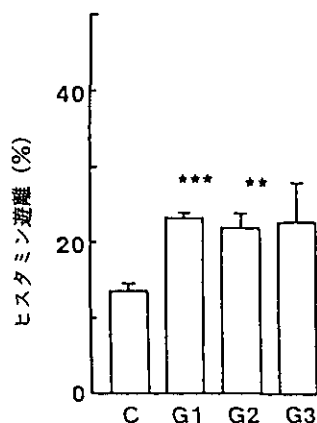


図14 モルモット肺の肥満細胞からの抗原刺激により誘導されたヒスタミン遊離

C:対照群, G1:1.0mg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>, G2:3.2mg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/m<sup>3</sup>, G3:4ppm NO<sub>2</sub>

#### 2.2.4 フライアッシュあるいはディーゼル排気微粒子(DEP)のアレルギー反応に及ぼす影響

これまでに、フライアッシュを抗原と同時に、あるいは別々の経路でマウスに投与すると、抗原特異的なIgE

\*1 オブアルブミン(卵白アルブミン)の略。IgE抗体産生等免疫応答を高める時の抗原として、動物実験の時によく用いられるアルブミン。

\*2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (酵素結合免疫吸着剤検定法, 酵素標識抗体法)の略。

特別な抗原に対する特異性と酵素触媒反応を用いることにより、様々なタンパク質や化学物質を鋭敏に定量する方法。

\*3 卵白アルブミンを抗原として用いた時に生じる免疫グロブリンG(IgG)抗体のこと。

抗体産生の亢進がみられることを報告してきた。しかしながら、フライアッシュ、火山灰、DEP等の粒子状物質によるIgE抗体産生機構あるいはアジュバント効果等についてはまだ不明な点が数多く残されている。

そこで、これら粒子状物質のアジュバント効果を比較するために、火山灰と抗原OAとの腹腔内同時投与によるIgE抗体産生の誘導、ならびにDEPと抗原OA<sup>\*1</sup>の気管内投与による抗原特異的IgE抗体産生の誘導について検討した。その結果、

(1) 火山灰と抗原OAとの腹腔内投与によるIgE抗体産生の誘導については、種々の濃度の火山灰を10μgOAと共にマウスの腹腔内に投与して血清中のIgE抗体価を調べたところ、2mgの火山灰投与群では14~28日目までにIgE抗体産生の亢進がみられたが、0.2mgの火山灰投与群では認められなかった。また、ELISA法<sup>\*2</sup>で測定した抗-OA-IgG抗体<sup>\*3</sup>産生もIgE抗体の産生と同様の亢進がみられた。

(2) DEPと抗原(1μgのOA)の気管内投与による抗原特異的IgE抗体産生の誘導については、種々の濃度のDEPを抗原とともに気管内に1回投与し、0.3mgDEP投与群で14日、21日目に低いIgE抗体産生がみられた。DEP投与21日目にOAエアロゾルを吸入させると、1~2週間後の28日と35日目にDEP濃度に依存したIgE抗体産生の亢進がみられた(図15)。この実験動物に予めPEG-SODを前投与しておいてもIgE産生量に変化は認められず、IgE産生には活性酸素等は関与していないことが示唆された。一方、上記実験の35日目の抗OA-IgG抗体価をELISA法で調べたところ、IgE抗体価と同様にDEPの濃度に依存してIgG抗体の増加が見られた(表2)。

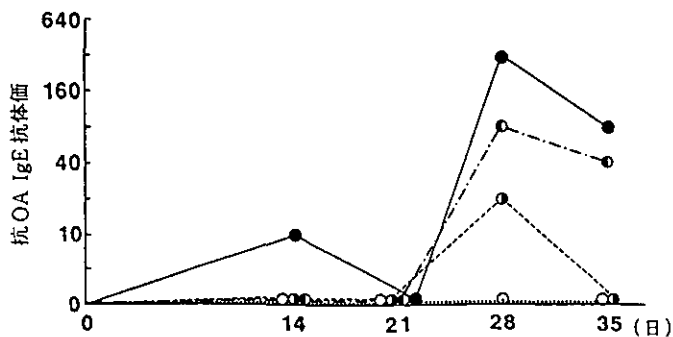


図15 ディーゼル排気微粒子(DEP)と卵白アルブミン(OA)混合液の肺への1回投与によるIgE抗体の産生

○:1μg OA, ○●:1μg OA+0.03mg DEP, ○●●:1μg OA+0.1mg DEP, ●:1μg OA+0.3mg DEP

表2 抗卵白アルブミンIgG産生に及ぼすディーゼル排気微粒子(DEP)の影響

実験群	免疫方法 (気管内投与)	抗OA-IgG値
1	10 $\mu$ gOA	106 $\pm$ 43
2	10 $\mu$ gOA+0.03mgDEP	371 $\pm$ 77*
3	10 $\mu$ gOA+0.1mgDEP	510 $\pm$ 30***
4	10 $\mu$ gOA+0.3mgDEP	576 $\pm$ 76***
5	SOD+10 $\mu$ gOA	411 $\pm$ 62
6	SOD+10 $\mu$ gOA+0.03mgDEP	545 $\pm$ 40
7	SOD+10 $\mu$ gOA+0.1mgDEP	550 $\pm$ 30
8	SOD+10 $\mu$ gOA+0.3mgDEP	528 $\pm$ 54

\*P<0.05, \*\*\*P<0.001

### 2.2.5 ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるアジュバント効果発現のメカニズム

アレルギー反応は、ハウスダストやスギ花粉のようなアレルゲン(抗原)を吸入し、その抗原刺激により、IgE抗体産生系が活性化することにより起こり(図4参照)、この反応がアレルギー性鼻炎や気管支ぜん息の重要な機序とされている。アレルギー反応におけるIgE抗体産生過程には細胞活性物質である様々なサイトカインが関与しているが、中でもインターロイキン4(IL-4)はIgE抗体産生の亢進に、インターフェロン $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )はその抑制に重要な役割を果たしていることが知られている。

そこで、DEPによるIgE抗体産生増強作用の機構を解明するために、DEPと抗原とを投与したマウスにおけるサイトカイン産生を検討した。DEPを卵白アルブミン(OA)抗原と共にBALB/cマウスに3週間間隔で3回気管内投与して、縦隔リンパ節細胞のin vitroでの増殖反応を調べた。その結果、抗原単独群と比較して、DEP+OA投与群で明らかな増殖反応の増強がみられ、同時に培養上清中のIL-4活性においても顕著な上昇が認められた(図16)。

### 2.2.6 まとめ

粒子状物質のアレルギー反応に対する影響について、IgE抗体産生と肥満細胞活性化の面から研究した。大気汚染物質とIgE抗体産生との間の因果関係についてみると、疫学研究や臨床報告では総IgE抗体価では関連がみられない。しかしながら、鼻アレルギー等の場合には抗原特異的IgE抗体価は大気汚染の少ない地域の居住者に比べ汚染地域の居住者の方が高いことが報告されている<sup>21)</sup>。今回のDEPとOAとの併用投与による抗原特異的IgE抗体産生の増強を示した結果は、DEPとアレルギー

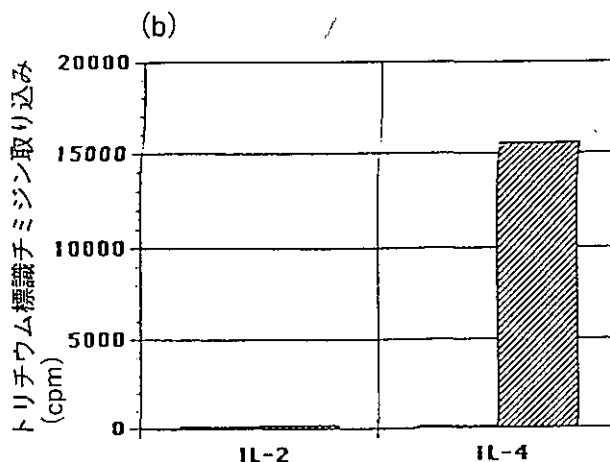
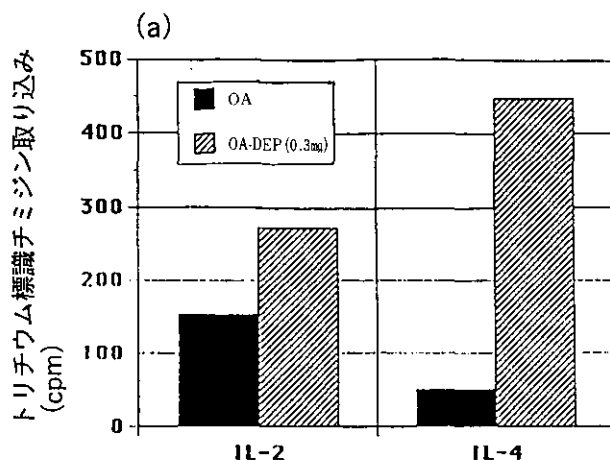


図16 DEPによるリンパ節細胞の一次応答におけるIL-2, IL-4産生(a)と二次応答におけるIL-2, IL-4産生(b)

反応との間の関連性を示唆する結果と考えられる。DEP投与マウスにおけるIL-4産生の増強は、DEPによるIgE抗体産生増強機構の一部を示していると考えているが、マクロファージ等の抗原提示細胞や気道上皮細胞でのサイトカイン産生についても検索が必要と考えている。

また、硫酸エアロゾルは抗原感作増強により肥満細胞からの化学伝達物質の遊離を促進する働きのあることが示唆されたので、他の物質についても肥満細胞や好塩基球などからのメディエーター遊離に関する検索が必要であろう。

## 2.3 気道過敏性に関する研究

### 2.3.1 気道過敏性に関する研究の現状

気道過敏性とは、刺激物質、冷気など種々の刺激に対して気道が容易に反応して、気管支の収縮が起き、呼吸が困難になる現象であり、この気道過敏性はぜん息の典型的症状の一つである。

このようなことから、ぜん息の発症に及ぼす大気汚染物質の影響を検討するうえで、大気汚染物質の暴露により気道が過敏になるかどうかを検討することは重要な課題である。大気汚染物質の暴露が気道を過敏にするかどうかの研究はオゾンについて比較的多く研究されている。オゾンの高濃度短時間暴露の場合では気道が過敏に反応するようになることが知られているが、それは一過性の変化で、慢性症状である気管支ぜん息の証明にはなっていないといわざるをえない。

一方、これまで、大気汚染物質の一つである硫酸エアロゾル暴露による気道過敏性を検討した例は少なく、しかも、行われた実験は短期間暴露に限られている<sup>22)</sup>ため、ぜん息発症に及ぼす硫酸エアロゾルの影響を評価することは難かしいのが現状である。そこで今回、比較的低濃度の硫酸エアロゾルの長期暴露で慢性的な気道の過敏性が引き起こされるかどうかを調べた。

### 2.3.2 硫酸エアロゾル暴露による気道の過敏性

モルモット（1群 15 匹）に  $3.2\text{mg}/\text{m}^3$  の硫酸エアロゾルまたは清浄空気を 3, 7, 14, 30 日間暴露し、同じ動物へのエアロゾル暴露の前と後の気道反応性を比較した。気道反応性は気管支の収縮作用を持つヒスタミン-エアロゾルをモルモットに吸入させ、気道の収縮の起きやすさを比較した。ヒスタミンに対する濃度-反応曲線を測定し、気道抵抗を基準レベル（生理食塩水エアロゾル時）の 2 倍にするヒスタミン濃度 ( $\text{EC}_{200}$ ) を指標とした。なお、この  $\text{EC}_{200}$  の値は小さいほど気道の反応性が高い、すなわち気道が過敏になっていることを示す。

図17に示すように  $3.2\text{mg}/\text{m}^3$  の硫酸エアロゾルの 3 日間暴露によりモルモットの気道反応性は低下したが、14 日間暴露後では上昇し、気道が過敏になることが明らかになった。しかし、さらに暴露を続けて、30 日目では、この気道反応性は暴露前と差がなくなっていた。 $1\text{mg}/\text{m}^3$  の硫酸エアロゾルおよび清浄空気暴露群ではいずれの時期においても暴露の前と後の気道反応性に有意な変化は観察されなかった。また、気道抵抗 (SRawo)

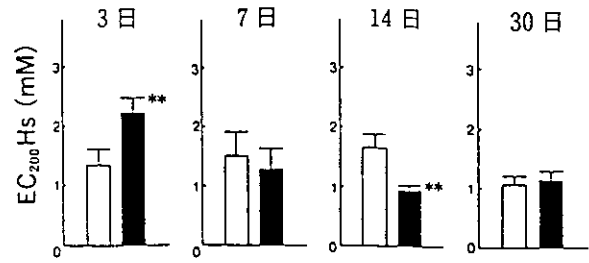


図17 気道反応性に及ぼす硫酸エアロゾル ( $3.2\text{mg}/\text{m}^3$ ) の影響

□：硫酸エアロゾル暴露前の値、■：硫酸エアロゾル暴露後の値。なお、 $\text{EC}_{200}\text{H}_s$  は気道抵抗が生理食塩水エアロゾル吸入後の 2 倍になるのに要するヒスタミンの濃度を示す。

はいずれの濃度においても硫酸エアロゾル暴露の前と後において有為な差は認められなかった。

これまでのモルモットを使った実験では、重量濃度が  $20\text{mg}/\text{m}^3$  以上の硫酸エアロゾルの 1 時間暴露で気道が過敏になるとの報告がある。今回の結果は、これよりもかなり低い濃度でも、長い期間 (14 日間) の暴露により気道が過敏になることを示した。しかし、さらに長期間 (30 日) の暴露により、いったん過敏になった気道が元に戻ることを示している。このように、硫酸エアロゾル暴露により誘起された気道過敏性は持続的なものでなく、一過性で、このような一過性の気道過敏性は  $\text{O}_3$  や  $\text{NO}_2$  暴露の場合にも見いだされている。形態学的には  $3.2\text{mg}/\text{m}^3$  の硫酸エアロゾル暴露で杯細胞からの粘液分泌が盛んになっていることが認められたことより、一過性の変化になる原因として、粘液によりヒスタミンの気管支平滑筋への到達が妨げられるために起こった可能性がある。

今後、硫酸エアロゾル暴露により、一過性の変化ではなく、持続的な気道過敏性が起こる条件の検討と気道が過敏になった後の粘液分泌、好酸球の浸潤を伴う炎症性変化の有無など気道過敏性以外の現象の発現の可能性の検討等が必要となる。

### 2.3.3 硫酸エアロゾル暴露後の抗原感作のアレルギー反応に及ぼす影響

アレルギー症状は、アレルギー反応の原因となる抗体価の増加と侵入してくる抗原量および気道の反応性により決まると考えられる。そこで、一定量の抗原と硫酸エアロゾルを同時に吸入させ、アレルギー症状を検討することにより、硫酸エアロゾルによる抗体産生、抗原の侵入の度合い、および気道反応性といった影響を総体として捕らえることが可能になる。そこで、0.32, 1.0 および

3.2mg/m<sup>3</sup>の硫酸エアロゾルをモルモットに4週間暴露した。抗原として卵白アルブミンをエアロゾルとして、硫酸エアロゾルの暴露前、暴露2週間目および4週間目に卵白アルブミンをエアロゾルとして吸入させた場合の即時型アレルギー反応を気道の収縮を指標として調べた。0.32mg/m<sup>3</sup>および1mg/m<sup>3</sup>の硫酸エアロゾル暴露の場合、即時型アレルギー反応は濃度に依存して増強された。しかし、3.2mg/m<sup>3</sup>群では気道の収縮反応は低下した。また、硫酸エアロゾル暴露後のモルモットの血清中の卵白アルブミン特異的IgGおよびIgE抗体価をモルモットの皮内反応を用いて測定したところ、硫酸エアロゾル暴露群においてIgG抗体価が4週間後で上昇していることが見いだされた。IgE値はいずれの条件下でも増加しなかった。これらの結果は抗原と硫酸エアロゾルの併用によりモルモットではアレルギー症状が悪化することを示唆している。

#### 2.3.4 ディーゼル排気微粒子 (DEP) の鼻粘膜の過敏性に及ぼす影響

近年、スギ花粉症の増加が大きな社会問題となっている。現在、スギ花粉症の感作率が15~30%、有症率が5~10%に達すると推定されている。スギ花粉症が増加した原因は、①昭和50年代ころからスギ花粉が大量に飛散するようになったこと、②スギ花粉症の初発症者数がスギ花粉飛散数が多い年ほど多く、少ない年は少ないといったように連動していること等から、飛散スギ花粉数が増加したことが第一の原因として挙げられている。一方、石山ら<sup>23)</sup>が、日光地区で行った花粉症の調査により、飛散花粉数がほぼ同じであるのに、交通量の多い地区の方が交通量の少ない地区よりも花粉症の発症頻度が高い傾向にあることを見いだした。これらの調査結果から花粉症の発症率の増加に大気汚染が関与している可能性が示唆されてきた。

そこで、大気汚染物質により花粉症が起こる主な要因として、1)アレルギー反応のもととなるスギ花粉に対する特異的IgE抗体価が大気汚染物質によって上昇すること、2)鼻粘膜が大気汚染物質によって過敏になり抗原抗体反応により放出されるヒスタミンなどのメディエーターによる花粉症症状(くしゃみ、鼻水、鼻づまり)が出やすくなることが挙げられる。これらの現象が大気汚染物質によって起こるかどうかは現段階での研究課題となっている。このうち、1)に関しては、DEPが抗原に対

する抗体産生能を増加させる作用を持ち、スギ花粉に対する特異的IgE抗体価を上昇させるアジュバント効果のあることが村中らのグループにより報告されている<sup>5,24)</sup>。一方、2)に関してはこれまでほとんど検討がなされていなかった。そこで、このことを明らかにするため、まず花粉症の症状の一つである鼻づまりを鼻腔内圧変化として、鼻汁を鼻汁量として測定するシステムを作成して調べた。このシステムを用いて、花粉症のときに分泌されるヒスタミンのエアロゾルを吸入させた際の鼻腔内圧及び鼻汁量を測定した。いずれもヒスタミンの濃度に依存して増加することから花粉症の状態がこの系に反映されることが見いだされた。

そこで、この測定系を用いて、体重kg当たり、1mg、10mgおよび20mgのDEPをモルモットの鼻腔内に投与することにより、鼻粘膜の過敏性に及ぼす影響を調べたところ、DEPの投与濃度に依存して鼻腔内圧は増加した(図18)。このことは、スギ花粉等の抗原の存在と関係なく、DEPそれ自体にも鼻づまりを起こさせる作用があることを示している。次に、鼻腔抵抗および鼻汁量を指標として、DEPがアレルギー反応時に放出されるヒスタミンの吸入による鼻粘膜の反応性に及ぼす影響を調べた。その結果、DEPの鼻腔内投与によりヒスタミン吸入により惹起される鼻粘膜の浮腫(図19)および鼻汁の分泌を増強させることが明らかになった。

以上の結果は、DEPは鼻粘膜を刺激し、過敏状態にすることにより、モルモットにおいてアレルギー-鼻炎症状を悪化させることを示している。

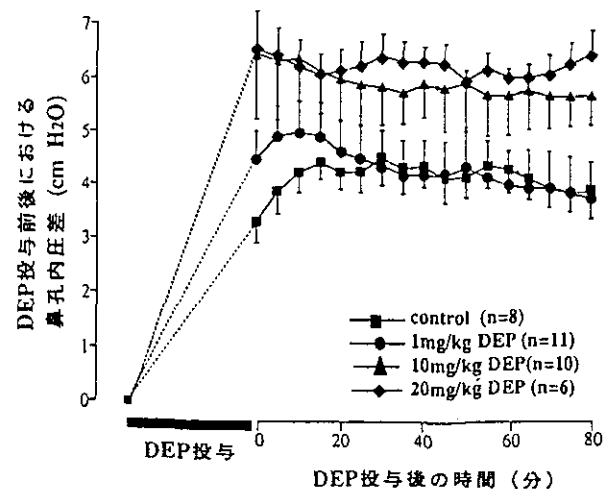


図18 鼻閉(鼻孔内圧増加)に及ぼすディーゼル排気微粒子(DEP)の影響

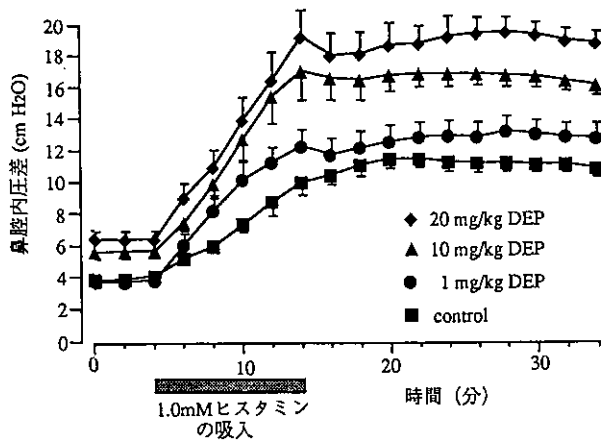


図19 ディーゼル排気微粒子 (DEP) のヒスタミンにより誘起される鼻閉 (鼻腔内圧増加) 亢進作用

### 2.3.5 まとめ

粒子状物質として、硫酸エアロゾルおよびDEPを取り上げ、気道全体および鼻粘膜の過敏性に及ぼす影響を検討してきた。いずれの場合も、高濃度の粒子状物質の吸入あるいは点鼻投与という条件下ではあるが、気道および鼻粘膜を過敏にする作用があることが明らかになった。このことは、大気汚染物質中の粒子状物質がぜん息様病態やアレルギー性鼻炎症状を誘発させたり、症状を悪化させる可能性があることを示唆している。

今後、硫酸エアロゾルの場合ではより低濃度の長期暴露実験を行い、気道過敏性への影響を調べる必要がある。また、DEP の場合は、実際のディーゼル排気への暴露実験を行い、鼻粘膜の過敏性への影響を検討することが必要である。

## 2.4 アレルギー性鼻炎発症に対するディーゼル排気微粒子 (DEP) の影響<sup>25)</sup>

### 2.4.1 はじめに

鼻腔は気道の門戸であり、1日当たり $1 \times 10^4$ リットルに及ぶ空気の気道への入口として機能しており、外界の影響を受けやすい。また、鼻粘膜における免疫反応は抗原や感染菌など各種の有害物質に対する防御機構として大きな役割を担っている。鼻炎症状はこの防御反応の結果として起こる反応である。鼻炎症状のうち、最もよく知られているのがアレルギー性鼻炎である。アレルギー性鼻炎のうちスギ花粉症の有症率は都市人口の約10%、青年層に限れば15%を下がらないと推定されており、現在大きな社会問題となっている<sup>26)</sup>。

兼子ら(1989)は、花粉が多いと思われるスギ植林地帯より、むしろ山林の少ない都会の方に花粉症患者が多いことを報告しており、花粉症の発症を考える上で大気汚染などの環境問題に焦点が当てられるようになった。前記のマウスを用いた研究により、ディーゼル排気微粒子 (DEP) が花粉の表面に付着することで抗体産生時にアジュバント活性を示すことが報告されている。このように、DEPが全身的抗原感作時に、血清中IgE抗体産生のためのアジュバント活性を示すことは証明されているが、実際に抗原とDEPを併用して投与した時にアレルギー性鼻炎症状を増悪させるか否かについては全く報告がなく、不明のままである。

そこで今回、アレルギー性鼻炎の種々の症状を定量的に測定できる動物モデルを用いて、DEPを抗原と共に全身適用で併用投与した場合と、DEPを鼻腔内に点鼻し、抗原は全身適用した場合、抗原の吸入投与時に発現する鼻炎症状に及ぼすDEPの影響等についてモルモットを用いて検討を行った。

### 2.4.2 アレルギー性鼻炎症状の評価

アレルギー性鼻炎症状の評価は三澤ら (星薬科大学・薬理学教室) のモデル (図20) を用いて行った。アレルギー性鼻炎の主症状として、くしゃみ、鼻水 (鼻漏)、鼻づまり (鼻閉) があげられる。このうち今回は、鼻閉の指標として鼻腔内圧 (intranasal pressure: INP) を、鼻漏の指標として鼻汁量の増加を直接測定した。また、鼻腔内粘膜下の微小血管透過性の指標として鼻腔内洗浄液中の漏出色素量を測定した。さらに、粘液成分分泌の指標として分泌腺からの同上洗浄液中のシアル酸濃度を測定し、鼻汁分泌活性を詳細に検討した。さらに、I型アレルギー (図4参照) の代表的なケミカルメディエーターであるヒスタミン濃度の定量を鼻腔内洗浄液について行った。

モルモットはウレタン麻酔下背位に固定後、鼻咽頭部および両鼻孔にカニューレを挿入し、鼻咽頭カニューレを人工呼吸器 (シナノ製作所) に接続し、一定量の空気を送気した (図20)。抗原等の薬液は人工呼吸器の送気回路中に組み込んだ超音波ネブライザー (日本光電) にて霧状にし、鼻咽頭部より鼻腔内に吸入させた。INP変化は圧トランスジューサー及びひずみ圧力アンプ (日本光電) を用いて測定した。鼻汁は両鼻孔カニューレの後方に装着したマイクロ試験管に集め、薬液吸入後にたまった鼻汁

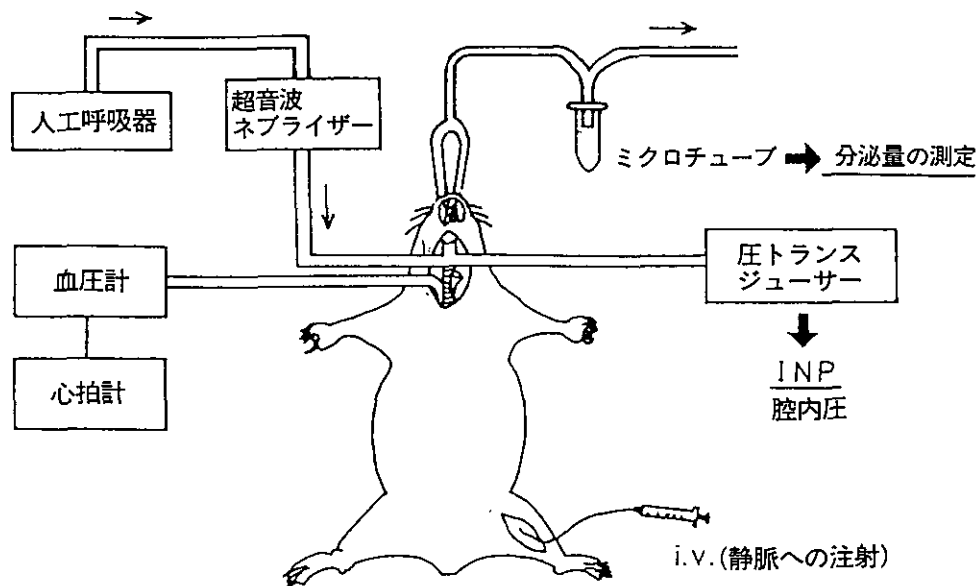


図20 鼻腔内圧測定および鼻汁採取用実験装置の概要  
卵白アルブミン吸入用ネブライザーは鼻咽腔と人工呼吸器との間に接続された。

の重量差から鼻汁量を測った。この評価法を用いて、抗原液の濃度依存的チャレンジによりそれぞれの指標において有意な増加が見られることがすでに確認されている。

#### 2.4.3 アレルギー性鼻炎発症に対するDEPの影響について

##### (1) 抗体産生に対する影響

前述のように、マウスにおいてDEPはアジュバント活性を示すことが報告されている。今回の研究にはハートレイ系雄性モルモットを用い、図21に示すように抗原である卵白アルブミン(OA, 10 $\mu$ g)のみで感作を行った群、OAとDEP (2mg) とで併用感作を行った群、OAと水酸化アルミニウム (Al(OH)<sub>3</sub>, 1mg) とで併用感作を行った群、OAとDEPおよび水酸化アルミニウムとの三者併用感作を行った群の4群に分けた。それぞれ混合して背部皮下に投与して感作し、2週間後に同様の追加感作を行い、さらに1週間後に抗原(OA)をエアロゾル状にして吸入暴露した。暴露の直前にモルモットから採血し、PCA反応により血中抗体価を測定した(表3)。抗OA抗体産生のため、しばしばアジュバントとして用いられる水酸化アルミニウム併用感作ではOA単独感作の場合と比較して抗体価の増加が認められた(OA単独感作群の平均PCA力価=87; OA+Al(OH)<sub>3</sub>併用群の同力価=205)。DEPとの併用感作群においては水酸化アルミニウ

ムとの併用感作時よりも弱いものの、抗体産生の増強傾向が見られた(OA+DEP併用群の平均PCA力価=160)。また、DEPと水酸化アルミニウムとの併用感作では最も高い抗体価(平均PCA力価=270)が得られた。以上の結果から、DEPがアジュバント活性を示すことが示唆された。

##### (2) ヒスタミン遊離に対する影響

上記にしたがい感作したモルモットをウレタン麻醉下、鼻腔を経て、15mg/mlのOA溶液を10分間(消費量約0.3ml)吸入させ、さらにその10分後にpH7.2の0.05Mリン酸緩衝液で鼻腔内を洗浄した。洗浄液中のヒスタミン濃度はShoreらの方法に従って反応させた後、励起波長350nm、蛍光波長450nmにて蛍光強度を測定した。図22に示したように、DEPとの併用感作群ではOA単独感作群と比較して有意な差はないものの、洗浄液中ヒスタミン濃度の増加傾向が見られた。水酸化アルミニウムと併用感作した群でも同様に有意差はないもののヒスタミン濃度の増加傾向が認められた。DEPと水酸化アルミニウムとを併用感作した群ではOA単独感作群と比較して1.6倍に増加し、有意差を示した。

ヒスタミンは、すでに抗体で感作されている状態で、再び抗原に暴露されると肥満細胞および好塩基球の脱顆粒反応によって放出される。OAをDEPと併用して感作することで抗体産生が助長され、それに伴い抗原の吸入

## 免疫処理のスケジュール

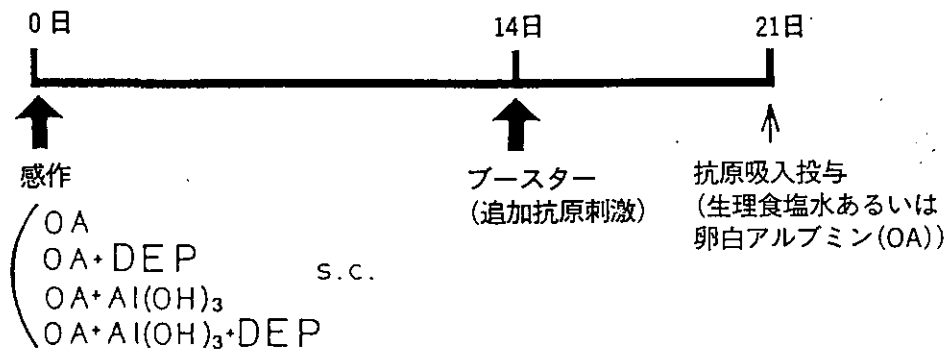


図21 ディーゼル排気微粒子 (DEP) あるいは水酸化アルミニウムと一緒に卵白アルブミンでモルモットを免疫するスケジュール

表3 モルモットの抗OA抗体産生に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) の影響

	OA	OA+DEP	OA+Al(OH) <sub>3</sub>	OA+DEP+Al(OH) <sub>3</sub>
動物数 (n.)	6	10	7	7
平均PCAタイター	87	160	205	270
PCAタイター範囲	40-160	40-320	80-320	40-650

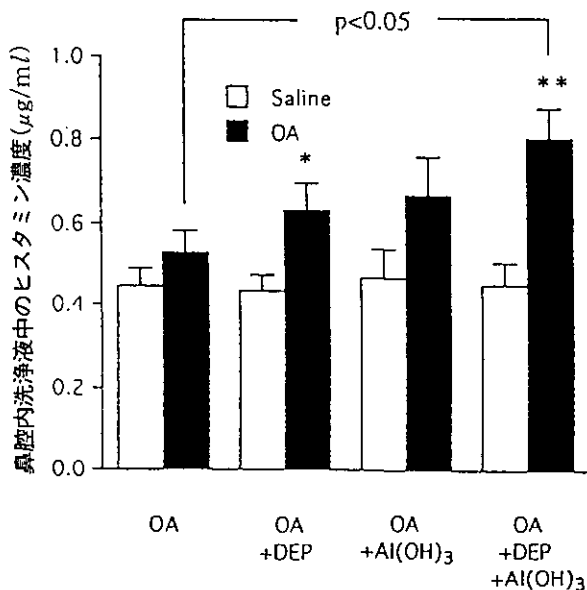


図22 ディーゼル排気微粒子 (DEP) あるいは水酸化アルミニウム (Al(OH)<sub>3</sub>) と一緒にモルモットに卵白アルブミン (OA) を投与した時の鼻腔洗浄液中のヒスタミン濃度

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$

投与時のヒスタミン遊離量が増加したものと考えられる。

### (3) 鼻閉に対する影響

鼻閉症状の起こる要因としては、1) 鼻粘膜静脈叢の拡張による粘膜腫脹、2) 鼻粘膜血管血漿成分漏出による粘膜浮腫、3) 鼻粘膜分泌細胞からの鼻汁分泌過多、4) 炎症細胞の集積、などの多岐にわたる反応が複雑に関与していることが知られている。

鼻閉の指標として鼻腔内圧 (INP) を測定したところ、図23に示すように、DEPとの併用感作群においてはOA単独感作群と比較して鼻腔内圧の顕著な増加が見られ、鼻閉が増強されたことが明らかとなった (OA単独感作群のINP変化量は $1.5 \pm 0.2 \text{ cmH}_2\text{O}$ ,  $n=6$ ; OA+DEP群のINP変化量は $2.6 \pm 0.3 \text{ cmH}_2\text{O}$ ,  $n=9$ )。一方、水酸化アルミニウムとの併用感作群あるいはDEP+水酸化アルミニウムとの併用感作群ではDEPとの併用群より低下した。また、OA単独群との間にも有意差はなくなった。しかし、OA単独感作群と比較して鼻腔内圧は増大傾向を示していた。

#### (4) 鼻汁分泌に対する影響

10分間の抗原吸入投与終了後、さらに10分間鼻腔内に通気を行い、この20分間に貯留した総鼻汁量を測定したところ、図24に示すように、DEPとの併用感作群の鼻汁量はOA単独感作群と比較して軽度増加傾向が認められた。一方、水酸化アルミニウムとの併用感作群ならびに3者併用感作群においては著明な鼻汁量の増加が見られ、鼻汁分泌が亢進していることが示唆された(OA単独感作群の鼻汁量=23.9±10.4mg, n=6; OA+DEP併用感作群の鼻汁量=30.7±7.6mg, n=10; OA+Al(OH)<sub>3</sub>併用感作群の鼻汁量=48.1±6.1mg, n=7; OA+DEP+Al(OH)<sub>3</sub>併用感作群の鼻汁量=51.8±11.9mg, n=7)。

#### (5) 鼻粘膜血管透過性に対する影響

ヒトのアレルギー性鼻炎発症時には、ヒスタミンやブラジキニン等の様々なケミカルメディエーターの作用により鼻粘膜血管透過性亢進が生じ、鼻汁分泌亢進の要因となっていることが推定されている。モルモットではDEPとの併用感作群に抗原吸入投与を行うと、OA単独感作群と比較して鼻腔洗浄液中のエバンスブルー色素漏出量の増加傾向が見られた(図25)。水酸化アルミニウムとの併用感作群と三者併用感作群ではOA単独感作群に比べて有意な血管透過性亢進が認められた(OA単独感作群の色素漏出量=2.0±0.6μg/ml, n=6; OA+Al(OH)<sub>3</sub>併用感作群の色素漏出量=4.1±0.4μg/ml, n=8; OA+DEP+Al(OH)<sub>3</sub>併用感作群の色素漏出量=4.6±0.7μg/ml, n=7)。

#### (6) 腺分泌に対する影響

シアル酸は糖タンパク質の一種で、糖分子がタンパク質とグリコシド結合によってシアロムコイドを形成している物質である。今回は、鼻粘膜分泌腺由来の鼻汁分泌の指標として鼻腔内洗浄液中のシアル酸濃度を測定した。図26に示した感作条件においては各感作群間でシアル酸濃度にほとんど差を生じなかった。この説明は難しいが、1つには粘液糖タンパク質への指標として選んだシアル酸はこのような条件では大きな変化をしないこと、2つにはOA単独ですでにほぼ最大反応に達しており、他の群ではそれ以上の反応が起こる余地がなかった可能性がある。

また、腺由来の鼻汁分泌には群間に変化が見られないにもかかわらず、鼻汁分泌量はDEPあるいは水酸化アル

ミニウムとの併用感作群でOA単独感作群より増加傾向ないしは有意な増加が認められた(図24)。この時、図25に示したように、微小血管透過性亢進が記録されたことから、抗原誘発鼻汁分泌促進作用には漏出血漿成分由来の水性鼻汁の寄与が大きいことが示唆された。

#### 2.4.4 鼻腔内適用したDEPの抗原誘発鼻粘膜反応に対する影響

ここに述べる実験においては、抗原としてOAで感作を行い、初回感作と追加感作の間の13日間、エーテル麻酔下でモルモットの両鼻腔内にDEP懸濁液(25μg/25μl/one nostril/day)を1日1回ずつ投与したところ、鼻炎症状の指標である鼻腔内圧変化(図27-a)および鼻腔内洗浄液中の色素漏出量の増加は、DEP非投与群(PBSと表示)に比べて増加傾向が認められた(図27-b)。また、DEP非投与群では48時間後のPCA抗体価の平均値を血清の希釈倍率で示すと240倍で、25μgのDEP投与群では720倍となり、50μgのDEP投与群では560倍となった。すなわち、CA抗原とDEPを同時投与すると、より高い抗体産生が起こった。

この結果は、DEPがOA感作期間中にアジュバント効果を発現し、抗体産生を増加することによって抗原吸入投与時の反応性を増大したことによると推定される。また、DEPがマクロファージ等を活性化し、炎症性のメディエーターを放出させるか、もしくは他の炎症細胞の遊走を促したりするといった鼻粘膜に炎症性変化をもたらした結果発現する可能性も否定できない。

#### 2.4.5 まとめ

以上の結果から、DEPはモルモットにおいて抗卵白アルブミン(OA)抗体産生時にアジュバント活性を示すことが確認された。さらにその結果、実験的アレルギー性鼻炎モデルにおいて、抗原によって誘発される鼻漏や鼻閉などのアレルギー性鼻炎症状を悪化させることが明らかになった。

これまで、DEPが抗体産生時にアジュバント活性を示すことは多くの研究者によって報告されているが、その抗体産生が実際にアレルギー性鼻炎の各症状を増悪させるか否かの報告は全くなく、本報告はそれについての初めてのものと言える。また、OAを抗原とした時のPCA反応によるアジュバント活性(表3)は鼻汁量(図24)、鼻汁中のヒスタミン濃度(図22)、および鼻粘膜透過性の指



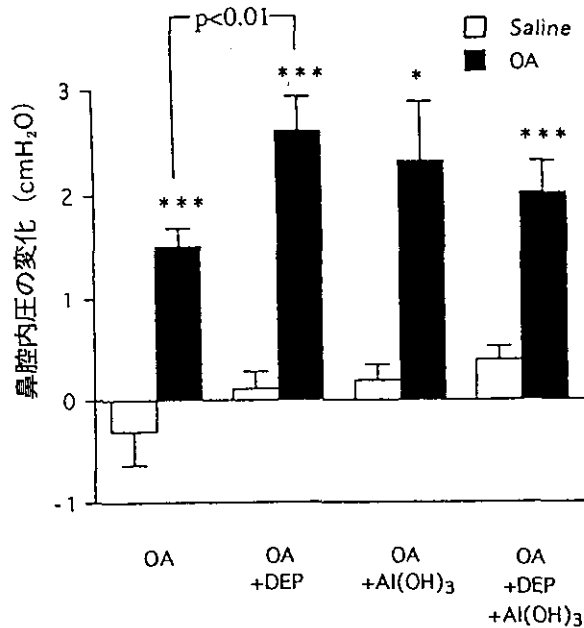


図23 卵白アルブミン吸入投与後の鼻腔内圧に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) 及び水酸化アルミニウム投与の影響  
\*: p<0.05, \*\*\*: p<0.001

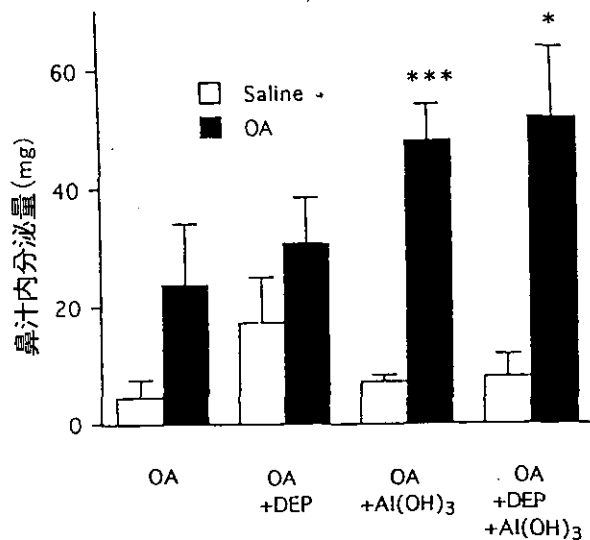


図24 卵白アルブミン吸入投与後の鼻汁分泌に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) および水酸化アルミニウム投与の影響  
\*: p<0.05, \*\*\*: p<0.001

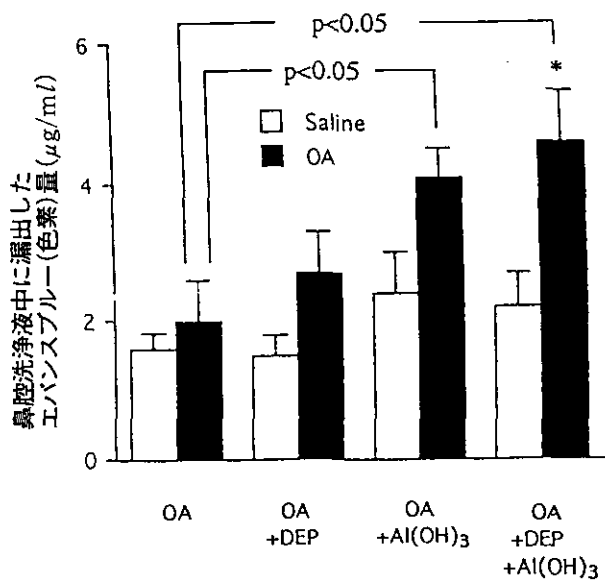


図25 卵白アルブミン吸入投与後の鼻腔内微血管透過性に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) 及び水酸化アルミニウム投与の影響  
\*: p<0.05

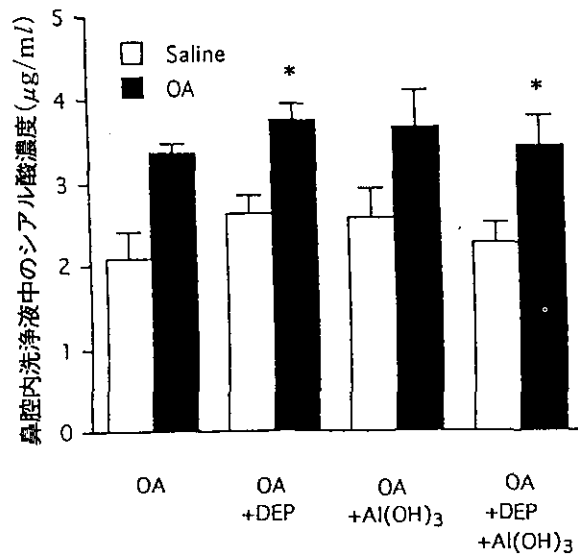


図26 卵白アルブミン吸入投与後の腺分泌の指標としての鼻腔洗浄液中のヒアルロン酸濃度に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) および水酸化アルミニウム投与の影響  
\*: p<0.05

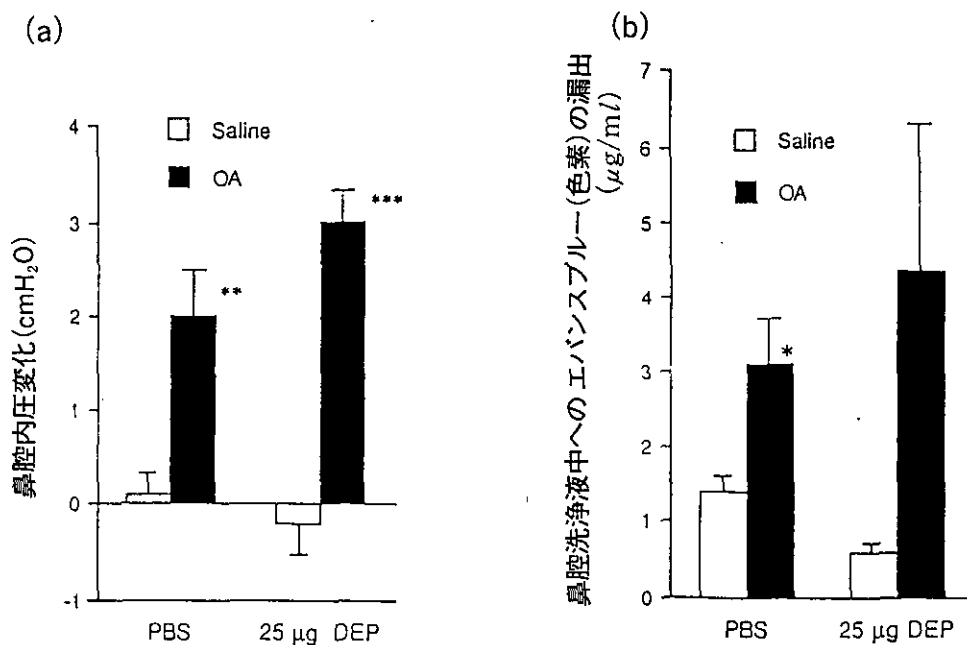


図27 卵白アルブミン吸入投与後の鼻腔内圧と微小血管透過性に及ぼすディーゼル排気微粒子 (DEP) の繰り返し投与の影響

\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$

標である血液からの鼻汁中への漏出量 (図25) との間には相関性があるように思われるが、鼻閉の指標である鼻腔内圧 (図23) および鼻粘膜分泌 (図26) との間には相関はないようである。これらの結果はアレルギー性鼻炎がDEPのアジュバント活性 (IgE抗体価) だけで解釈されるものではないことを示している

また、感作の間の一定期間、DEP懸濁液を点鼻するといった方法でも抗原誘発鼻炎症状が悪化する傾向が認められた。今後は、DEPを吸入させるといった実際にヒトが吸入するような状態で、DEPのアジュバント作用および鼻粘膜に対する直接作用について検討して行く予定である。

## 2.5 呼吸器腫瘍発生に及ぼす大気汚染物質の影響に関する実験的研究

### 2.5.1 呼吸器腫瘍発生に及ぼすNO<sub>2</sub>の影響<sup>27)</sup>

#### (1) NO<sub>2</sub>暴露による肺腫瘍発生促進作用に関する実験的研究の現状

二酸化窒素 (NO<sub>2</sub>) はディーゼル排気微粒子 (DEP) とともに大都市部における主要な大気汚染物質である。このNO<sub>2</sub>やオゾン (O<sub>3</sub>) は途中で捕捉されないため肺の奥深くまで入り込み、高濃度では気道粘膜や肺胞上皮細胞に傷害を与える。これら大気汚染物質の発がん性につ

いてみると、O<sub>3</sub>については発がん性を認めた報告がいくつかあるが、NO<sub>2</sub>の発がん性について報告した例はほとんどなく、NO<sub>2</sub>それ自身には発がん性はないものと考えられている。しかし、NO<sub>2</sub>はO<sub>3</sub>と同様、フリーラジカルを誘起するというその化学反応性のゆえに発がん性を修飾する可能性が考えられる。本実験では低濃度の発がん剤N-bis (2-hydroxypropyl) nitrosamine (BHPN)) を1回だけ投与したラットにNO<sub>2</sub>を長期間暴露した慢性実験を行い、NO<sub>2</sub>が肺腫瘍発生を促進する作用を示すかどうかを調べた。

#### (2) 発がん剤BHPN単独投による肺腫瘍発生率

はじめに、BHPNの肺腫瘍発生に対するみかけの最大無作用量 (以下、最大無作用量と略す) を決定することを目的に、6週齢のJCL:Wistar系雄ラットを用いて、1群40匹ずつとしてBHPNをkg体重当たり0.5g, 1.0g, 1.5gおよび2.0g量をそれぞれ腹腔内に一回投与した。2.0g投与群は42匹とし、対照群には生理食塩水を投与した。これらのラットをセミクリーン状態の飼育室で17ヶ月間飼育して肺腫瘍の発生率を調べた。ラットを屠殺後、常法に従って肺の病理組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン (H・E) 染色して病理形態観察を行った。その結果、肺腫瘍は、表4に示すごとく、BHPNを

表4 N-ビス(2-ヒドロキシプロピル)ニトロソアミン(BHPN)1回投与ラットの肺腫瘍発生率と非腫瘍性肺傷害動物の割合

実験群	BHPN 投与量 (g/kg)	17ヶ月以内に 死亡した動物数 (%)	有効動物数	肺胞上皮細胞 の肥厚		気管支粘 膜の肥厚 (%)	総腫瘍の 発生数と率 (%)	良性腫瘍 動物数 (%)	悪性腫瘍 動物数 (%)	腫瘍		
				わづか～ 中等度(%)	顕著(%)					腺腫(良性) (%)	腺がん(悪性) (%)	肉腫 (%)
1	0.0	1(2.5)	40	9(22.5)	2(5.0)	0	0	0	0	0	0	0
2	0.5	10(25.0)	40	24(60.0)	10(25.0)	2(5.0)	1(2.5)	1(2.5)	0	1(2.5)	0	0
3	1.0	16(40.0)	39	12(30.8)	24(61.5)	0	3(7.7)	3(7.7)	0	3(7.7)	0	0
4	1.5	15(37.5)	37	5(13.5)	30(81.1)	3(8.1)	3(8.1)	2(5.4)	1(2.7)	2(5.4)	0	1(2.7)
5	2.0	13(40.0)	42	6(14.3)	33(78.6)	1(2.4)	14(33.3)	10(23.8)	4(9.5)	10(23.8)	4(9.5)	0

kg体重当たり0.5g投与した群では40匹中1匹(2.5%)に良性腫瘍である腺腫が、1.0g投与群では39匹中3匹(7.7%)に腺腫が認められた。1.5g投与群では37匹中3匹(8.1%)に腫瘍が発生し、その組織型の内訳は腺腫が2匹、線維肉腫が1匹であった。最も濃度が高い2.0g投与群では42匹中14匹(33.3%)に腫瘍が発生し、その内訳は腺腫が10匹で、悪性腫瘍である腺がんが4匹に認められた。この結果から、BHPNの最大無作用量は約0.5g/kg程度とみなし得ると判断した。

(3) BHPN投与とNO<sub>2</sub>慢性暴露との併用実験による肺腫瘍発生率

動物は6週令のJCL:Wistar系雄ラット240匹を用いた。1群60匹ずつ4群に分け、各々60匹のうち40匹に上記BHPN投与実験で得られた最大無作用量の0.5g/kgのBHPNを腹腔内に1回投与した。残りの20匹には生理食塩水を1回腹腔内に投与した。これらのラットを翌日からNO<sub>2</sub>暴露チャンバーに入れて、第1群は清浄空気暴露の対照群とし、第2群から4群までは各々0.04ppm、0.4ppmおよび4ppmNO<sub>2</sub>に17ヶ月間暴露した。暴露終了後、ラットを屠殺して、常法に従って肺および各臓器の組織病理標本を作成し、H・E染色してから病理形態観察

を行った。

その結果、表5に示すように、肺の腫瘍はBHPN投与したうち、清浄空気暴露群と0.04ppmNO<sub>2</sub>暴露群の各々40匹中の1匹ずつ(2.5%)に腫瘍(腺腫)が認められた。0.4ppmNO<sub>2</sub>暴露群ではBHPN投与にもかかわらず、腫瘍発生ラットは1匹も認められなかった。これに対して、最も濃度が高い4ppmのNO<sub>2</sub>暴露群では40匹中5匹(12.5%)に腫瘍(腺腫=4, 腺がん=1)が認められた。しかし、この4ppmNO<sub>2</sub>群の発生率でもBHPNを投与し清浄空気を暴露した群との間に有意差は認められなかった。また、BHPNの代わりに生理食塩水を投与した各々NO<sub>2</sub>暴露群(各群20匹)では肺腫瘍は全く認められなかった。肺以外の臓器ではBHPNによって鼻腔、肝臓、すい臓等に腫瘍の発生が認められたが、NO<sub>2</sub>暴露濃度の違いによる差は全くなかった。なお、本実験で認められた肺腫瘍は他の臓器で発生した腫瘍の転移によるものではないことが確認されている。

0.5gBHPN+4ppmNO<sub>2</sub>暴露群の肺腫瘍発生率は発がん剤のBHPNのみを1.0gあるいは1.5gを単独投与した群の肺腫瘍発生率を上回っていた。このことは肺の腫瘍発生が4ppmNO<sub>2</sub>暴露によって弱いながらも促進されることを示している。これらの結果から、NO<sub>2</sub>には肺の腫

表5 N-ビス(2-ヒドロキシプロピル)ニトロソアミン(BHPN)1回投与ラットの肺腫瘍の発生率と非腫瘍性肺傷害に及ぼす二酸化窒素の影響<sup>27)</sup>

実験群	処理	17ヶ月以内に 死亡した動物数 (%)	有効動物数	肺胞上皮細胞 の肥厚		気管支粘 膜の肥厚 (%)	総腫瘍の 発生数と率 (%)	腫瘍	
				低～中度 (%)	高度(%)			腺腫(良性) (%)	腺がん(悪性) (%)
1	—	0	1(2.5)	10	0	0	0	0	0
2	0.5	0	12(30.0)	40	10(25.0)	7(17.5)	1(2.5)	1(2.5)	1(2.5)
3	—	0.04	1(2.5)	10	0	0	0	0	0
4	0.5	0.04	10(25.0)	40	21(52.5)	10(25.0)	1(2.5)	1(2.5)	1(2.5)
5	—	0.4	1(2.5)	10	0	0	0	0	0
6	0.5	0.4	9(22.5)	40	30(75.0)	5(12.5)	1(2.5)	0	0
7	—	4.0	1(2.5)	10	1(10.0)	0	0	0	0
8	0.5	4.0	13(32.5)	40	19(47.5)	11(27.5)	17(42.5)	5(12.5)	4(10.0)

瘍発生を促進する作用（プロモーション作用）があることが示唆された。しかし、肺以外の臓器の腫瘍発生率の結果から推察するとNO<sub>2</sub>には肺以外の臓器に対する腫瘍発生修飾作用はないものと考えられる。

### 2.5.2 NO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub>及び硫酸エアロゾルの複合暴露による肺腫瘍発生促進作用に関する実験的研究<sup>28)</sup>

今回、NO<sub>2</sub>が肺腫瘍発生を促進する作用は比較的高濃度で現れることを見いだした。一方、一般大気環境汚染レベルのNO<sub>2</sub>がO<sub>3</sub>や硫酸エアロゾル等との複合暴露で腫瘍発生を促進する作用を示すかどうかは明らかでない。本実験では最大無作用量の発がん剤(BHPN, 0.5g/kgB・W)をイニシエーターとして投与し、その後、NO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub>あるいは硫酸エアロゾルを複合暴露し、これらの複合ガスが肺腫瘍の発生を促進する作用を示すかどうかを調べた。

#### (1) NO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub>および硫酸エアロゾル複合暴露による肺腫瘍発生率

動物は4週令のJCL:Wistar系雄ラット288匹を用いた。1群を72匹ずつの4群に分けた。その72匹のうち36匹に肺腫瘍に関する最大無作用量の0.5gBHPN/kgを腹腔内に1回投与し、残りの36匹には生理食塩水を1回腹腔内に投与した。これらの動物を翌日から清浄空気、0.05ppmO<sub>3</sub>、0.4ppmNO<sub>2</sub>+0.05ppmO<sub>3</sub>あるいは0.4ppmNO<sub>2</sub>+1mg/m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>エアロゾルに13ヵ月間暴露し、その後11ヵ月間清浄空気下で飼育した。実験開始24ヵ月後にラットを屠殺し、肺およびその他の臓器を摘出し、それぞれの病理組織標本を作成し、H・E染色して

から病理形態観察を行った。

表6に示すように、生理食塩水投与後、各々のガスやエアロゾルのみを暴露した動物では肺に腫瘍は全く認められなかった。この結果はこの実験に用いたレベルのガス暴露だけでは肺腫瘍は発生しないことを示している。一方、BHPN(0.5g/kg)を投与した動物のうち、清浄空気暴露群では36匹中肺腫瘍を発生した動物は1匹も認められなかったが、0.05ppmO<sub>3</sub>暴露群では36匹中3匹(8.3%)に腫瘍(腺腫=1匹、腺がん=2匹)が、0.4ppmNO<sub>2</sub>+0.05ppmO<sub>3</sub>暴露群では36匹中5匹(13.9%)に腫瘍(腺腫=4匹、腺がん=1匹)が認められ、0.4ppmNO<sub>2</sub>+0.05ppmO<sub>3</sub>群では清浄空気群との間にX<sup>2</sup>検定による有意差が認められた。また、このNO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>の複合暴露群の肺腫瘍発生率は前実験の0.4ppmNO<sub>2</sub>単独暴露群の場合と今回の0.05ppmO<sub>3</sub>の単独暴露群での腫瘍発生率に比べると相乗的な増加を示していた。一方、0.4ppmNO<sub>2</sub>+1mg/m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>エアロゾル暴露群では36匹中2匹(5.6%)に腫瘍(腺腫)が認められ、腺がんは一匹に認められず、清浄空気暴露群との間に有意差は認められなかった。

これらの結果から、本実験で本暴露したレベルでもNO<sub>2</sub>とO<sub>3</sub>の複合暴露では肺腫瘍発生を相乗的に促進させる作用があることが示された。また、0.4ppmNO<sub>2</sub>+1mg/m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>エアロゾル暴露群の腫瘍発生率(8.3%)は前記の0.4ppmNO<sub>2</sub>単独暴露実験の腫瘍発生率(0%)よりも高いことから、NO<sub>2</sub>にH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>エアロゾルを複合することによって肺腫瘍発生が弱いながらも促進されることが示唆された。

表6 N-ビス(2-ヒドロキシプロピル)ニトロソアミン(BHPN)1回投与ラットの肺腫瘍発生率および非腫瘍性肺傷害に及ぼすオゾン、二酸化窒素ならびに硫酸エアロゾルの複合暴露の影響<sup>28)</sup>

実験群	処理		有効動物数	24ヶ月以内に死亡した動物数(%)	肺上皮細胞の肥厚度(%)		気管支粘膜の肥厚(%)	総腫瘍発生率(%)	腫瘍		他の臓器からの転移
	BHPN(g/kg)	暴露			低~中度(%)	高度(%)			腺腫(良性)(%)	腺がん(悪性)(%)	
1	-	0	35	11(30.6)	5(14.3)	0	0	0	0	0	0
2	0.5	0	36	23(63.9)	6(16.7)	3(8.3)	0	0	0	0	0
3	-	0.05ppmO <sub>3</sub>	36	11(30.6)	8(22.2)	0	0	0	0	0	0
4	0.5	0.05ppmO <sub>3</sub>	36	20(55.6)	11(30.6)	4(11.1)	1(2.8)	3(8.3)	1(2.8)	2(5.6)	0
5	-	0.05ppmO <sub>3</sub> +0.4ppmNO <sub>2</sub>	36	5(16.7)	8(22.2)	1(2.8)	0	0	0	0	0
6	0.5	0.05ppmO <sub>3</sub> +0.4ppmNO <sub>2</sub>	36	21(58.3)	7(19.4)	6(16.7)	2(5.6)	5(13.9)	4(11.1)	1(2.8)	2(5.6)
7	-	0.4ppmNO <sub>2</sub> +1mg/m <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	36	9(25.0)	2(5.6)	0	0	0	0	0	1(2.8)
8	0.5	0.4ppmNO <sub>2</sub> +1mg/m <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	36	16(44.4)	9(25.0)	9(25.0)	1(2.8)	3(8.3)	2(5.6)	1(2.8)	1(2.8)

(2) NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>あるいはNO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>慢性暴露による肺腫瘍発生率と肺の過酸化脂質レベル

発がん剤投与とNO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>あるいはNO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>との併用慢性暴露実験において、これらの大気汚染ガスに肺腫瘍発生を促進する作用があることが前記(1)の実験で示された。また、肺の腫瘍発生率はこれらガス暴露による肺の過酸化脂質の生成レベルと非常に良く対応していた。すなわち、肺腫瘍発生の増加が認められなかった0.04 ppmNO<sub>2</sub>および0.4ppmNO<sub>2</sub>暴露群では、肺の過酸化脂質量の増加もほとんど認められなかったが、腫瘍の発生率が最も高かった4ppmNO<sub>2</sub>暴露群ではガス暴露9ヶ月後、肺の過酸化脂質量に有意な増加が認められた。また、肺の腫瘍発生に有意な増加が認められなかったO<sub>3</sub>の0.05ppm単独暴露では、肺の過酸化脂質量にも増加は認められなかった。しかし、肺の腫瘍発生が増加した0.4 ppmNO<sub>2</sub>+0.05ppmO<sub>3</sub>暴露群では、肺の過酸化脂質量も相乗的に増加していた(図28)。活性酸素やフリーラジカルあるいは過酸化脂質とその代謝産物が腫瘍発生に対してイニシエーターあるいはプロモーターとして作用することが知られていることから、NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>あるいはNO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>による肺腫瘍発生促進作用はこれらのガス暴露によって生じるフリーラジカルあるいは過酸化脂質が関与している可能性が示唆された。

2.5.3 ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺腫瘍発生と高脂肪食, β-カロチン食の影響<sup>29)</sup>

(1) 日本人の肺がんによる死亡率の増加傾向とその原因について

日本人のがんによる死亡率のうち、肺がんによる死亡

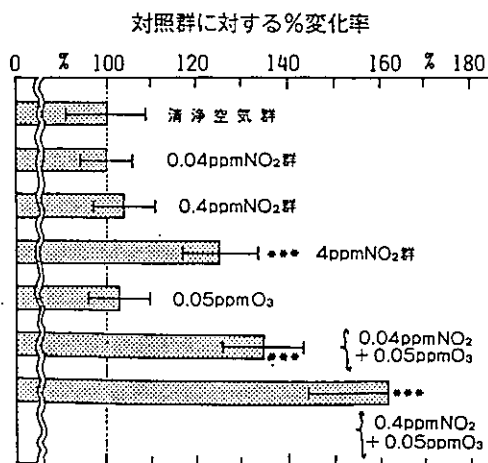


図28 二酸化窒素 (NO<sub>2</sub>) および (O<sub>3</sub>) の単独あるいは複合暴露9ヶ月目のラットの肺内過酸化脂質濃度  
\*\*\* : p<0.001

率は年々増加の一途をたどっており、この主な原因として喫煙や食事因子などがあげられている。その他に、大気汚染物質もその一つと考えられている。このうち、大気汚染物質についてみると、近年、ディーゼル車が急増していることから、その排気中の黒煙微粒子 (DEP) が肺がんの発生に関与している可能性が有るのではないかと考えられ、日本、アメリカ、ドイツ、スイス等の6つの研究機関の研究者によってラットを用いた慢性実験が行なわれ、その発がん性に関する研究結果が報告されたり。さらに、これらのデータをもとに、岩井らによって、ディーゼル排気がヒトの肺がん発生に及ぼすリスク評価の試みもなされている<sup>30,31)</sup>。一方、肺がんの増加には大気汚染物質のほかにも多くの環境因子が関与しており、中でも疫学的研究によって、高脂肪、高カロリー食への食生活の変化が大きな要因になっていると指摘されている。このようなことから、ディーゼル排気微粒子 (DEP) のヒトの発がんに及ぼすリスクを評価する場合には、ヒトの脂肪摂取量に近いレベルでの動物実験に基づいてその評価を行なう必要があると考えられる。そこで、本実験ではDEPによる肺腫瘍発生が高脂肪食摂取によって促進されるかどうか、また、抗酸化剤の一つのβ-カロチンがDEPの腫瘍発生を抑制しうるかどうかを検討した。

(2) DEPによる肺腫瘍発生と高脂肪食摂取の影響

実験は6週令のICR系雄マウス240匹用いて行った。1群30匹ずつの8群に分け、1匹当たり、DEPを0mg, 0.05 mg, 0.1mgおよび0.2mgずつ、週1回ずつ、10週間(10回)にわたって気管内投与した。これらのマウスに高脂肪食(コーン油16%含む飼料)および普通脂肪食(コーン油4%を含む飼料)を1年間与えた。1年後にすべてのマウスを屠殺し、肺およびその他の臓器を摘出してホルマリン固定した。肺の腫瘍の数を計測後、肺の病理組織標本を作成し、H・E染色を施し、光学顕微鏡下で腫瘍の形態観察、分類を行った。なお、途中死亡した動物の肺腫瘍発生率も調べ結果に含めた。

普通脂肪食を摂取し、DEPを0mg, 0.05mg, 0.1mgおよび0.2mgを投与した群の肺の腫瘍発生率はそれぞれ13.3%, 26.7%, 31.0%および24.1%となり、0.1mg投与群の腫瘍発生率が最も高く、0.2mgDEP投与群ではむしろ腫瘍発生率が0.1mgDEP群より低下していた。(図29-a)。高脂肪食を摂取した0mg群, 0.05mg群, 0.1mg群および0.2mg群のマウスの肺の腫瘍発生率は普通脂肪食

摂取群よりもさらに高く、その発生率はそれぞれ25.0%、33.3%、43.3%および24.1%となり、高脂肪食摂取動物の場合も0.1mg群の腫瘍発生率が最も高く、0.2mgDEP投与群では低下していた。また、この高脂肪食群で0.1mgDEPを投与された群の肺の腫瘍発生率はDEPを投与しない普通脂肪食群の値より有意に高い値であった(図29-a)。また、普通脂肪食摂取群と高脂肪食摂取群の悪性腫瘍(腺がん)の発生率を比較すると、普通脂肪食群で0.05mgDEPを投与された群では腺がんが30匹中1匹であったものが、高脂肪食群では5倍に増加し、0.1mgDEP投与群では普通脂肪食で0匹であったものが4匹に腺がんが認められ、高脂肪食摂取群の方が悪性腫瘍の発生率が明らかに高かった。また、悪性腫瘍の場合も0.2mgDEP投与群では両脂肪食群とも0.1mgDEP群より低下していた(図29-b)。

### (3) DEPの肺腫瘍発生に対するβ-カロチンの影響

実験は6週令のICR系雄マウス240匹を用いて行った。上記実験と同様に、1群30匹ずつ8群に分け、1匹当たり、DEPを0mg、0.05mg、0.1mgおよび0.2mgずつ週1回ずつ、10週間(10回)にわたって気管内投与し、前記の高脂肪食および普通脂肪食にそれぞれ0.02%(w/w)のβ-カロチンを添加した飼料を1年間与えた。1年後に

すべてのマウスを屠殺して、上記の実験同様腫瘍の形態学的分類を行った。なお、途中死亡した動物の肺腫瘍発生率も調べ、結果に含めた。

β-カロチン添加普通脂肪食を摂取した0mgDEP群、0.05mgDEP群、0.1mgDEP群および0.2mgDEP投与群の肺の腫瘍発生率はそれぞれ、10.7%、20.0%、33.3%及び26.7%となり、β-カロチン無添加群と同様に0.1mgDEP投与群の腫瘍発生率が最も高かった(図29-b)、また、普通脂肪食を摂取し、0.1mgDEPを投与された群の腫瘍発生率はDEPを投与されていない群より有意に高い発生率であった(図29)。β-カロチン添加高脂肪食を摂取させ、DEPを0mg、0.05mg、0.1mg及び0.2mg投与した群の腫瘍発生率はそれぞれ、16.7%、30.0%、16.7%及び31.0%であり、この場合の0.1mg群の腫瘍発生率は0mg群の腫瘍発生率とほとんど変わらなかった。また、β-カロチン添加群の高脂肪食群と普通脂肪食群の腫瘍発生率を比較すると、高脂肪摂取群の方が腫瘍発生率が高かった。しかし、0.1mgDEP投与群では普通脂肪食群の発生率の方が高かった。また、β-カロチン無添加群(図29-a)と添加群(図29-b)の腫瘍発生率を比較すると、DEPの0mg群と0.05mg群では普通脂肪食群、高脂肪食群共にβ-カロチン添加群の方が腫瘍発生率が若干低くなった。一方、悪性腫瘍の発生率を比較すると、β-カロ

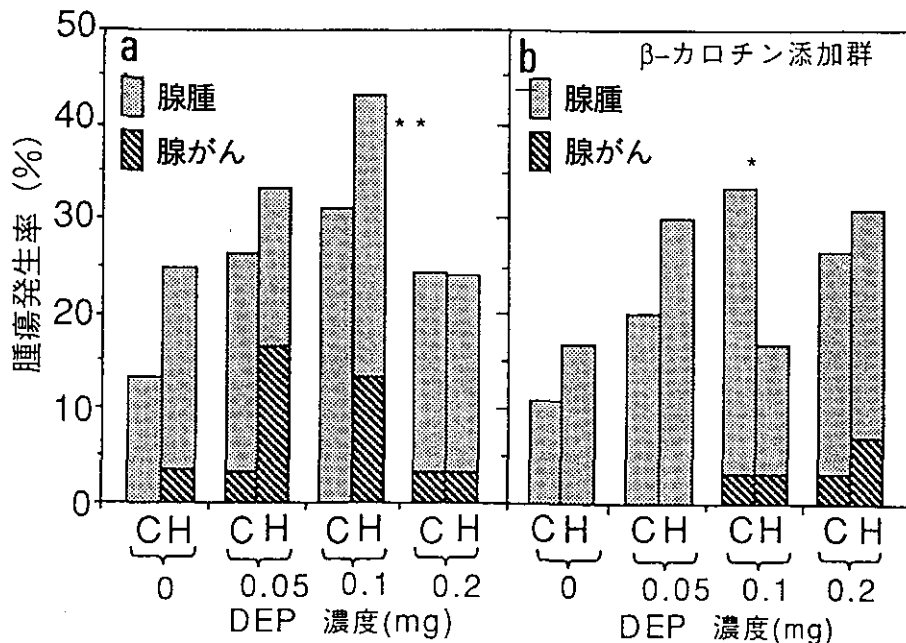


図29 ディーゼル排気微粒子 (DEP) を毎週1回ずつ10回繰り返し気管内投与したマウスの肺腫瘍発生率  
 図aはβ-カロチン無添加食群、図bはβ-カロチン添加食群、C：普通脂肪食(4%コーン油含)摂取群、H：高脂肪食(16%コーン油含)摂取群、腫瘍は良性腫瘍を、腺がんは悪性腫瘍を示す。

チン添加群の方が無添加群より明らかに低くなり、特に0.05mgDEP群と0.1mgDEP群で顕著であった。なお、0.2mgDEP投与群ではβ-カロチン添加効果が認められなかった。これは発がん予防効果のある物質でも、一定の濃度以上の汚染物質の存在下では、予防効果が発現しなくなることを示唆していると考えられる。さらに、1匹当たりの腫瘍の数(図30)は普通脂肪食摂取群より高脂肪食摂取群の方が高い傾向を示し、またβ-カロチン無添加群と添加群とを比較すると0mg, 0.05mgおよび0.1mgDEP群ではβ-カロチン添加群の方が腫瘍発生数は低い傾向を示した。しかしながら、0.2mgDEP投与群では普通脂肪食群と高脂肪食群との間の腫瘍発生数には差は認められず、また、β-カロチン添加による腫瘍発生抑制効果も認められなかった。

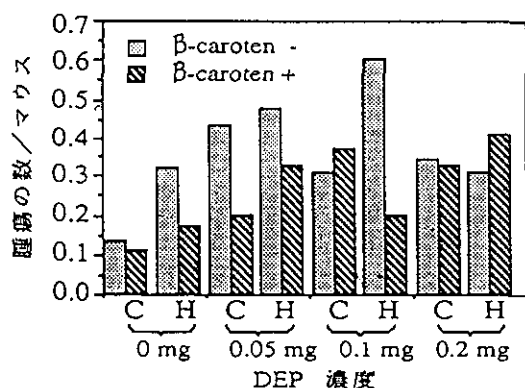


図30 ディーゼル排気微粒子 (DEP) を毎週1回ずつ10回繰り返して気管内投与したマウスの1匹当たりの腫瘍の数

#### 2.5.4 ディーゼル排気微粒子 (DEP) による発がん研究の現状と問題点

ディーゼル排気が動物実験で肺がんを発生させることはアメリカ、ドイツ、スイス、日本などの6つの優れた研究機関から報告されている。その発がんのメカニズムとして、DEP中の発がん物質、すなわちベンゾ(a)ピレン (BaP) やジニトロピレンなどのニトロアレン類の強力な発がん物質が肺の細胞内DNAと結合してDNA-付加物を作り、これにより遺伝情報がかく乱されてがん化に進むものと考えられてきた。事実、これらDEP中の発がん物質が強い変異原性を示し、かつ動物実験でもこれら発がん物質が様々な臓器にがんを作ることが膨大な量の研究から明らかにされている。しかし、発がん物質とDNAとの付加物の生成とは異なる考え方からの研究は全くないに等しかった。

一方、このような膨大な研究があるけれどもDEP中に

含まれる発がん性の強いニトロアレン類の含量はDEPのg当たり数μgから数十μg程度で非常に低濃度であることと、皮下注射などによる発がん実験に用いられている量はmg単位であり、その間の濃度に開きがありすぎること等から、ニトロピレン類が実際の発がんに本当に参与しているかどうか疑問を持つ意見もあった。このような状況のときに、ディーゼル排気 (DE) そのものと発がん物質を全く含まない、ただのカーボンブラック (CB) あるいは酸化チタン (TiO<sub>2</sub>) をDE中のDEPと同じ濃度にしてラットに2年間吸入させたところ、3者間の発がん率はほとんど同じであったという研究結果がドイツのブラウンホッファーエアロゾル毒性研究所<sup>2)</sup>とアメリカの吸入毒性研究所 (ITRI)<sup>3)</sup>から同時に発表され、これまでいわれてきたDEP中のニトロアレン等の発がん物質の実際の発がんに及ぼす意義が議論を呼んでいる。

一方、近年、活性酸素が発がん重要な役割を果たしていることが明らかにされている。我々は先に、DEPそれ自身が活性酸素を発生し、これによりぜん息様病態が発症することを示した。このときに生じる活性酸素が肺においてがんを発生させる可能性も考えられる。それを証明するために我々は上に述べた実験を行った。

活性酸素がDEPによる発がんに関与しているかどうかを調べる研究の一つとして、高脂肪食摂取は生体内の胆汁酸代謝に影響するとともに、過酸化脂質をはじめとする多量の活性酸素を生成することが知られているので、高脂肪食 (16%コーン油含有食) と普通脂肪食 (4%コーン油含有食) との間の肺がんの発生率を比較し、発がんにおける活性酸素の役割を検討した。その結果、たとえば0.05mgのDEP投与の高脂肪食群では悪性腫瘍 (腺がん) が普通脂肪食群の5倍に増加していることを見いだした (図29-a)。一方、この発がんのプロセスに本当に活性酸素が関与しているとするならば、活性酸素を消去する作用を持つ物質を投与すると発がん率は著明に低下することが予想される。これに関して、本実験では高い活性酸素消去能を持つβ-カロチンを含む飼料を与え発がん率を調べたところ、0.05mgのDEP投与群では30匹中5匹いた悪性腫瘍動物は0匹になった (図29-b) ことを見いだした。これらのことから、DEPによる発がんには活性酸素が深く関与している可能性が示唆された。

しかしながら、ブラウンホッファー研究所やITRIなどの研究結果から考えると、我々のDEP投与による発がん

はDEPそのものが発生する活性酸素によると考えるよりは、肺胞内のマクロファージ等の貪食細胞がDEPを貪食し、これを処理しようとする時に放出する活性酸素による可能性もあると考えられる。また、DEPによる発がんには、DEPが肺内で発生したがん細胞を殺してしまう、いわゆる免疫監視細胞の機能低下をまねく可能性も考えられる。最近、 $\beta$ -カロチンはこのような免疫監視機能を活性化する作用もあることが知られるに及んで、このような可能性が考えられるわけである。

これらの事実から、従来のように、DEP中の発がん物質の変異原性試験ばかりでなく、今後は、発がんにおける活性酸素の役割やマクロファージやTリンパ球などの免疫監視機能の検討も非常に重要な研究課題として実験される必要があると考える。このような広範なメカニズムの検討によって、はじめてDEP発がんの真のリスク評価も可能になるのものと考えられる。

#### 2.5.5 まとめ

今回の研究により、ディーゼル排気中の主要な汚染物質であるNO<sub>2</sub>は、それ自身には発がん性はないが、発がん物質(BHPN)を1回投与してイニシエーションをかけた場合には発がん性を増強させるプロモーション作用を示すことがラットの実験で認められた。なお、発がん促進作用を示すNO<sub>2</sub>濃度は比較的高濃度で、4ppmNO<sub>2</sub>暴露群で観察された。一方、それ以下の0.04ppmあるいは0.4ppmレベルでは発がん促進効果は認められなかったが、BHPN投与後、0.05ppmのO<sub>3</sub>暴露下で、腫瘍発生率は8.3%(36匹中3匹)であったのに対し、0.4ppmNO<sub>2</sub>の共存下では13.9%(36匹中5匹)に増加し、しかも悪性腫瘍の発生も認められ、複合暴露による相乗効果が認められた。また、1mg/m<sup>3</sup>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>のエアロゾルとの共存下での腫瘍発生率は8.3%(36匹中3匹)で0.4ppmNO<sub>2</sub>単独暴露よりも高い値が得られ、悪性腫瘍も認められた。なお、NO<sub>2</sub>に限らず、O<sub>3</sub>単独、NO<sub>2</sub>+O<sub>3</sub>およびNO<sub>2</sub>+H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>ミストなどの大気汚染物質のみの暴露では30~36匹中に腫瘍動物は1匹も出現せず、大気汚染物質だけの吸入で腫瘍が起こる確率は極めて低く、実際の発がんの場合には他の環境要因との複合化が重要であることが示唆された。

次に、ディーゼル排気(DE)中のもう一つの主要汚染物質であるディーゼル排気微粒子(DEP)の腫瘍に及ぼす影響をマウスを用いて調べた。DEPはマウス1匹当た

りに0.05mg、0.1mgおよび0.2mgを1週間に1回ずつ、10週間にわたって気管内投与し、1年後に全例屠殺した。なお、上に述べたごとく、発がんには大気汚染物質以外の環境因子が深くかかわっていることから、それら環境因子の中で最も発がんに及ぼす影響が強いと考えられている食事因子、なかんずく高脂肪食摂取と酸化因子としての $\beta$ -カロチン添加の効果に焦点を当てて調べた。その結果、DEPによる腫瘍発生率は0.1mgのDEP投与群で最も高く、さらに高脂肪食摂取によってその発生が有意に促進され、さらに悪性腫瘍の発生率も4~5倍に増加していた。また、 $\beta$ -カロチンを飼料に添加して与えた群では悪性腫瘍の発生率は著しく低下していた。一方、これまで、Shekellら<sup>32)</sup>、Menkesら<sup>33)</sup>、Waldら<sup>34)</sup>、Nomuraら<sup>35)</sup>、Stahelinら<sup>36)</sup>、LeGandeurら<sup>37)</sup>によって緑黄色野菜に多く含まれている $\beta$ -カロチンやビタミンEがヒトの肺がんや気管支がん等のリスクを低減させることが報告されている。これらのことから、ヒトの肺がん予防において、高脂肪、高カロリー食をさげ、 $\beta$ -カロチン等の抗酸化性物質を沢山含む緑黄色野菜や果物の多量摂取がヒトのがんを防ぐとする免疫学的調査結果を間接的に支持する実験結果を得ることができた。

#### 2.6 浮遊粒子状物質(SPM)の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

本研究課題では、沿道住民の生活環境における浮遊粒子状物質(SPM)の個人暴露量を推定するための基礎的な資料を得るため、東京都内の幹線道路周辺地域において家屋内外のSPM濃度およびNO<sub>2</sub>濃度と各個人暴露濃度を同時に測定し、道路と住宅の距離による濃度の差、各濃度間の関連、大気汚染常時監視測定局データとの対応等について検討した。

##### 2.6.1 幹線道路周辺における夏期のSPM、NO<sub>2</sub>濃度

調査地区は東京都板橋区内の中山道周辺で、喫煙者がなく、高層住宅を除いた18世帯を対象とし、1990年8月の6日間にわたって実施した<sup>38)</sup>。SPMの環境濃度は、我々の開発した小型サンプラーを屋内(居間)、屋外(軒下)に設置して測定した。このサンプラーは浮遊粒子の粒径を2 $\mu$ m以下、2 $\mu$ m~10 $\mu$ m、10 $\mu$ m以上に分級捕集するカスケード・インパクターで、後の2段の合計濃度がSPM濃度に相当する。SPMの個人暴露濃度は全く同じ構造でさらに小型の個人サンプラーを対象家屋の住人



(主に主婦、退職者)に携帯してもらい測定した。NO<sub>2</sub>濃度はフィルターパッチ式簡易サンプラーを屋内(居間、台所、寝室の3ヶ所)と屋外(軒下)および個人に装着して測定した。SPMは48時間ごとに、家屋内と外は3回、個人についてはこの内1回測定し、NO<sub>2</sub>は24時間ごとに6回測定した。なお、測定期間中に喫煙者の来訪あるいは線香類の使用があった家はSPM濃度の解析対象から除いた。

図31に各世帯3回測定した家屋内と外のSPM濃度の関係を示す。□は沿道、△は中山道から50m以上離れた家の濃度を示している。この結果から、測定日による濃度変動が家の位置(道路からの距離)による差よりも大きいことが分かる。同じ沿道家屋であっても、屋外濃度は広い範囲に分布しており、道路の東側と西側、塀などの構造物や立地条件としての高低差などの条件が影響したものと考えられる。各対象家屋の屋外と屋内のSPM濃度の相関係数( $r$ )は全体で0.68であったが、2 $\mu$ m以下の粒子の相関が高く( $r=0.76$ )、10 $\mu$ m以上の粒子濃度には相関はなかった( $r=0.15$ )。

図32にSPM個人暴露濃度と屋内、屋外のSPM濃度との関係を示す。このときの家屋内外濃度の相関係数は0.76である。個人暴露調査の対象者は外出時間が短かったため、屋内(居間)の濃度との相関は非常に高かった( $r=0.914$ )。また、屋外SPM濃度との相関も高かった( $r=0.858$ )。

図33にはNO<sub>2</sub>の個人暴露濃度と居間あるいは屋外のNO<sub>2</sub>濃度との相関を示す。SPMにおける場合と同様、ともに高い相関を示し、居間や台所との相関の方が屋外との相関よりも高かった。また屋外と居間のNO<sub>2</sub>濃度の相関係数も0.75と高かった。

SPMとNO<sub>2</sub>の濃度間にも屋外、居間とも高い相関(屋外 $r=0.798$ 、居間 $r=0.612$ )がみられた(図34-a, b)。別の沿道地区における夏期の調査でも同様の結果(屋外 $r=0.92$ 、居間 $r=0.78$ )が得られており、SPM、とNO<sub>2</sub>共通の発生源である自動車の寄与を反映していることが示唆された。

夏期においては、家屋内に暖房などのNO<sub>2</sub>の発生源がなく、窓を開放している時間も長いことから、SPM、NO<sub>2</sub>とも屋外濃度、屋内濃度、個人暴露濃度の相互間に相関がみられた。しかし、家屋周辺的环境や家屋構造等は、個々の状況が異なり、道路からの距離や家屋内外の濃度の相関を下げることになる。

常時監視測定局2地点と幹線道路交差点で、ローボリューム・アンダーセンサンプラーにより粒径別に捕集し、粒子中の多環芳香族炭化水素濃度を測定した<sup>39)</sup>。発がん物質であるベンゾ(a)ピレン(BaP)濃度は、2 $\mu$ m以下の微小粒子において高かった(図35-a)。また、粒径別の粒子重量当たりのBaP濃度は、粒径が小さいほど高く、3地点間に差はなく、大気中の微粒子濃度が大気中BaP濃度を反映していた(図35-b)。対照として同時期に国立環境研究所(つくば市)で捕集した粉じんと比較すると、大気中の濃度はつくば市の4~7倍であったが、粒子当たりの濃度は約2倍で、これまでに我々が報告した結果を確認するものであった<sup>40,41)</sup>。SPMの個人暴露濃度測定、健康影響評価のためには、粒径による呼吸器への沈着率の違いと粒子の有害性を考慮し、SPMを粒径でさらに分けて測定・検討する必要性が示された。

## 2.6.2 沿道住宅の長期SPM、NO<sub>2</sub>濃度調査

年間のSPM暴露量を推定する基礎データを得るために、季節ごとに濃度測定を繰り返し、屋外濃度、屋内濃度、個人暴露濃度の相互の関連について、家屋ごとに詳細に検討した。対象は、前述の板橋区の調査対象家屋の中から、長期にわたって協力が得られる沿道周辺7世帯(いずれも喫煙者のいない一般住宅)と2ヶ所の常時監視測定局とした<sup>42)</sup>。調査は1992年1~12月の間に、環境濃度(屋内・屋外SPM濃度)測定を暖房期、非暖房期各8週間の16週間実施し、このうち個人暴露濃度測定(各48時間)を11回実施した。個人暴露調査時以外のSPM環境濃度測定は、週日(月~金の4日間)と週末(金~月の3日間)に分けた。さらに、タイマーにより昼間(6~20時)と夜間(20~6時)に分けて捕集し、家屋ごとの家屋内外SPM濃度変動の特性、SPM個人暴露濃度と環境濃度の対応に関する検討を行った。また、同時にフィルターパッチを用い、NO<sub>2</sub>の家屋内外、個人暴露濃度を測定した。

屋外SPM濃度は、主要な発生源と考えられる中山道の自動車交通量を反映して、夜間<昼間、週末<週日の傾向が現れており、この変動の方が沿道と後背地の濃度差より大きかった。屋内SPM濃度変動についても同様の傾向がみられた。

家屋内外のSPM濃度には全体で有意な正の相関がみられたが、各家屋ごとにみるとさらに高い相関を示した。対象家屋ごとに屋外濃度から屋内濃度への回帰直線を求

めると、その傾きは昼間で0.7~1.0、夜間ではこれより小さい0.5~0.8で家屋による違いがみられた。図36にSPM濃度の家屋内外濃度の事例を示す。Aは沿道、Bは対象の後背地で、□は暖房期、×は非暖房期を示す。平均

濃度はいずれも暖房期の方が高いが、測定日ごとの濃度のバラツキが大きいことが分かる。また、これらの例では傾きに違いがみられず、相関係数はそれぞれ0.98と0.90である。

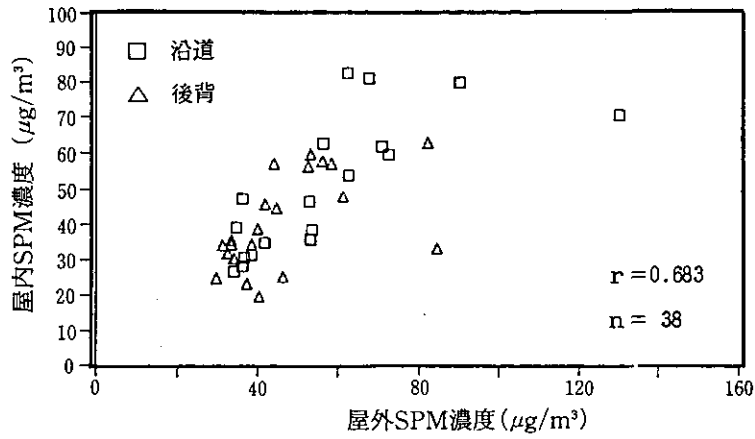


図31 沿道と後背地（沿道から50m以上離れた所）の家屋内外のSPM濃度との間の相関

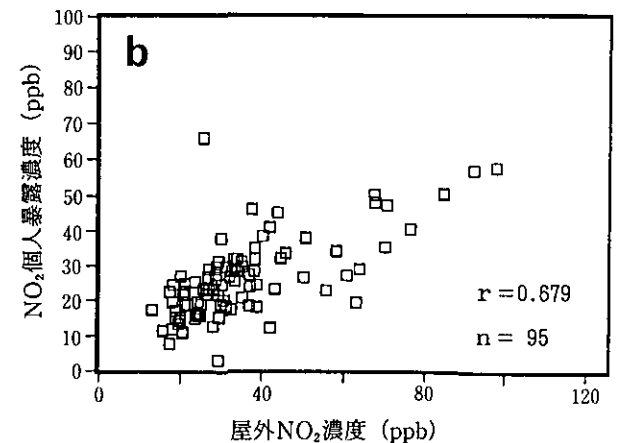
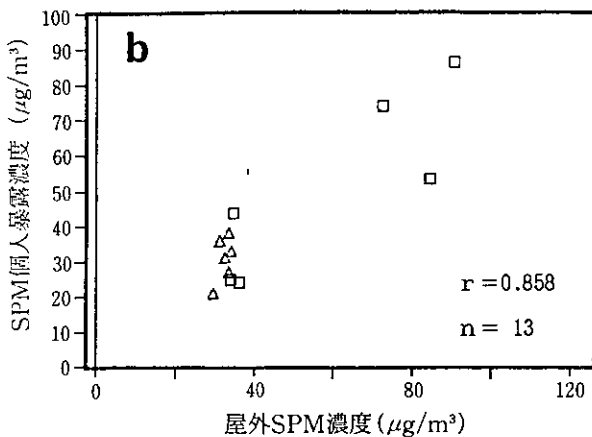
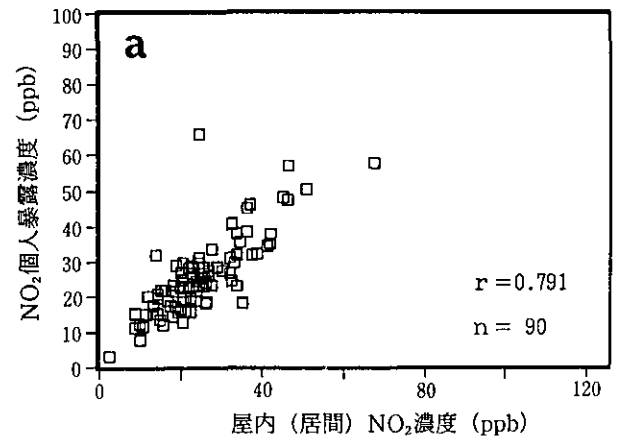
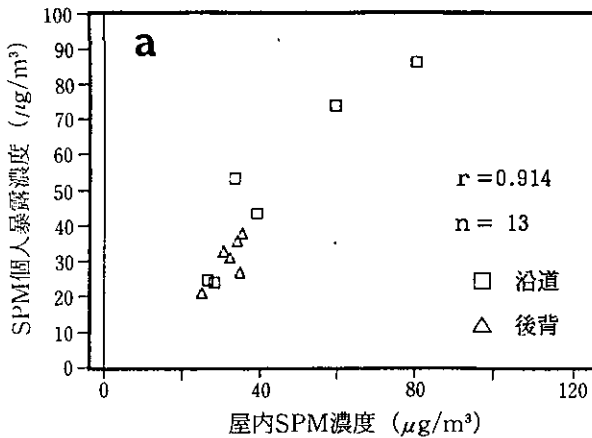


図32 家屋内外のSPM濃度とSPMの個人暴露濃度との間の相関

図33 屋外および居間のNO<sub>2</sub>濃度とNO<sub>2</sub>個人暴露濃度との間の相関

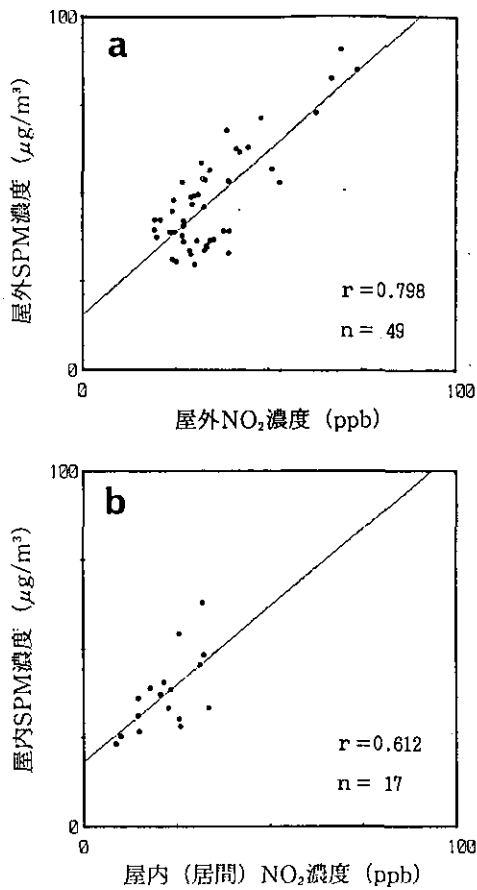


図34 屋外および居間のNO<sub>2</sub>濃度とSPM濃度との間の相関

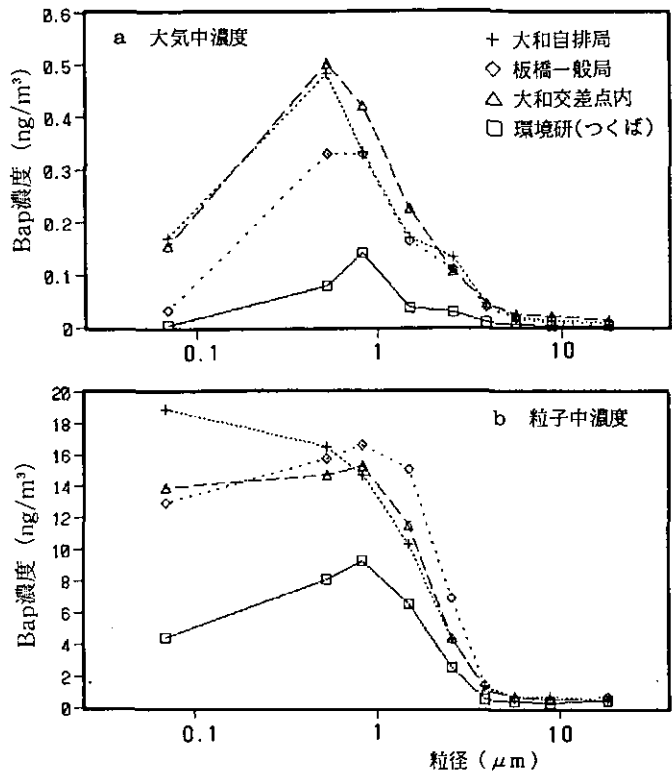


図35 ベンゾ(a)ピレン (BaP) の粒径別濃度 (1990年8月測定)

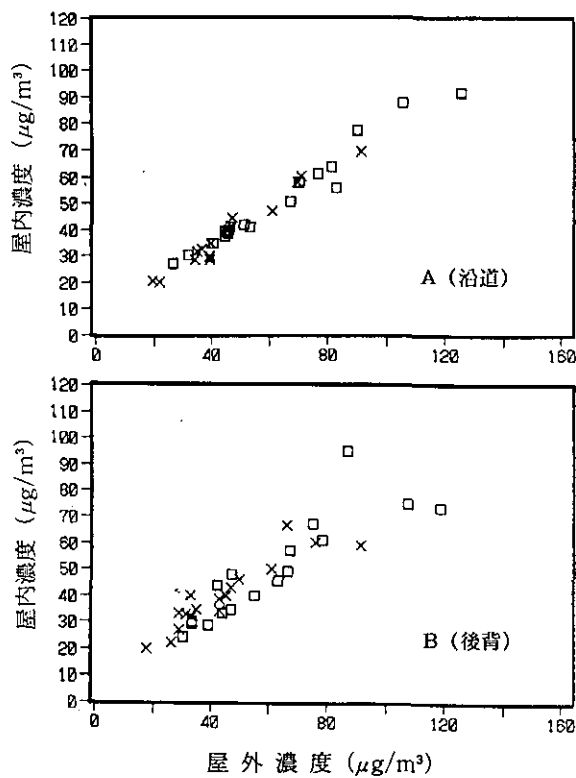


図36 同一家屋における家屋内外のSPM濃度の変動  
□は暖房期, ×は非暖房期を示す

暖房期（1～3月，12月の調査）と非暖房期に分けて比較すると，暖房期の傾きがわずかに大きかった。SPM濃度とNO<sub>2</sub>濃度の間には，ほとんどの家で高い相関がみられたが，暖房期は開放型ストーブ使用世帯が多かったため，屋内での相関はみられなかった。

調査地域内の常時監視測定局のSPM濃度と，各家ごとの屋外SPM濃度，屋内SPM濃度との相関は高く，家屋ごとに係数を求めることができれば，測定局データから屋内SPM濃度を推定することも可能であると考えられる。

SPM個人暴露濃度と屋内濃度との関係も，個人別の相関係数は0.74～0.99と高いが，回帰直線の傾きやY切片の値に幅があるため，全体を一括した時の相関係数はやや低くなる<sup>43)</sup>。また，個人暴露測定期間に限ると，家屋内外のSPM濃度にも0.91の高い相関がみられたので，個人暴露濃度と屋外濃度にも有意な相関がみられた（ $r=0.833$ ）（図37，図中の1～7は対象番号）。

対象者の行動時間調査記録（1～3月，6月）をもとに，家屋内外の各濃度と家屋内外の滞在時間をかけてSPM個人暴露濃度推定値を求めた。この推定値は，対象者の屋内の滞在時間が長かったため，屋内（居間）濃度に非常に近いものになった。したがって，この推定値と個人サンプラーによる測定値との関連は，屋内濃度と個

人暴露濃度との関連と同様の対応を示した（図38）。相関係数は0.79で，95%の推定誤差は $\pm 16\sim 18\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。このようにSPMについて，環境濃度だけから個人暴露濃度を精度よく推定することはできないが，この調査では沿道住民のSPM個人暴露濃度は屋外濃度に比べ30～50%程度低いレベルであることが示された。

### 2.6.3 まとめ

大気汚染物質の中で，特にSPMの濃度が高い大都市幹線道路沿道住民を対象に，SPMとNO<sub>2</sub>の家屋内外濃度，個人暴露濃度の測定を行った。

沿道家屋の屋外SPM濃度は，後背地（沿道から50m以上）より高いが，測定地点による濃度のバラツキは大きく，また測定日による濃度変動も大きかった。外出時間が短い人のSPMとNO<sub>2</sub>の個人暴露濃度は，屋内（居間）濃度と非常によく相関し，家屋の内と外の濃度間の相関が高い夏期には，屋外濃度との相関も高かった。

家屋ごとの長期測定の結果，家屋内外のSPM濃度は高い相関を示し，その回帰直線の傾きが家ごとに異なっていた。調査地域内の常時監視測定局のSPM濃度と，屋外，屋内SPM濃度との相関は高いが，測定局データから屋内SPM濃度を推定するには，家屋の類型別に係数を求める

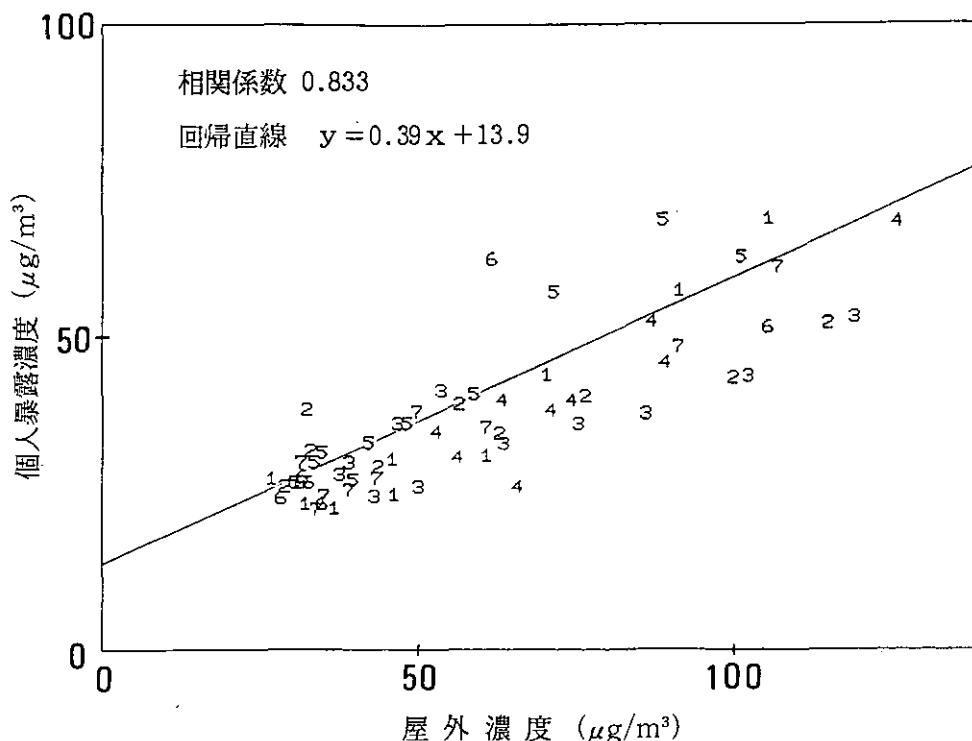


図37 SPMの個人暴露濃度とSPMの屋外濃度との間の相関

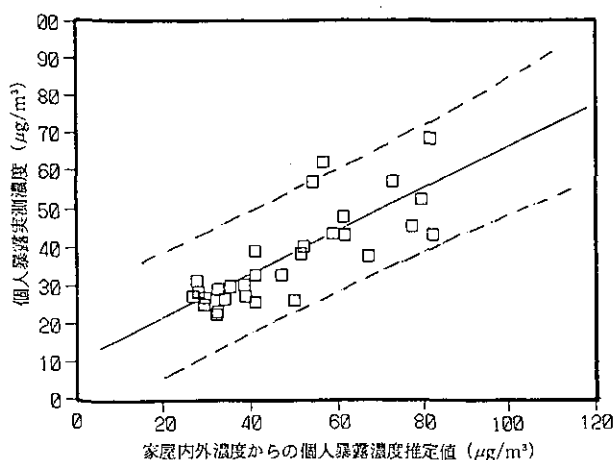


図38 SPMの個人暴露濃度の推定値と実測値の比較

必要があり、今後の課題とされる。

個人暴露濃度の推定にはさらに個々人の行動様式で区別する必要があるが、今回の主婦や退職者に限ってみても家屋内外濃度だけからでは、かなりの幅を見込む必要がある。実際には、喫煙や他の粉じんの発生源があれば、この濃度に乗せられることになる。しかし、これは大気汚染レベルに比べ高濃度でバラツキも大きいので、これを含めた推定は困難であろう。

SPM中の有害成分として、BaP濃度を測定し、 $2\mu\text{m}$ 以下の微小粒子中に高濃度であることを確認した。我々は以前の調査で、夏期には家屋内外のBaP濃度による相関があり、BaPの個人曝露濃度も家屋内BaP濃度と有意な相関のある結果を得ている。今回の結果と合わせると、健康影響評価のためには、SPMをさらに細かい粒径ごとに分けて測定・検討する必要があることが示された。

#### 引用文献

- 1) 宮本昭正 (1987年) : アレルギー性疾患は増えているか、調査結果と原因, 国際医学出版。
- 2) Heinrich, U., Fuhst, R., Dasenbrock, C., Muhle, H., Koch, W., Mohr, U. (1992): Long term inhalation exposure of rats and mice to diesel exhaust (DE), carbon black (CB) and titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ), The 9th Health Effect Institute Annual Conference Dec., Monterey, California. (Abstr) 15p.
- 3) Mauderly, J.L., Snipes, M.B., Barr, E.B., Belinsky, S. A., Bechtold, W.E., Griffith, W.C., Handerson, R.F., Mitchell, C.E., Nikula, K.J. (1992): Influence of particulate-associated organic compounds on carcinogenicity of diesel exhaust. The 9th Health Effect Institute Annual Conference, Dec., Monterey, California. (Abstr) 19p.
- 4) McClellan, R.O. (1989): Health effects of exposure to

- diesel exhaust particles. *Ann.Rev.Pharmacol. Toxicol.*, 27, 279-300.
- 5) Muranaka, M., Suzuki, S., Koizumu, K., Takafuji, S., Miyamoto, T., Tokiwa, H. (1986): Ajuvant activity of diesel-exhaust particles for the production of IgE antibody in mice. *J.Allergy Clin. Immunol.*, 77, 616-621. 村中正治ら (1986) : 花粉アレルギーの増加と大気汚染, 日本医事新報, No. 3180, (昭和60年4月6日号, 26-32.
- 6) Wade, J.F., Newman, L.S. (1993): Diesel asthma, Reactive airways disease following over exposure to lcomodative exhaust. *J. Occup. Med.*, 35, 149-154.
- 7) Gamble, J., Jones, W., Minshall, S. (1987): Epidemiological-environmental study of diesel bus garage workers: Chronic effects of diesel exhaust on the respiratory system. *Environ. Res.*, 44, 6-17.
- 8) 環境庁大気保全局 (1991) : 「大気汚染健康影響継続観察調査検討会報告書」(昭和61~平成2年度)
- 9) 宮地一馬ら (1969) : 四日市地域における大気汚染と呼吸器疾患, 日本胸部臨床, 28, 250.
- 10) 河合健ら (1984) : 気管支ぜん息と大気汚染の研究 -いわゆる川崎ぜん息の臨床的特徴-. *日胸疾会誌*, 22, 175.
- 11) 田中隆信ら (1984) : 学童の呼吸器症状有症率と受動喫煙-大気汚染, 血清IgEについて-, *日本公衆衛生学雑誌*, 31, (特別号) 703.
- 12) Barnes, P.J., Chung, K.F., Page, C.P. (1988): Inflammatory mediators and asthma, *Pharmacol. Rev.*, 40, 49-84.
- 13) Shy, C.M., Creason, J.P., Pearlman, M, E., McClain, K. E., Benson, F.B. (1970): The Chattanooga School Children Study: Effects of community exposure to nitrogen dioxide. II. Incidence of acute respiratory illness. *J. Air. Poll. Cont. Assoc.*, 20, 582-588.
- 14) Pearlman, M.E., Finklea, J.F., Creason, J.P., Shy, C.Y., Young, M.M., Horton, R.J.M. (1971): Nitrogen dioxide and lower respiratory illness. *Pediatrics*, 47, 391-398
- 15) Sagai, M., Saito, H., Ichinose, T., Kodama, M., Mori, Y. (1993): Biological effects of diesel exhaust particulates. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radical Biol. Med.*, 14, 37-47
- 16) 嵯峨井勝・古山昭子・市瀬孝道 (1993) : ディーゼル排気微粒子 (DEP) のマウスへの気管内投与によるぜん息様病態の発現について、-特に活性酸素産生を介した影響を中心として-. *大気汚染学会誌*, 28, 258-265.
- 17) 嵯峨井勝・古山昭子・市瀬孝道 (1993) : ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響, 5報. ぜん息様病態の発現~粘液質の過分泌と好酸球の浸潤~, 第34回大気汚染学会講演要旨集, pp.438.
- 18) International Consensus Report on Diagnosis and Management of Asthma. (1992) *Clin. Exp. Allergy.*, 22 (Suppl), 1-72. 日本語版は「ぜん息の診断と管理のための国際委員会報告」のタイトルでライフサイエンス出版より刊行
- 19) 藤巻秀和 (1990) : 環境汚染要因による免疫学的影響,

「IgE抗体産生と環境因子（メディカルトリビューン社）」pp.153-156.

- 20) Fujimaki, H., Katayama, K., Wakamori, K. (1992): Enhanced histamine release from lung mast cells of guinea pigs exposed to sulfuric acid aerosols. *Environ. Res.*, 58, 117-123.
- 21) 兼子順男ら (1979): 大気汚染地域と非大気汚染地域下に於ける学童生徒の鼻疾患罹患状況およびわが国の鼻疾患の変遷について. 耳鼻科展望, 1-49.
- 22) Silbaugh, S.A., Mauderly, J.L., Macken, C.A. (1981): Effects of sulfuric acid and nitrogen dioxide on airway responsiveness of the guinea pig. *J. Toxicol. Environ. Health*, 8, 31-45.
- 23) 石山康子・池森亮介・小泉一弘・石崎 達 (1986): 大気汚染とスギ花粉の及ぼす影響. アレルギー, 35, 892.
- 24) Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., Tadokoro, K., Miyamoto, T., Ikemori, R., Muranaka, M. (1987): Diesel-exhaust particles inoculated by the intranasal route have an adjuvant activity for Ig E production in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 639-645.
- 25) 高野佐知子 (1993): モルモット鼻炎モデルを用いたヒスタミン誘発鼻炎症状に対する各種ヒスタミン受容体拮抗薬の影響, ならびにアレルギー性鼻炎発症におけるディーゼル排気微粒子の影響. 星薬科大学大学院修士課程卒業論文: 指導教員・三澤美和教授.
- 26) 奥田 稔 (1991): 鼻アレルギー, 金原出版, 東京, 101-112.
- 27) Ichinose, T., Fujii, K., Sagai, M. (1991): Experimental studies on tumor promotion by nitrogen dioxide. *Toxicology*, 67, 21-225.
- 28) Ichinose, T., Sagai, M. (1992): Experimental study on promotion effects of combination exposure of NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> on lung tumor formation in rats. *Toxicology*, 74, 173-184.
- 29) 市瀬孝道・嵯峨井勝 (1993. 千葉): ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響: 6 報, 肺腫瘍発生と高脂肪食及びβ-カロチン食の影響. 第34回大気汚染学会講演要旨集 pp.447.
- 30) 岩井和郎・河端美則・宇田川忠・佐藤秀隆・林祐造 (1992): ディーゼル排気粒子成分の人肺がんリスク計算. I. 動物実験からの計算値, 大気汚染学会誌, 27, 289-295.
- 31) 岩井和郎・河端美則・宇田川忠・佐藤秀隆・林祐造・黒岩哲生 (1992): ディーゼル排気粒子成分の人肺がんリスク計算. II. 疫学データからの計算と動物実験および人肺沈着粒子量からの計算値の比較, 大気汚染学会誌, 27, 296-303
- 32) Shekelle, R.B., Lepper, M., Liu, S., Malza, C., Raynor, W. J., Rossof, A.H. (1981): Dietary vitamin A and risk of cancer in the Western Electric Study. *Lancet*, 2, 1185
- 33) Menkes, M.S., Comstock, G.W., Vuilleumier, J.P., Helsing, K.J., Rider, A.A., Brookmeyer, R. (1986): Serum beta-carotene, vitamins A and E, selenium, and the risk of lung cancer. *New Engl. J. Med.*, 315, 1250.
- 34) Wald, N.J., Thompson, S.G., Densen, J.W., Boreham, J., Bailey, A. (1988): Serum vitamin E and beta-carotene and subsequent risk of cancer. Results from the BUPA study. *Br. J. Cancer*, 57, 428-433.
- 35) Nomura, A.M.Y., Stemmermann, G.N., Heilbrun, L.K., Salkeld, R.M., Vuilleumier, J.P. (1985): Serum vitamin levels and the cancer of specific sites in men of Japanese ancestry in Hawaii. *Cancer Res.*, 45, 2369.
- 36) Stahelin, H.B., Gey, K.F., Eichholzer, M., Ludin, E., Bernasconi, F., Thurneysen, J., Brubacher, G. (1991): Plasma antioxidant vitamins and subsequent cancer mortality in the 12-year follow-up of the prospective Basel study. *Am. J. Epidemiol.* 133, 766-775.
- 37) LeGardeur, B.Y., Lopez-S, A., Johnson, W.D. (1990): A case-control study of serum vitamin A, E and C in lung cancer patients. *Nutr. Cancer.*, 14, 133p.
- 38) 田村憲治・安藤 満・松本 理・嵯峨井勝・松本幸雄・新藤純子 (1991): 幹線道路周辺家屋内外のSKM濃度とNO<sub>2</sub>濃度(3), 第32回大気汚染学会講演要旨集, p.200.
- 39) 安藤 満・松本 理・田村憲治 (1991): 大気中多環芳香族化合物および変異原活性の粒度分布, 第32回大気汚染学会講演要旨集, p.241.
- 40) 安藤 満・田村憲治・松本 理 (1990): 交差点近傍における浮遊粒子状物質および多環芳香族化合物の家屋内外濃度, 日本衛生学雑誌, 45, 1007-1013.
- 41) Ando, M., Tamura, K., Katagiri, K. (1991) Study on suspended particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor and outdoor air. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 63, 297-301.
- 42) 田村憲治・安藤 満 (1991): 大都市沿道住民のSKM長期暴露評価, 日本公衆衛生学雑誌, 39, 20.
- 43) 田村憲治 (1992): 家屋内外のSKM濃度によるSPM個人暴露濃度の推定, 第33回大気汚染学会講演要旨集, p.165.

# [資 料]

## I 研究の組織と研究課題の構成

### 1 研究の組織

#### [A 研究担当者]

環境生理部 部長	横山 栄二	(昭和63年度)
部長	小泉 明	(平成元年度)
環境生理研究室	河田 明治	(昭和63年度～平成元年度)
	鈴木 明	(昭和63年度～平成元年度)
	局 博一	(昭和63年度)
	野原 恵子	(昭和63年度～平成元年度)
環境病理研究室	彼谷 邦光	(昭和63年度～平成元年度)
	藤巻 秀和	(昭和63年度～平成元年度)
	米元 純三	(昭和63年度～平成元年度)
	白石不二雄	(昭和63年度～平成元年度)
	河越 昭子	(昭和63年度～平成元年度)
環境生化学研究室	三浦 卓	(昭和63年度～平成元年度)
	持立 克身	(昭和63年度～平成元年度)
	国本 学	(昭和63年度～平成元年度)
	高橋 勇二	(昭和63年度～平成元年度)
慢性毒性研究室	嵯峨井 勝	(昭和63年度～平成元年度)
	小林 隆弘	(昭和63年度～平成元年度)
	市瀬 孝道	(昭和63年度～平成元年度)
	山根 一祐	(昭和63年度～平成元年度)
	佐野 友春	(昭和63年度～平成元年度)
環境保健部		
人類生態研究室	鈴木 和夫	(昭和63年度～平成元年度)
	平野靖史朗	(昭和63年度～平成元年度)
	杉平 直子	(昭和63年度～平成元年度)
技術部		
動物施設管理室	高橋 弘	(昭和63年度～平成元年度)
	高橋 慎二	(昭和63年度～平成元年度)
	清水 明	(昭和63年度～平成元年度)
	伊藤 勇三	(昭和63年度～平成元年度)
	山元 昭二	(昭和63年度～平成元年度)
地域環境研究グループ 上席研究官	三浦 卓	(平成2～4年度)
大気影響評価研究チーム	嵯峨井 勝	(平成2～4年度)
	小林 隆弘	(平成2年度)
	安藤 満	(平成2～4年度)
	市瀬 孝道	(平成2～4年度)
	熊谷 嘉人	(平成4年度)



環境健康部

生体機能研究室	小林 隆弘	(平成3～4年度)
	山根 一祐	(平成2年度)
病態機構研究室	藤巻 秀和	(平成2～4年度)
	古山 昭子	(平成2～4年度)
環境疫学研究室	田村 憲治	(平成2～4年度)
化学環境部		
化学毒性研究室	白石不二雄	(平成2～3年度)

[B 客員研究員]

森 洋樹	(東日本学園大学・薬学部)	(平成元年～4年度)
南 勝	(東日本学園大学・薬学部)	(平成元～4年度)
林 英幸	(東日本学園大学・薬学部)	(平成元年～4年度)
富田多嘉子	(静岡県立大学・生活健康科学研究科)	(平成2～4年度)
児玉 昌彦	(国立がんセンター研究所・生物物理部)	(平成元年～4年度)
三澤 美和	(星薬科大学・薬理学)	(平成2～4年度)
葛西 宏	(産業医科大学・産業生態科学研究所)	(平成元年～4年度)
吉川 敏一	(京都府立医科大学・第一内科)	(平成元年～4年度)
川西 正祐	(京都大学・医学部・公衆衛生)	(平成4年度)
本多 芳男	(慈恵会医科大学・耳鼻咽喉科)	(昭和63年度～平成4年度)
今井 透	( // // // )	(昭和63年度～平成4年度)
野原 修	( // // // )	(昭和63年度～平成4年度)
大田 健	(帝京大学・医学部・第二内科)	(平成4年度)

2 研究課題と担当者 (\*客員研究員, \*\*共同研究員)

(1) 粒子状物質とNO<sub>2</sub>等の複合暴露装置の作成と暴露条件の検討

嵯峨井勝・田村憲治・小林隆弘

(2) 粒子状物質とNO<sub>2</sub>等の呼吸器疾患との関連に関する研究

①気道過敏性に関する研究

嵯峨井勝・市瀬孝道・小林隆弘・山根一祐・大田 健

②アレルギー反応に関する研究

嵯峨井勝・市瀬孝道・藤巻秀和・古山昭子・三澤美和・本多芳男・今井 透・野原 修

③呼吸器系腫瘍発生に関する研究

嵯峨井勝・市瀬孝道・児玉昌彦・葛西 宏

(3) 粒子状物質とNO<sub>2</sub>等の生体影響評価手法に関する研究

①末梢リンパ球のDNA傷害を指標とした影響評価手法の開発

白石不二雄

②指標酵素誘導による影響評価手法の開発

高橋勇二

③フリーラジカル産生能による影響評価手法の開発

嵯峨井勝・市瀬孝道・熊谷嘉人・森 洋樹・林 英幸・南 勝・富田多嘉子・児玉昌彦・  
吉川敏一・川西正祐

④肺傷害に係わる感受性の動物種差の解析

嵯峨井勝・市瀬孝道・高橋慎二

(4) 粒子状物質の生体内挙動と毒性発現機構に関する研究 (本課題は平成元年度で終了)

鈴木和夫・平野晴史朗・杉平直子

(5) 粒子状物質の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

田村憲治・安藤 満

## II 研究成果発表一覧

### 1 誌上発表

発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
[昭和63年度] T. Ichinose, K. Arakawa, N. Shimojo, M. Sagai,	Biochemical effects of combined gases of nitrogen dioxide and ozone. II. Species differences in lipid peroxides and antioxidative protective enzymes in the lungs.	Toxicol. Lett.	42	167-176	1988
嵯峨井勝	第25章, 大気汚染物質	「トキシコロジー」同文書院	II	831-854	1988
安藤 満, 田村憲治	幹線道路沿道の家屋内外における浮遊粒子状物質および多環芳香族化合物濃度の研究	大気汚染学会誌	23	342-348	1988
田村憲治, 金子 勇, 小野雅司, 村上正孝	国保レセプトデータの蓄積状況と疾病統計のまとめ方に関する調査	日本公衆衛生学雑誌	35	486-491	1988
[平成元年度] T. Ichinose, M. Sagai,	Biochemical effects of combined gases of nitrogen dioxide and ozone. III. Synergistic effects on lipid peroxidation and antioxidative protective systems in the lungs of rats and guinea pigs	Toxicology	59	259-270	1988
H. Witschi 嵯峨井勝	オゾンおよび二酸化窒素と肺がん—最近の知見と問題点—	大気汚染学会誌	24	1-20	1989
安藤 満, 田村憲治 松本 理	家屋内外におけるSPM及び多環芳香族化合物濃度に関する研究	国立公害研究所特別研究報告書	SR-2	10-16	1989
田村憲治, 安藤 満	スパイクタイヤ使用に伴う粉じん発生状況と住民の健康調査	国立公害研究所特別研究報告書	SR-2	16-22	1989
小林隆弘, 三浦 卓	SPMについて	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システムのあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		64-76	1989
嵯峨井勝	浮遊粒子状物質(エアロゾル)の生体影響, 特に生化学的影響について	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システムのあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		77-86	1989
H. Fujimaki	Impairment of humoral immune responses in mice exposed to nitrogen dioxide and ozone mixtures	Environ. Res.	48	211-217	1989

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ペー ジ	刊年
H. Fujimaki, A. Kawagoe, M. Ozawa, J. Yonemoto, N. Watanabe	Effects of instillation of fly ash in the lung. - Physicochemical properties and immune responses -	Am. Rev. Respir. Dis.	140	525-528	1989
Y. Takahashi, T. Miura,	A selective decrease in the xenobiotic metabolizing activity of rat lungs by nitrogen dioxide exposures	Toxicology	54	281-296	1989
Y. Takahashi, T. Miura,	Effects of nitrogen dioxide and ozone in combination on xenobiotic metabolizing activities of rat lungs	Toxicology	56	253-262	1989
[平成2年度] 嵯峨井勝, 市瀬孝道, 佐野友春, 村上正孝, 藤井敬二	二酸化窒素の肺腫瘍発生促進作用に関する実験的研究	大気汚染学会誌	25	324-333	1990
安藤 満, 田村憲治, 松本 理	交差点近傍における浮遊粒子状物質および多環芳香族化合物の家屋内外濃度	日本衛生学会雑誌	45	1007-1013	1990
T. Kobayashi, Y. Shinozaki	Effect of subacute exposure to nitrogen dioxide on the airway responsiveness of guinea pig	Agents Action	31	71-74	1990
小林隆弘	大気汚染物質の単独および複合暴露が気道反応性に及ぼす影響	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システム のあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		3-25	1990
小野雅司, 田村憲治, 村上正孝	沿道大気汚染とその健康影響評価	日本リスク研究学会誌	2	67-71	1990
M. Murakami, M. Ono, K. Tamura	Health problems of residents along heavy-traffic roads	Journal Human Ecology	19	101-106	1990
村上正孝, 小野雅司	患者調査との比較による国保レセプトデータの信頼性の検討	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システム のあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		53-66	1990
H. Fujimaki, F. Shiraishi, A. Kawagoe, K. Kaya	Pharmacological and morphological changes in rat mast cells exposed to nitrogen dioxide <i>in vitro</i>	Inhalation Toxicol	2	175-185	1990

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
H. Fujimaki, A. Kawagoe,	Enhanced antibody production in W/W <sup>u</sup> mice exposed to ozone	Toxicology	53	343-347	1990
H. Fujimaki, F. Shiraishi, K. Wakamori	An antioxidant agent prevents NO <sub>2</sub> induced inhibition of mast cell mediator release: Evidence that the mechanism involves free radicals.	Environ. Res.	53	168-174	1990
藤巻秀和, 今井 透, 小澤 仁, 若盛和雄, 渡辺直照	IgE抗体産生を修飾する環境汚染	「IgE抗体産生と環境因子」 メディカルトリビューン出版		21-30	1990
藤巻秀和	環境汚染要因による免疫学的影響	からだの科学臨時増刊「環境 保健入門」		153-156	1990
嵯峨井勝	動物実験の意義	同 上		127-132	1990
[平成3年度] M. Sagai, T. Ichinose	Biochemical effects of combined gases of nitrogen dioxide and ozone. IV. Changes of lipid peroxidation and antioxidative protective systems in rat lungs upon life span exposure	Toxicology	66	121-132	1991
T. Ichinose, K. Fujii, M. Sagai	Experimental studies on tumor promotion by nitrogen dioxide	Toxicology	67	211-225	1991
嵯峨井勝	大気汚染と発がん	「活性酸素, フリーラジカル」	2	310-321	1991
小林隆弘	大気環境とぜん息	グローバルネット	11	26-27	1991
三浦 卓, 小林隆弘	大気汚染健康影響評価方法の検討	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システム のあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		3-66	1991
M. Ando, K. Tamura	Study on respirable suspended particulates and polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor and outdoor air	Toxicology and Industrial Health	17	441-448	1991
村上正孝, 小野雅司, 田村憲治, 市川 勇, 原田正文, 横山栄二	環境問題に対する保健所の活動調査	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システム のあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		1-52	1991
M. Ando, K. Tamura	Study on suspended particulate matter and polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor and outdoor air	Int Arch Occupational and Environ Health	163	297-301	1991
[平成4年度] 嵯峨井勝	大気汚染と活性酸素	「活性酸素と病態」(井上正康 編) 学会出版センター		627-641	1992

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の肺に及ぼす影響 - 活性酸素生成を介した影響 -	自動車研究	4	493-500	1992
T. Ichinose, M. Sagai	Combination exposure to NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> and H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> aerosol and lung tumor formation in rats	Toxicology	74	173-184	1992
M. Sagai, T. Ichinose	Experimental study on lipid peroxide formation and tumor promotion effects of NO <sub>2</sub> and O <sub>3</sub>	In 「Oxidative Damage and Repair: Clinical, Biochemical and Medical Aspects」 (ed. K.J.A.Davies) pergamon press		511-516	1992
T. Ichinose, M. Sagai	Pathological study on lung damage induced by diesel exhaust particles (DEP)	In 「Oxygen Radicals」 (ed by K. Yagi, M. Kondo E. Niki, T. Yoshikawa) Excerpta Medica		465-468	1992
T. Ichinose, R. Shinotsuka, T. Nakazawa, M. Sagai	Mice strain differences of susceptibility to diesel exhaust particles (DEP) and the changes of antioxidative protective enzyme activities in lungs.	In 「Oxygen Radicals」 (ed by K. Yagi, M. Kondo E. Niki, T. Yoshikawa) Excerpta Medica		465-468	1992
小林隆弘	慢性閉塞性肺疾患発症のリスク因子と気道の過敏症	環境庁委託業務結果報告書 「地域における大気汚染による健康被害の予防システムのあり方に関する研究」 大気汚染研究協会編		69-93	1992
小林隆弘	ディーゼル排気粒子が鼻粘膜の反応性におよぼす影響	環境庁委託業務結果報告書 「大気汚染と花粉症に関する研究」 日本公衆衛生協会編		17-27	1992
小林隆弘	大気汚染物質の長期暴露が気道反応性に及ぼす影響	Prog. Med.	12	2041-2044	1992
藤巻秀和	粒子状物質とアレルギー性疾患	大気汚染学会誌	27	1-11	1992
藤巻秀和	アレルギー反応	環境庁委託業務結果報告書 「大気汚染による健康被害の効果的な予防システムのあり方に関する研究」大気汚染研究協会編		94-114	1992
T. Kobayashi, Y. Shinozaki	Induction of transient airway hyperresponsiveness by exposure to 4ppm nitrogen dioxide in guinea pigs	J. Toxicol. Environ. Health	37	451-461	1992
H. Fujimaki, F. Shiraishi, N. Katayama	Enhancement of histamine release from rat peritoneal mast cells exposed to formaldehyde	Inhalation Toxicol	4	125	1992
N. Katayama, H. Honda, H. Fujimaki	Growth and functional mobifications in formaldehyde treated-mouse bone marrow derived mast cells	Toxicol. in Vitro	6	239	1992

発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
H. Fujimaki, K. Katayama, K. Wakamori	Enhanced histamine release from lung mast cells of guinea pigs exposed to sulfuric acid aerosols	Environ. Res.	58	117	1992
H. Fujimaki, A. Kawagoe, E. Bissonnette, D. Befus	Mast cell response to formaldehyde:1. Modulation of mediator release	Int. Arch. Allergy. Immunol.	98	324	1992
H. Fujimaki, T. Imai, D. Befus	Mast cell response to formaldehyde: 2. Induction of stress-like proteins	Int. Arch. Allergy. Immunol.	98	332	1992
E. Suzuki, Y. Takahashi, S. Aida, Y. Kimura, Y. Ito, T. Miura	Alteration in surface structure of clara cells and pulmonary cytochrome P-450b level in rats exposed to ozone	Toxicology	71	223-232	1992
[平成4年度] H. Fujimaki, M. Ozawa, E. Bissonnette A.D. Befus	Further studies on the effect of nitrogen dioxide on mast cells: the effect of the methabolite, nitrite	Environ. Res.	61	223-231	1993
M. Sagai, H. Saito, T. Ichinose, K. Kodama, Y. Mori	Biological effects of diesel exhaust particles. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse	Free Radicals Biology and Medicine	14	37-47	1993
M. Sagai, H. Saito, T. Ichinose, M. Kodama Y. Mori	Oxygen radicals produced from diesel exhaust particles (DEP) and their pathology	In 「Active Oxygens, Lipid Peroxidation and Antioxidants」(ed by K. Yagi) (Japanese Scientific Societies press)		161-171	1993
嵯峨井勝, 古山昭子, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) のマウスの気管内投与によるぜん息様病態の発現について -特に活性酸素産生を介した影響を中心として-	大気汚染学会誌	28	258-265	1993
T. Kobayashi, Y. Shinozaki	Effects of exposure to sulfuric acid aerosol on airway responsiveness in guinea pigs	J. Toxicol Environ. Health.	39	261-272	1993
T. Mizutani, T. Kobayashi, H. Naito	Effect of sodium hypochlorite on specific airway resistance and airway reactivity in guinea pigs	Inhalation Toxicol	5	251-263	1993

2 口頭発表

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
[昭和63年] 小林隆弘, 嵯峨井勝, 清水 明, 平野靖史朗, 新関 満, 畑中健三, 高橋 弘, 横山栄二	エアロゾル暴露チャンバーにおける粒 径および濃度の制御	第29回大気汚染学会	仙 台	1988.11
小林隆弘, 横山栄二, 篠崎友美	二酸化窒素暴露がモルモットの気道反 応性に及ぼす影響	第29回大気汚染学会	仙 台	1988.11
M. Ozawa, H. Fujimaki, M. Ono, H. Nagakura, N. Watanabe, Y. Honda	Enhancement of IgE antibody produc- tion by air pollutants in mice.	12th Conger. Eur. Rhinol. Soc. Incl. the VIIth I.S.I.A.N.	Amsterdam	1988. 6
H. Fujimaki, F. Shiraishi, K. Kaya	Mast cell responses to environmental pollutants	4th Int. Congr. of cell Biol.	Montreal	1988. 8
藤巻秀和, 白石不二雄, 彼谷邦光	In vitro NO <sub>2</sub> 暴露による結合織型肥満 細胞に及ぼす影響	第29回大気汚染学会	仙 台	1988.11
Y. Takahashi, T. Miura	Selective changes in xenobiotic meta- bolizing activities of rat lungs pro- duced by in vivo exposures to ozone and nitrogen dioxide	14th International Con- gress of Biochemistry.	Prague, Czecho- slovakia	1988. 7
高橋勇二, 三浦 卓	ラット肺の異物代謝系に及ぼす二酸化 窒素とオゾンの複合暴露の影響	第29回大気汚染学会	仙 台	1988.11
[平成元年度] M. Sagai, T. Ichinose	Synergistic effects on lipid peroxida- tion and antioxidative systems in lungs of rats and guinea pigs exposed to NO <sub>2</sub> and O <sub>3</sub>	5th Int. Congr. Toxicol.	Brighton Eng- land	1989. 7
嵯峨井勝	実験的研究による大気汚染物質の健康 影響評価研究上の問題点について —特に, リスクアセスメントの関連で—	第48回日本公衆衛生学会	つくば	1989.10
嵯峨井勝	オゾンおよび二酸化窒素と肺腫瘍	第30回大気汚染学会	川 崎	1989.11
佐野友春, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	二酸化窒素及び硫酸エアロゾルの単独 及び複合暴露がポリアミン代謝に及ぼ す影響	第30回大気汚染学会	川 崎	1989.11
田村憲治, 安藤 満, 浅沼信治, 松島松翠	農村地区家屋内外における冬期NO <sub>2</sub> 汚 染調査	第38回日本農村医学会	名古屋	1989.10
田村憲治, 安藤 満, 松本 理, 松本幸雄, 新藤純子	幹線道路周辺家屋内外のSPM濃度およ びNO <sub>2</sub> 濃度	第30回大気汚染学会	川 崎	1989.11
小林隆弘, 篠崎友美	硫酸エアロゾル暴露がモルモットの気 道反応性に及ぼす影響	第30回大気汚染学会	川 崎	1989.11
藤巻秀和	IgE抗体産生を修飾する環境汚染	第39回日本アレルギー学 会イブニングシンポジウ ム	東 京	1989. 9



発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
足川哲夫, 本多芳男, 渡辺 直, 藤巻秀和	サブスタンスPによるラット肥満細胞 からのヒスタミン遊離を修飾する環境 因子	第60回日本動物学会	京 都	1989.10
河越昭子, 米元純三, 藤巻秀和, 小林隆弘	硫酸エアロゾル暴露モルモットの呼吸 気道の形態変化	第30回大気汚染学会	川 崎	1989.11
K. Takahashi, Y. Takahashi, K.T. Suzuki, T. Miura	Concentration of renal metallo- thionein and elements in vitamin A defficient rats.	The 14th International Congress of Nutrition	Seoul	1989. 8
高橋勇二, 三浦 卓	ビタミンA欠乏ラットに及ぼす二酸化 窒素およびオゾン暴露の影響	第30回大気汚染学会	川 崎	1989.11
[平成2年度] 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気黒煙粒子(D-SPM)の マウスに対する毒性の系統差について	第109回日本薬学会	東 京	1990. 3
市瀬孝道, 嵯峨井勝, 佐野友春, 村上正孝, 藤井敬二	二酸化窒素の腫瘍促進作用に関する実 験的研究	第49回日本癌学会	札 幌	1990. 6
嵯峨井勝, 佐野友春, 森 洋樹	ディーゼル自動車排気黒煙粒子(D-SPM) によるヒドロキシラジカル( $\cdot$ OH)の生成	第110回日本薬学会	札 幌	1990. 8
上条健志, 多田正人, 嵯峨井勝, 森 洋樹	ディーゼル自動車排気黒煙粒子(D-SPM)が モルモット肺マクロファージに及ぼす影響	第110回日本薬学会	札 幌	1990. 8
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル自動車排気黒煙粒子(D-SPM)に よるヒドロキシラジカル( $\cdot$ OH)生成とDNA 鎖切断について	第14回日本過酸化脂質・ フリーラジカル学会	久留米	1990.10
市瀬孝道, 嵯峨井勝	二酸化窒素およびオゾンの腫瘍促進作 用について	第3回SFRR Japan学会	修善寺	1990.11
M. Sagai	Experimental study on tumor promot- ing effects of nitrogen dioxide (NO <sub>2</sub> ) and ozone (O <sub>3</sub> )	5th Bienn. Meet. Int. Soc. Free Radical Res.	Pasadena USA	1990.11
M. Sagai, T. Ichinose, K. Fujii	Experimental studies on tumor pro- motion effect of nitrogen dioxide.	5th Bienn. Meet. Int. Soc. Free Radical. Res.	Pasadena USA	1990.11
嵯峨井勝, 市瀬孝道, 岡本研作	自動車排気黒煙粒子(D-SPM)による ヒドロキシラジカル生成とDNA鎖切断 について	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
市瀬孝道, 嵯峨井勝, 佐野友春, 村上正孝, 藤井敬二	二酸化窒素の腫瘍促進作用に関する実 験的研究	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
高橋慎二, 高橋 弘, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	大気汚染物質に対する動物種間比較 -H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> +NO <sub>2</sub> 急性暴露でのウズラ, ハムスターの感受性-	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
田村憲治, 安藤 満, 松本 理	幹線道路周辺家屋内外におけるSPMと NO <sub>2</sub> 濃度の関連について	第60回日本衛生学会	福 岡	1990. 4

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
安藤 満, 田村憲治, 松本 理	幹線道路周辺住民のSPMおよびNO <sub>2</sub> 個人暴露量調査	第60回日本衛生学会	福 岡	1990. 4
田村憲治, 安藤 満, 松本 理, 松本幸雄, 新藤純子	幹線道路周辺家屋内外のSPM濃度およびNO <sub>2</sub> 濃度(2)	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
松本幸雄, 新藤純子, 安藤 満, 田村憲治, 伊藤政志	幹線道路を含む住宅地域におけるNO <sub>2</sub> およびSPM濃度の時間・空間変動の評価	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
安藤 満, 田村憲治, 松本幸雄, 新藤純子	大気中多環芳香族化合物の個人暴露量の研究	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
小林隆弘, 篠崎友美, 長谷川鎮雄	硫酸エアロゾル暴露が抗原吸入による即時型アレルギー反応におよぼす影響	第40回日本アレルギー学会	長 崎	1990.11
藤巻秀和, 白石不二雄	肥満細胞機能を修飾する環境汚染物質 1. 二酸化窒素	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
藤巻秀和, 川越昭子	肥満細胞機能を修飾する環境汚染物質 2. ホルムアルデヒド	第31回大気汚染学会	金 沢	1990.11
藤巻秀和, 若盛和雄, 小澤 仁, 今井 透	NO <sub>2</sub> およびその中間物によるラット腹腔肥満細胞活性の修飾	第40回日本アレルギー学会	長 崎	1990.11
高橋勇二, 伊藤勇三, 鈴木 悦, 木村雄二, 相田真介, 三浦 卓	オゾン暴露による肺傷害の修復に及ぼすビタミンA欠乏の影響	第44回日本栄養食糧学会 総会	仙 台	1990. 5
高橋勇二, 三浦 卓	オゾン暴露による肺シトクロムP-450 b陽性細胞の変化	第63回日本生化学会	大 阪	1990. 9
嵯峨井勝, 市瀬孝道, 岡田知子, 奥野洋明, 三井洋司	ディーゼル排気黒鉛粒子(D-SPM)の血管内皮細胞傷害作用とSODによる傷害防止について	第111回日本薬学会	東 京	1991. 3
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気黒鉛粒子(D-SPM)のマウスに対する毒性の系統差について	第111回日本薬学会	東 京	1991. 3
[平成3年度] M. Sagai, T. Ichinose	Changes of lipid peroxidation and tumor formation in rat lungs upon life span exposure of the combination of NO <sub>2</sub> and O <sub>3</sub>	International Symposium on Vitamin E	Gifu, Japan	1991. 9
嵯峨井勝	大気汚染物質の肺がん促進作用について -フリーラジカル作用の面からの概説-	第32回大気汚染学会	北九州市	1991.11
嵯峨井勝, 市瀬孝道, 田村憲治, 齊藤祐樹, 森 洋樹	ディーゼル排気粒子(DEP)の生体影響 1. <i>in vivo</i> での毒性とスーパーオキシドの生成	第32回大気汚染学会	北九州市	1991.11
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気粒子(DEP)の生体影響 2. 各種系統マウスに対する毒性の比較	第32回大気汚染学会	北九州市	1991.11
田村憲治, 安藤 満, 松本 理, 嵯峨井勝, 松本幸雄, 新藤純子	幹線道路周辺家屋内外のSPM濃度とNO <sub>2</sub> 濃度(3)	第32回大気汚染学会	北九州市	1991.11

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
嵯峨井勝, 市瀬孝道, 斉藤祐樹, 森 洋樹, 吉川敏一	ディーゼル排気粒子 (DEP) のフリーラジカルを介した毒性メカニズムについて	第15回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会	京 都	1991.11
篠塚律子, 中沢 透, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気粒子 (DEP) 毒性のマウスにおける系統差と肺の抗酸化性防御活性との関連について	第15回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会	京 都	1991.11
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気粒子 (DEP) の肺傷害に関する病理学的研究	日本過酸化脂質フリーラジカル学会	京 都	1991.11
M. Sagai, H. Saito, T. Ichinose, M. Kodama, Y. Mori	Oxygen radicals produced from diesel exhaust particles (DEP) and their pathology	5th International Congress on Oxygen Radicals	Kyoto	1991.11
T. Ichinose, M. Sagai	Pathological study on lung damage induced by diesel exhaust particles (DEP)	5th International Congress on Oxygen Radicals	Kyoto	1991.11
T. Ichinose, R. Shinotsuka, T. Nakazawa, M. Sagai	Mice strain differences of susceptibility to diesel exhaust particles (DEP) and the changes of antioxidative protective enzyme activities in lungs	5th International Congress on Oxygen Radicals	Kyoto	1991.11
安藤 満, 松本 理, 田村憲治	大気中多環芳香族化合物および変異源活性の粒度分布	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
小林隆弘	大気汚染の健康影響評価指標について - 気道反応性 -	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
松本幸雄, 田村憲治, 安藤 満, 新藤純子, 伊藤政志	幹線道路を含む地域におけるNO <sub>2</sub> およびSPM濃度の時間・空間変動 (板橋区大和町周辺 その2)	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
藤巻秀和, 川越昭子, 米元純三	硫酸エアロゾル暴露がIgE, IgG抗体産生に及ぼす影響	第61回日本衛生学会	京 都	1991. 4
H. Fujimaki, T. Imai, N. Katayama, E. Bissonnette, D. Bufus	Enhanced histamine release and depressed natural cytotoxicity in mast cells treated with formaldehyde	XIV Int. Congr. Allergol & Clin. Immunol.	Kyoto	1991.10
藤巻秀和	アレルギー反応	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
藤巻秀和, 白石不二雄	ホルムアルデヒドガス暴露による肥満細胞からのヒスタミン遊離の亢進	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
片山 昇, 藤巻秀和	骨髄由来肥満細胞の増殖・分化とその機能におよぼすホルムアルデヒドの影響	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
川越昭子, 藤巻秀和	硫酸エアロゾルと二酸化窒素の暴露がモルモット呼吸器に及ぼす影響についての形態学的検索	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11
白石不二雄, 宝来俊一	大気浮遊粒子の培養細胞を用いた毒性検索システムの検討	第32回大気汚染学会	北九州	1991.11

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
白石不二雄, 藤巻秀和, 宝来俊一	火山灰粒子によるV79培養細胞のSCE 誘発について	日本環境変異原学会	東 京	1991.11
斉藤祐樹, 森 洋樹, 嵯峨井勝	ディーゼル自動車排気粒子 (DEP) の スーパーオキシド産生メカニズムにつ いて	第112回日本薬学会	福 岡	1992. 3
小林隆弘	大気汚染物質の長期暴露が気道反応性 に及ぼす影響	第3回日光カンファレン ス	日 光	1992. 2
小林隆弘	モルモットの長期二酸化窒素 (NO <sub>2</sub> ) 暴 露が気道過敏症および閉塞性肺疾患に 及ぼす影響	第27回気道過敏症研究会	東 京	1992. 3
伊藤 剛, 小林隆弘	ディーゼル排出粒子のモルモット鼻粘 膜における吸入ヒスタミンエアロゾル に対する反応性におよぼす影響	第65回日本薬学会	仙 台	1992. 3
[平成4年度] M. Sagai	Environmental Stress and Oxygen Radicals - Cancer, Immunosuppres sion, Allergic Reaction and Nutrition	First IUCB Confrece Biochemistry of Dis eases.	Nagoya	1992. 6
M. Sagai, T. Ichinose	Enhancing effect of high fat diet on diesel exhaust particles (DEP) induced lung tumorigenesis in mice	6th International Con ference of Free Radi cals	Torino	1992. 6
M. Sagai, T. Ichinose	Experimental study on promotion effects of combined exposure of NO <sub>2</sub> , O <sub>3</sub> and H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> on lung tumor forma tion in rats	International Sympo sium on Cancer (Sapporo Cancer Sem inar) Oxyradical and Antioxidative Re sponses in Cancer	Sapporo	1992. 7
市瀬孝道, 嵯峨井勝	NO <sub>2</sub> とO <sub>3</sub> 及び硫酸ミストの複合暴露に よる肺腫瘍発生促進作用に関する実験 的研究	第51回日本癌学会	大 阪	1992. 9
嵯峨井勝, 斉藤祐樹, 市瀬孝道, 児玉昌彦, 森 洋樹	ディーゼル排気黒煙粒子 (DEP) の活性 酸素産生能と喘息様病態発症メカニズ ムについて	第18回環境トキシコロ ジーシンポジウム	東 京	1992.10
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の気管内 投与による粘液質の過分泌	第16回日本過酸化脂質・ フリーラジカル学会	名古屋	1992.11
嵯峨井勝	環境分野における窒素酸化物とその生 体影響について	3rd Forum DOJIN of [Nitric Oxide "NO" in Biology and Medicine]	熊 本	1992.11
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影 響 3. スーパーオキシドによる毛細血 管内皮細胞障害	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
河越昭子, 藤巻秀和, 嵯峨井勝	硫酸エアロゾルと二酸化窒素暴露の鼻 粘膜への影響	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
田村憲治, 安藤 満, 松本 理, 嵯峨井勝, 松本幸雄, 伊藤政志	幹線道路周辺家屋内外のSPM濃度と NO <sub>2</sub> 濃度(4) - 冬期における長期変動 調査 -	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
池田雅彦, 鈴木基久, 下重美紀, 富田多嘉子, 江崎雅典, 嵯峨井勝	ディーゼル排気ガス粒子の人体影響に 関する研究 - 血管内皮細胞機能障 害-	環境科学会	東 京	1992.12
市瀬孝道	ディーゼル排気粒子 (DEP) による生体 影響-生化学的, 病理学的影響を中心 に-	第33回大気汚染学会分科 会	大 阪	1992.12
田村憲治, 安藤 満	大都市沿道住民のSPM長期的曝露評価	第51回日本公衆衛生学会	東 京	1992.10
安藤 満, 李 宇峰, 曹 守仁, 山元昭二, 田村憲治	中国北京市における粒子状物質および 粒子状物質および多環芳香族化合物に よる大気汚染および屋内汚染	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
小林隆弘	ディーゼル排出粒子が鼻粘膜の吸入ヒ スタミン-エアロゾルに対する反応性に 及ぼす影響	第42回日本アレルギー学 会	仙 台	1992.10
小林隆弘, 伊藤 剛	吸入ヒスタミン-エアロゾルに対する モルモット鼻粘膜における反応性に及 ぼすディーゼル排出粒子の影響	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
田村憲治	家屋内外のSPM濃度によるSPM個人 曝露濃度の推定	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
宮崎竹二, 山岡茂夫, 藁科宗博, 黒田孝一, 中土井隆, 田村憲治	沿道周辺住宅の室内空気汚染	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
松本幸雄, 田村憲治, 伊藤政志	幹線道路周辺におけるNO <sub>2</sub> の家屋内外 濃度, 個人曝露濃度, 冬期における長期 変動調査	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
藤巻秀和, 片山 昇, 野原 修, 今井 透	ホルムアルデヒドに対する肥満細胞の 反応性	第42回日本アレルギー学 会	仙 台	1992.10
藤巻秀和, 野原 修, 白石不二雄	ホルムアルデヒド処理された肥満細胞 における蛋白合成	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
白石不二雄, 藤巻秀和, 宝来俊一	大気汚染浮遊粉じんの培養細胞による 毒性評価 - フライアッシュの細胞遺 伝毒性-	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
藤巻秀和	ディーゼル排気ガス粒子と花粉症 -免疫学的知見より-	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
市瀬孝道	ディーゼル排気粒子による喘息様病態 の発症について	9th Clinical Conference on Free Radicals	京 都	1993. 2
嵯峨井勝	活性酸素による呼吸器障害について ディーゼル排気粒子による喘息様病態 の発症例を中心として	First Research Confer- ence of lung Injury & Repair	Tokyo	1993. 3
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気黒煙粒子 (DEP) の気管 内粘液質産生と炎症発生に及ぼす影響	第113回日本薬学会	大 阪	1993. 3
林 英幸, 柳本沙美華, 坂田正勝, 森 洋樹, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝	ディーゼル排気黒煙粒子 (DEP) 中の活 性酸素産生因子の性質	第113回日本薬学会	大 阪	1993. 3

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
三澤美和, 高野佐知子, 嵯峨井勝	気道の薬理学的研究 (176 報): アレル ギー性鼻炎モデルの確立およびその発 症におけるディーゼル排気粒子の影響	第113回日本薬学会	大 阪	1993. 3

編集小委員会

委員長	近藤 矩朗	委員	瀬山 春彦
委員長代理	松本 幸雄	〃	鈴木 明夫
委員	栗原 崇	〃	杉本 伸夫
〃	山下 洋一	〃	海老瀬 潜一
〃	原島 省	〃	田中 淨子
〃	坂巻 史郎	事務局	松井 文子
〃	高橋 慎司		
〃	須賀 伸介		

RESEARCH REPORT FROM  
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

SR-14-'94

平成6年3月16日発行

編集 国立環境研究所 編集小委員会

発行 環境庁 国立環境研究所

〒305 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-51-6111(代表)

印刷 株式会社 エリート印刷

〒300-12 茨城県牛久市柏田町3269

Published by the National Institute for Environmental Studies  
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305 Japan  
September 1993

本報告書は再生紙を使用しています。