

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

Clarification of the mechanism of chronic lung diseases
and risk evaluation due to diesel exhaust

平成5～9年度
FY 1993～1997

NIES



NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

SR - 27 - '99

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

Clarification of the mechanism of chronic lung diseases
and risk evaluation due to diesel exhaust

平成5～9年度
FY 1993～1997

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

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」

(期間 平成5～9年度)

特別研究責任者：嵯峨井勝 (平成5～9年度)

報告書編集担当：嵯峨井勝

序

本報告書は平成5年度から9年度にかけて実施した特別研究「ディーゼル排気による慢性呼吸器疾患の発症機序の解明とリスク評価に関する研究」をとりまとめたものである。

平成9年度の厚生省・学校保健統計によると、大都市部では過去30年間に児童のぜん息発症率は10倍近くに増加したという。一方、国内の車の総台数は平成9年度で7,300万台に達し、昭和40年度からの過去30年間に約9倍に増加した。また、この増加とともにトラック、バスはもとより最近では自家用車からレクリエーション用のRV車まで、燃料が安いため、ディーゼルエンジンを搭載する車が多くなってきた。ディーゼル車は微粒子、NO_x、SO_xの排出量がガソリン車などに比べて著しく多い。そのため、年々の単体規制の強化にもかかわらず、大都市部のNO_xや、ディーゼル車由来の微粒子の寄与が大きい浮遊粒子状物質（SPM）による大気の汚染は一向に改善されていない。こうした中、両者の間に因果関係があるのかどうかの解明が望まれていた。

事実、これまでSPMあるいはDEPの気管支ぜん息をはじめとする健康影響に関するデータは著しく乏しかった。本特別研究では、呼吸器系への慢性影響を中心として、ディーゼル車の排気微粒子（DEP）あるいは排気ガス（DE）とアレルゲンの吸入により、気管支ぜん息様の病態とアレルギー性鼻炎症状の発現を見いだした。これらのことは、人間でもアレルゲンとディーゼル排気（DE）の吸入下では気管支ぜん息やアレルギー性鼻炎症状が発症する可能性があることを実証したのものとして注目を集めている。また、ディーゼル排気あるいはDEPによる肺がん発生のメカニズムとして活性酸素が深く関与しているという新しい事実も見いだされた。

さらに、本研究では呼吸器に対する影響ばかりでなく、ディーゼル排気（DE）を吸わせたマウスでは精子産生能力が低下するという、いわゆる環境ホルモン（外因性内分泌攪乱物質）様作用の存在も見いだされ、その原因になりうるDEP中のダイオキシン濃度や多環芳香族炭化水素類あるいは重金属類の濃度も測定された。また、これらの物質がヒトの健康に及ぼす影響のリスクを評価するには、ヒトが現実にとどの程度のSPMあるいはDEPの暴露を受けているかを明らかにすることが求められている。そうした意味から、SPMの個人暴露量の推定に関する調査も行い、ヒトは外気中SPMの5～7割の暴露を受けていること、ならびに個人暴露量は2 μ m以下の微粒子との間に非常に高い相関性があることが認められた。

このように、本研究で得られた事実はヒトの健康に及ぼす影響を評価するうえで貴重な事実と考える。これらの成果が広く国民各層に普及、理解され、大気環境の改善の努力が重ねられていくことを期待している。

終わりに、本研究を進める上で研究所外の方々の多くの御協力と御助言を頂いた。ここに、深く感謝の意を表する。

平成11年3月

国立環境研究所

所長 大井 玄

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 大都市部における大気環境の現状ならびに気管支ぜん息の発症メカニズムについて	3
2.1 はじめに	3
2.2 大都市大気中の浮遊粒子状物質 (SPM) とディーゼル排気微粒子 (DEP) との関連について	3
2.3 大気汚染物質による気管支ぜん息の発症メカニズムについて	4
3 研究の成果	6
3.1 ディーゼル排気微粒子 (DEP) とアレルゲンによる アレルギー性気管支ぜん息様病態の発現に関する実験的研究	6
3.1.1 DEPとアレルゲンの気管内投与によるぜん息様病態の発現について	6
3.1.2 IgEおよびIgG1抗体産生能の異なるマウスのぜん息様病態発現の比較	8
3.1.3 アレルギー性ぜん息様病態の発現とIgG1との相関について	10
3.1.4 DEPとアレルゲンの共存によるアレルギー性ぜん息様病態の発現メカニズムについて	12
3.1.5 まとめ	13
3.2 ディーゼル排気 (DE) によるアレルギー性ぜん息様病態の発現に関する実験的研究	13
3.2.1 アレルギー性ぜん息のモデル動物に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響	13
3.2.2 ディーゼル排気 (DE) とアレルゲン吸入によるぜん息様病態の発現	15
3.2.3 ディーゼル排気の長期間吸入によるぜん息様病態の発現	18
3.2.4 モルモットぜん息モデルに及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響	23
3.2.5 まとめ	30
3.3 アレルギー性鼻炎様症状に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響	30
3.3.1 はじめに	30
3.3.2 ラットでのアレルギー性鼻炎症状に関する研究	31
3.3.3 モルモットの花粉症様病態に及ぼす影響について	35
3.3.4 まとめ	36
3.4 肺がん発生に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響について	36
3.4.1 はじめに	36
3.4.2 ディーゼル排気 (DE) 暴露による世界6施設からの発がん実験報告と カーボンブラック (CB), 酸化チタン (TiO ₂) 暴露による発がん実験	37

3.4.3	DEPの繰り返し気管内投与によるマウスの肺腫瘍発生率と8-OHdG生成との間の相関	37
3.4.4	DEPの気管内投与による発がんにおける食事因子の関与について	38
3.4.5	ディーゼル排気(DE)暴露による肺がん発生と β -カロチンの作用について	38
3.4.6	まとめ	39
3.5	ディーゼル排気(DE)あるいはディーゼル排気微粒子(DEP)によるその他の影響	40
3.5.1	ディーゼル排気(DE)の生殖器系への影響	40
3.5.2	ディーゼル排気微粒子(DEP)中のダイオキシン類の濃度について	41
3.5.3	ディーゼル排気微粒子(DEP)中の多環芳香族炭化水素類とその他の化学物質について	43
3.5.4	経口トレランスおよび自己免疫疾患に対するディーゼル排気微粒子(DEP)の影響	46
3.5.5	まとめ	49
3.6	浮遊粒子状物質(SPM)および二酸化窒素(NO_2)の個人暴露量の推定に関する研究	49
3.6.1	はじめに	49
3.6.2	調査等の方法について	50
3.6.3	SPM濃度について	51
3.6.4	NO_2 濃度について	53
3.6.5	SPM濃度と NO_2 濃度との間の相関	53
3.6.6	計算による個人暴露濃度と実測による個人暴露濃度との間の相関	54
3.6.7	まとめ	55
3.7	おわりに	55
	[謝辞]	55
	[参考文献]	55
	[資料]	
I	研究の組織	65
II	研究成果発表一覧	66
1	誌上発表	66
2	口頭発表	75

1 研究の目的と経緯

1.1 研究の目的

近年、我が国の大気汚染は従来の硫黄酸化物 (SO_x) や降下煤塵を中心とした固定発生源型汚染から大都市、幹線道路沿いなどにおける二酸化窒素 (NO₂) や浮遊粒子状物質 (SPM) を主体とした移動発生源型汚染に移りつつある。特に近年、自動車保有台数の増加が著しく、自動車排出ガス規制 (単体規制) の強化にもかかわらず、大都市部の浮遊粒子状物質 (SPM) と NO₂ の環境基準の達成率は依然低い状態にある。一方近年、気管支ぜん息や花粉症のようなアレルギー性呼吸器疾患が増加しているという調査結果¹⁻³⁾が報告されている。このような事実から、これら疾患の発生と大気汚染との関連が疑われているため、両者間の因果関係の解明が一層重要になってきている。

これらの中で、気管支ぜん息との関連についてみると、NO₂についてはこれまで極めて多くの研究報告があるにもかかわらず、気管支ぜん息との因果関係を実験的に証明したもの、とりわけ、気管支ぜん息の基本病態中でも最も重要な気管支粘膜下への好酸球の浸潤を伴う慢性的気道炎症の発生を証明した報告はほとんどない^{4,5)}。

一方、SPMあるいは大都市部のSPMの中の相当の部分をお占めているディーゼル排気微粒子 (DEP) に関する研究についてみると、突然変異原性や発がん性に関する研究報告はきわめて多い。また、DEPがIgE^{*1)}産生を増強させるという事実から花粉症等のアレルギー性鼻炎を起こすことを示唆する報告も多い。このように、DEPによってIgE産生増加を示す報告が多いが、実際にくしゃみ、鼻水、鼻づまりといった諸症状の発現を証明した研究は少ない。一方、浮遊粒子状物質 (SPM) によるぜん息の発症に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、最近のぜん息患者にはIgE産生と直接関連しないケースも多いと言われており、そのメカニズムにはいまだ不明な点が多いと言わなければならない。

また、DEPの発がん性に関してみると、DEPの中に

含まれているベンゾ (a) ピレンやニトロアレーン等に代表される強力な発がん物質がDNA-付加物を作り、遺伝情報を攪乱することが原因と考えられてきた。しかし、そのメカニズムにもいくつかの疑問が投げかけられており、より詳しいメカニズムの解明が求められている。

このような状況に加えて、後述のように日本ではディーゼル車が都市大気的主要な汚染源になっていることから、ディーゼル排気によるヒトの健康影響についてはさらに詳しい研究が必要と考えられてきた。

そこで本特別研究では、ディーゼル排気微粒子 (DEP) あるいはディーゼル排気 (DE) そのもののヒトの健康に及ぼす影響を明らかにするため、①気管支ぜん息、②アレルギー性鼻炎および③肺がん発生との間の因果関係の解明および④SPMの個人曝露量の推定を行うこと等を目的として研究を始めた。

1.2 研究の経緯

本特別研究は平成5年度から9年度までの5カ年計画でスタートした。本研究に先立って、昭和63年度から平成4年度の特別研究の後半において、ディーゼル排気発生装置を作成し、ディーゼル排気微粒子 (DEP) を手にすることができた。そこでDEPについては発がん性とIgE産生を増強すること以外、その毒性の強さから、なぜ有毒なのかわかっていなかった。そこでまず、このDEPの毒性発現のメカニズムから調べた。その結果、DEPから多量の活性酸素が生成し、それが肺に損傷を与えることを生化学的、病理学的に明らかにした^{6,7)}。

その後、DEPのみを長期間にわたってマウスに繰り返し気管内投与することによって、気管支ぜん息の基本病態である①気管支粘膜下への好酸球の浸潤を伴う慢性気道炎症、②気管支での粘液の過剰合成、分泌、③気道過敏性の亢進 (気道平滑筋のレン縮) などに相当する病態が明瞭に発現することを明らかにした⁸⁻¹⁰⁾。しかしながら、これらの結果は比較的高濃度のDEPを

*1) 免疫グロブリン (Immunoglobulin, 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抗体は肥満細胞等と結合してアレルギー反応を起こす。正常なヒトの血清中濃度は極めて低い (数百 ng/ml) が、寄生虫感染、枯草熱等が増加する。

気管内に注入するという人工的な投与方法で得られた結果であり、ヒトが現実には吸い込んでいる形態とは異なっている。さらに、気管支ぜん息はアレルギー性疾患であり、アレルギー吸入を伴わない DEP のみによるぜん息様病態の発現とはメカニズムも異なる可能性が懸念された。

そこで、本特別研究では第二段階として、アレルギー摂取と平行して DEP を気管内に併用投与する実験を行い、DEP によるアレルギー性気管支ぜん息様病態の発現の有無とその発現メカニズムを明らかにする必要があると考えた。さらに、第三段階として、ヒトが DEP やアレルギーを肺に吸い込む「吸入」という摂取形態によっても同様の病態が発現するかどうかを明らかにする必要がある。さらに、可能ならばどのくらいの濃度でどのくらいの割合で病態が発現するかというリスクアセスメントに資する資料を得たいと考えた。このような必要性を背景として、さらにアレルギー性鼻炎、肺がんの発症メカニズムと食事因子の影響の解明、あるいは現実の生活の中でヒトはどのくらいの SPM を吸い込んでいるのかという個人暴露量の推定等に関する研究課題を含めた特別研究を開始した。また、この特別研究の途中で、外部の様々な研究者から、DEP 投与あるいはディーゼル排気 (DE) を吸入

させた実験の共同研究の提案をいただき、可能な限り実行した。

その結果、私達は、大都市部の浮遊粒子状物質 (SPM) の中のかかなりの部分を占める DEP がアレルギー性のぜん息様病態を増悪すること、さらに IgE ではなく IgG1 の増加と好酸球の浸潤に基づくアレルギー反応の亢進によってぜん息様病態が増悪することをマウスを用いた実験的研究で見いだした。DEP のみによる非アレルギー型のぜん息様病態の発現については先の報告書等⁸⁻¹⁰⁾に記載した。

本報告では主にアレルギー反応に基づく DEP のぜん息様病態¹¹⁻²²⁾およびアレルギー性鼻炎²³⁻²⁶⁾の増悪について報告する。また、肺がんの発生と DEP あるいは DE との関連についての研究成果²⁷⁻²⁹⁾も述べる。さらに、その他の健康影響として、DE がマウスの精子形成能力を低下させること³⁰⁾、DEP 中のダイオキシン類の濃度³¹⁾、多炭芳香族炭化水素類等の濃度、DEP が食物に対する免疫寛容を阻害する、すなわちアトピー性皮膚炎を増強する可能性があること^{32,33)}、さらに DEP が自己免疫疾患としての関節炎を悪化させること^{33,34)}等についての研究成果についても記載した。最後に、ヒトがどの程度の SPM に暴露されているかという、個人暴露量の推定に関する調査結果³⁵⁾も記載した。

2 大都市部における大気環境の現状ならびに気管支ぜん息の発症メカニズムについて

2.1 はじめに

近年、大都市部の大気環境は依然として大きな改善がみられず、この主な原因は自動車の排気ガスの増加によると考えられている。東京都内では平成7年度のNO_x総排出量の67%は自動車に由来しているという。とりわけ昭和50年代以降、燃料が安く燃料消費率が小さい等の理由でディーゼル車が増えており、都市大気的主要な汚染源になっている。

全国のディーゼル車の保有台数は、平成6年時点では自動車全体の約18%に過ぎないが、NO_x総排出量の約75%を占めている。また、ディーゼル車由来のNO_x総排出量は国内の全人為発生源からのNO_xの総排出量の16.4%を占めている。ちなみに、ディーゼル車のNO_x排出量は大型車になるにつれてガソリン乗用車の2~30倍にもなり、浮遊粒子状物質(SPM)についてみるとガソリン乗用車の30~100倍も多いという^{36,37)}。ちなみに、環境庁の「自動車排出ガス原単位及び総量に関する調査結果報告書(平成10年3月)」によると、ディーゼル車の1km走行当たりのNO_x排出量を車齢や車両重量別の保有状況も加味して試算しガソリン乗用車と比較すると、平成6年時点ではディーゼル乗用車はガソリン乗用車の3.6倍、ディーゼル小型貨物車は

5.2倍、ディーゼル普通貨物車は21.2倍に相当する、としている。また、粒子状物質(PM)については、ガソリン車の測定方法が国際的にも確立しておらず定量的な比較は困難であるが、ガソリン車からの排出はディーゼル車と比較してごく少量であり、自動車からの粒子状物質の排出のほとんどがディーゼル車によるものとしている。

図1には、先に私達が測定した、東京都内の板橋区と世田谷区内の約80地点におけるNO₂と浮遊粒子状物質(SPM)の相関を示した⁹⁾。図からわかるように、NO₂濃度の高い所はSPM濃度も高く、両者の間には高い相関性があることが認められた。このことから、SPMの主な汚染源はNO₂と同じ自動車の排気ガスであることが示唆された。なかでも後にも述べるようにSPMの相当の部分はディーゼル車由来の微粒子(DEP)である。

これまで、DEPはアレルギー性鼻炎や肺がんとの関連が指摘されていた³⁷⁾。また、私達はディーゼル排気微粒子(DEP)がマウスに気管支ぜん息様の病態を引き起こすことを見いだした⁸⁻¹⁰⁾。さらに、DEPは発がん物質としてあるいは環境ホルモンとしても有名なベンゾ(a)ピレンなどを多量に含んでいる。このようなことから、ディーゼル排気(DE)の健康影響が懸念されている。

本節では大都市部における最近の大気環境について簡単に紹介し、本特別研究が必要とされている背景の理解に役立てたい。

2.2 大都市大気中の浮遊粒子状物質(SPM)とディーゼル排気微粒子(DEP)との関連について

大気中の浮遊粒子状物質(SPM)は、図2に示すように、粗大粒子と微小粒子の二峰性に分布している³⁸⁾。粒径2.5~10 μ mの粗大粒子には土壌由来の物質が多く、ヒトの健康に有害な物質の量は少ない。一方、粒径が2.5 μ m以下の微小粒子いわゆるPM_{2.5}は、主に自動車等から排出されたものである。東京都内で1987年(昭和62年)から1988年(昭和63年)にかけて、年4回、10カ所で延べ28回測定されたSPMの発生源寄与率を図3の円グラフに示した³⁹⁾。ディーゼル車由来の微粒子(DEP)の割合は41.3%であった。ガソリン車由来のSPMはわずかに1.4%で自動車由来粒子全体

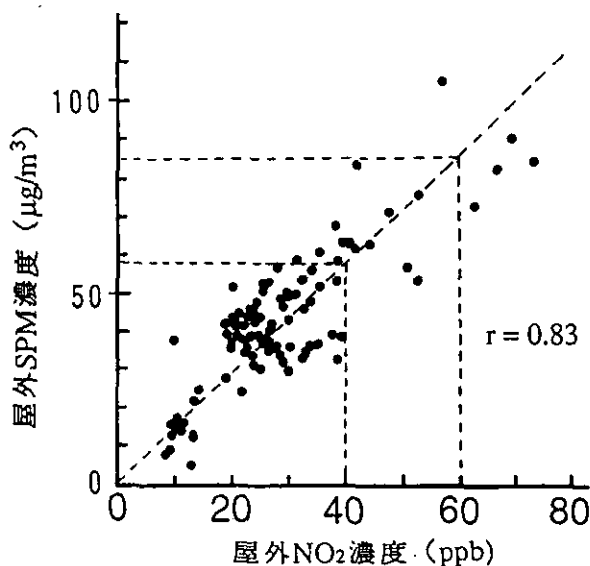


図1 東京都内各地域における屋外のNO₂濃度とSPM濃度との相関
相関係数(r)は0.83であり両者の間には統計的に意味のある非常に高い相関性が認められた。

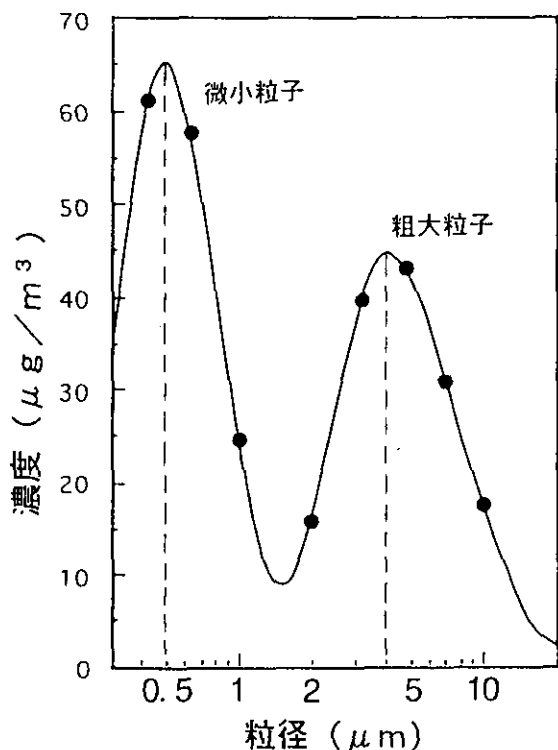


図2 日本の大都市部における浮遊粒子状物質 (SPM) の2峰性分布³⁸⁾

道路沿道の場合には、健康に悪影響を及ぼす微粒子のDEPが多い。粗大粒子は土壌由来などの物質が多く、健康に悪影響を及ぼす物質の割合は低い。

(41.3% + 1.4% = 42.7%) の3.3%でしかない。また、二次生成 (13.4%) とは硫黄化合物 (SO_x)、窒素酸化物 (NO_x)、炭化水素、塩化水素等ガス状物質として大気中に放出された物質が大気中で光化学反応や中和反応を経て粒子に変化したものである。東京都が平成4年11月に都内11カ所で測定した結果によると、自動車由来の微小粒子 (PM 2.5) は微小粒子全体の56.1%を占めている (表1)。一方、環境庁も東京都内で1997年 (平成9年) および1998年 (平成10年) に同様の測定を行った。SPM発生源寄与率 (今後の自動車排出ガス低減対策のあり方について (第3次報告)、環境庁大気保全局、平成10年12月) によるとDEPは道路沿道で20~48%、沿道後背地で17%であり、二次生成粒子は道路沿道で23~37%、後背地で38%であった、とされている。

また、東京都は、平成8年4月に「東京都浮遊粒子状物質削減計画」を発表した⁴⁰⁾。その中で、平成4年 (1992年) 11月に測定された全浮遊粒子状物質 (SPM) 中の自動車排出ガス由来の粒子は47.7%で、二次生成粒子は18.2%と報告しており、図3の値を測定した後の5年間で各々5%ずつ、合計で約10%増加している

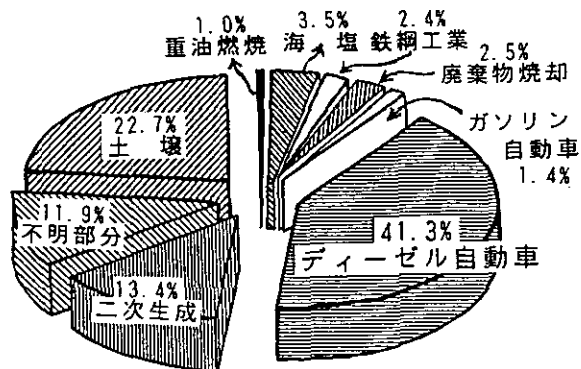


図3 東京都内における浮遊粒子状物質 (SPM) 全体に対する発生源寄与率³⁹⁾ (1987~88年の測定データ)

ことを示している。この結果を表1にまとめた。なお、表1には全浮遊粒子状物質 (SPM) と、その中味を微小粒子と粗大粒子に分けた値も示した。表からわかるように、限られた地点の測定結果を算術平均したものであることに留意する必要があるが、自動車由来する微粒子の割合は増加傾向を示しており、自動車台数も増加し続けていることを考えると、現在の浮遊粒子中の自動車排気ガス由来粒子の割合はさらに増え続けることが予測される。

DEP中にはベンゾ (a) ピレンやニトロアレーンをはじめとする発がん性や内分泌系を攪乱する作用を有すると疑われている物質、鉄や銅のような重金属をはじめとする様々な有害物質が含まれている。DEPは粒径が極めて小さいため肺の奥の肺胞まで入り、その約半分は肺内に沈着すると言われている。また、図4からわかるように、これらの微粒子は、特にその中のDEPは秋から冬にかけて多くなる傾向がみられている³⁹⁾。

2.3 大気汚染物質による気管支ぜん息の発症メカニズムについて

これまで、気管支ぜん息の発症は、図5に示すように、IgE抗体の産生増加と肥満細胞を介するI型アレルギー反応によって説明されてきた。大気汚染と気管支ぜん息との因果関係を考えると、その発症がI型アレルギー反応によるものとするならば、大気汚染の激しい地域に居住するぜん息患者のIgE値は高いはずである。言い換えれば遺伝的にIgE抗体を作る素因が高いヒトがぜん息になりやすいことになり、大気汚染と気管支ぜん息の間には関係がないと考えることもできる。しかし、四日市ぜん息の例⁴¹⁾をはじめとして、大気汚染地域に住んでいるぜん息患者のIgE抗体価が調

表1 東京都内の浮遊粒子状物質の発生源寄与率

	自動車排ガス	二次生成粒子	土壌系	不明	固定発生源	海塩
1987年 ^{a)} (S62年)	全浮遊粒子状物質 (SPM) 中の割合					
	42.7%	13.4%	22.7%	11.9%	5.9%	3.5%
1992年 ^{b)} (H4年)	全浮遊粒子状物質 (SPM) 中の割合					
	47.7%	18.2%	15.2%	13.8%	2.6%	2.5%
1992年 ^{b)} (H4年)	微小粒子 (PM2.5) 中の割合					
	56.1%	22.1%	2.7%	14.2%	4.2%	0.7%
1992年 ^{b)} (H4年)	粗大粒子 (PM10-PM2.5) 中の割合					
	25.6%	9.7%	30.5%	28.7%	—	5.5%

a) 東京都環境科学研究所年報 pp. 3-10 (1989)
 b) 東京都浮遊粒子状物質削減計画 (平成8年4月)
 c) 自動車排ガス粒子の96-97%はディーゼル車由来, 残りがガソリン車由来

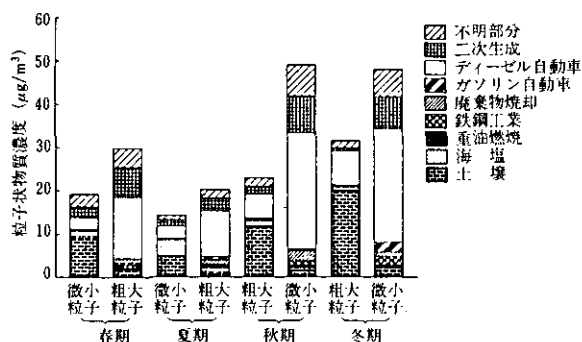


図4 東京都内の粗大粒子および微小粒子の発生源寄与率とその季節変動³⁾

とはいえない。そのため、ぜん息発症のメカニズムをI型アレルギー反応だけで説明づけることができないのが実状である。こうした中で、「IgE抗体産生の増加を伴わないぜん息の発症機序があるのではないかとする意見もある。しかし、その発症機序はこれまで全く不明のままであった。

気管支ぜん息は複雑な疾病である。しかし、その基本病態を要約すると以下の3つが挙げられる。なかでも、1番目の好酸球の浸潤を伴う慢性気道炎症の発現が最も重要な病態とされている。

気管支ぜん息の基本病態

1. 好酸球の浸潤を伴う慢性気道炎症
2. 粘液の過剰産生 (杯細胞の増生)
3. 気道過敏性の亢進 (気道平滑筋のレン縮)

これまで、ディーゼル排気が気管支ぜん息を引き起こすことは、ディーゼル機関車の運転手やバスガレージの修理工等についての臨床報告⁴⁵⁾と疫学報告⁴⁶⁾がある。さらに、オランダ、英国、米国等から、自動車の排気ガスに含まれる粒子が気管支ぜん息の発症に関与しているという疫学的研究報告⁴⁷⁻⁵⁰⁾が相次いでいる。しかし、今日までこの実験的証明はなされておらず、ディーゼル排気とぜん息発症との間の因果関係には多くの疑問が残されており、さらに詳しい研究が求められていた。次項以下にこれらに関する本特別研究で得られた成果をまとめた。

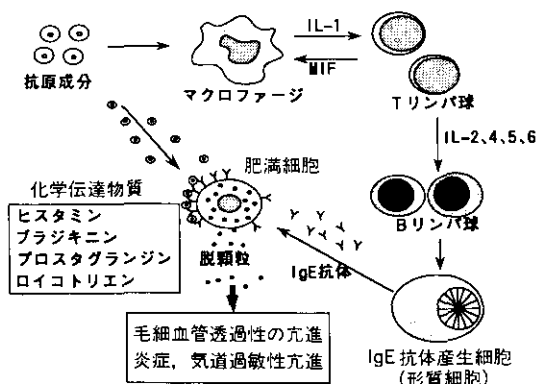


図5 IgE抗体産生を介するI型アレルギー反応による気管支ぜん息発症のメカニズム

べられたが、その値は健常者と比較して決して高くない例が多い⁴¹⁻⁴⁴⁾。特に、中高年の難治性ぜん息患者のIgE値は決して高くないという。これらの知見から、少なくとも大気汚染地域に居住しているヒトのうちアレルギー素因が高い人だけがぜん息になったというこ

3 研究の成果

3.1 ディーゼル排気微粒子 (DEP) とアレルギーによるアレルギー性気管支ぜん息様病態の発現に関する実験的研究

近年の私達の住居は気密性が高く、クーラーの普及等で年中温度、湿度が一定に保たれ、その上に絨毯やソファなどの使用により、カビやダニなども繁殖しやすい環境になっており、今日これらのハウスダストを吸わない生活は不可能になってきている。そこで、私達のこのような生活環境を考慮に入れ、アレルギーと DEP をあわせて気管内投与する実験を行い、両者を併用投与したときにぜん息様病態が増悪するのかどうかを調べた。

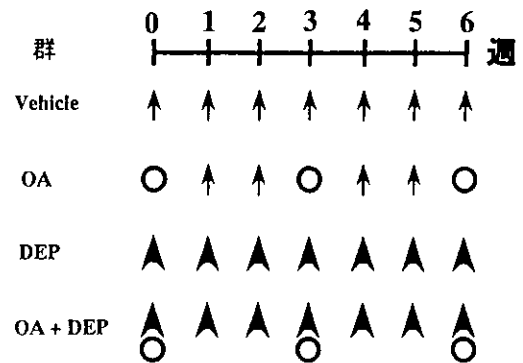
3.1.1 DEP とアレルギーの気管内投与によるぜん息様病態の発現について^{11,12)}

上記のような現実の生活環境を考慮して、アレルギーとして卵白アルブミン(OA と略す) を使用し^{*)}、DEP との併用投与の効果を調べるため、ICR 系マウスを用いて図 6 に示すようなデザインの実験を行った¹¹⁾。すなわち、DEP あるいは OA を溶かしている溶液のみを 0.1 ml ずつ毎週 1 回、6 週間にわたって投与した群 (Vehicle)、1 μ g の OA を 3 週間に 1 回ずつ合計 3 回投与した群 (OA)、0.1 mg の DEP^{*)} を毎週 1 回ずつ 6 週間投与した群 (DEP) および 0.1 mg DEP と 1 μ g OA を 6 週間併用投与した群 (OA+DEP) よりなる。

私達ははじめ、OA+DEP 群あるいは OA 群では IgE 抗体価が高くなる、いわゆる I 型のアレルギー反応が発現するものと予想した。しかし、この実験では、予想に反して IgE 抗体価の上昇は全く認められなかった。一方、別のタイプのアレルギー反応に与

ることが知られている IgG 抗体価を測定したところ、驚くほど高値に増加していた。そこで、IgG 中の 4 つあるサブクラスのうち、Th2 リンパ球と Th1 リンパ球の支配を受けている代表的な IgG1 と IgG2a の濃度を調べたところ、IgG1 のみが顕著に増加し、IgG2a は対照群とほとんど変わらなかった (表 2)。このとき、表 3 に示したように、血管から気道の粘膜下への好酸球やリンパ球の浸潤 (シミ出し) ならびに粘液産生細胞 (杯細胞) の異常増殖 (増生、過形成) が明瞭に認められた。これらの中でも、好酸球の気道粘膜下への浸潤は対照 (Vehicle) 群の 300 倍以上に増加しており、顕著な慢性気道炎症を呈していた。

では、この好酸球はどのようにして血管から気道粘膜下へ浸潤するのであろうか。最近、インターロイキン-5 (IL-5) や顆粒球・マクロファージ・コロニー刺激因子 (GM-CSF) 等と呼ばれるサイトカイン^{*)} がリンパ球等で作られ、好酸球を血管から呼び出す誘因作用を持っていることが知られてきた。



↑: Vehicle のみ, ○: OA (1 μ g / 匹), ▲: DEP (0.1 mg / 匹)

図 6 卵白アルブミン (OA) とディーゼル排気微粒子 (DEP) の気管内投与実験のデザイン¹¹⁾

*1) ヒトが本来吸い込んでいるアレルギー (抗原) は主に家の中のカビとかダニの死骸であるが、それらを沢山集めることは極めて難しいので、そのかわりとしてアレルギーの実験では卵の白身の中のアルブミン (Ovalbumin, OA) を純粋に取り出したものが使われている。

*2) 0.1mg の DEP を 1 週間に 1 回投与するという実験は現実の環境基準の空気を吸った場合の何倍くらいに相当するのか? 私達が使ったマウスは比較的大きいので、1 週間当たりの呼吸量は約 0.3m³ である。平成 9 年度に SPM 濃度の日平均値の年間 2% 除外値が最も高い自動車排出ガス測定局の 2% 除外値は 0.18mg/m³ と報告されている。この空気を 1 週間吸ったと仮定すると 0.05mg の SPM が肺内に入り、その約半分の 0.025mg が肺内に沈着すると考えられる。そのため、固定発生源や二次生成の寄与を無視し、SPM がすべて DEP から構成されていると仮定すると、この気管内投与した 0.1 mg はこの値の約 4 倍に相当すると考えることができる。

*3) サイトカインとは低分子のタンパク質で、様々な細胞で作られ、細胞と細胞の間の情報の交換や細胞の様々な機能を調節したりしている物質である。

そこで、私たちは肺組織中あるいは肺胞洗浄液中にこれらのサイトカイン類が本当に増加しているのかどうか？さらに、それらのサイトカインを産生するリンパ球が本当に気道の粘膜下に認められるのかどうかを調べた。まず、表4に示すように、IL-5は肺組織中と肺胞洗浄液中ではOA+DEP群でのみ各々8倍以上と4倍以上に増加し、GM-CSFもIL-5ほどではないが、各々2.2倍と2.5倍に増加していた。その他のOA群やDEP群では対照 (Vehicle) 群との間に有意な差

は認められなかった。

また、気道粘膜下に浸潤したリンパ球が確かにIL-5を合成していることを確認するため、抗IL-5抗体を用いて、肺の薄切切片を免疫組織染色した。その結果、OA+DEP群の気道粘膜下のリンパ球が明瞭に染色されたものが散在していることが確認された。これらのことより、OAとDEPの併用投与により、リンパ球がIL-5を合成、分泌し、その結果好酸球が気道粘膜下に遊走してきて活発化され、気道で炎症を起こしている

表2 血清中の卵白アルブミン (OA) 特異的免疫グロブリン (Ig) 抗体価

群	動物数 (n)	IgG2a (タイター)	IgG1 (タイター)	IgE (タイター)
Vehicle	36	100.4±0.42	111.3±6.0	16.0±0
OA	36	161.3±61.3	175.7±24.7	16.3±0.17
DEP	36	100.0±0	131.7±20.7	16.0±0
OA+DEP	48	100.0±0	1,483±454 ^{†‡§}	16.0±0

結果は平均値±SEで示した。

[†]p<0.01, 対 vehicle 群. [‡]p<0.01, 対 OA 群. [§]p<0.01, 対 DEP 群.

表3 ディーゼル排気粒子 (DEP), 卵白アルブミン (OA) を気管内投与したマウスの肺組織中の炎症細胞数と気道上皮の杯細胞数の変化

群	動物数 (n)	好酸球数 (個数/mm)	好中球数 (個数/mm)	リンパ球数 (個数/mm)	杯細胞数 (個数/mm)
Vehicle	7	0.016±0.010	0.038±0.010	0.060±0.013	0.309±0.117
OA	9	0.744±0.569	0.348±0.172	1.30±0.529	0.957±0.377
DEP	9	0.150±0.087	0.428±0.117	1.32±0.209	3.92±1.10
OA+DEP	9	5.24±1.74 ^{†§**}	1.85±0.706 [†]	8.11±1.76 ^{‡†††}	13.0±2.23 ^{‡†††}

結果は肺標本中の全気道の周囲の単位長さ (mm) 当りの浸潤細胞数として表わした。値は平均値±SE。

[†]p<0.05, 対 vehicle 群. [‡]p<0.01, 対 vehicle 群. [§]p<0.05, 対 OVA 群. ^{||}p<0.01, 対 OVA 群.

[¶]p<0.001, 対 OVA 群. ^{**}p<0.01, 対 DEP 群. ^{††}p<0.001, 対 DEP 群.

表4 ディーゼル排気微粒子 (DEP), 卵白アルブミン (OA) を気管内投与したマウスの肺組織上清中と肺胞洗浄液上清中のTh2型サイトカイン (IL-5とIL-4) の濃度

群	動物数 (n)	総肺組織上清		総肺胞洗浄液上清	
		IL-5	IL-4	IL-5	IL-4
Vehicle	12	11.3±5.46	123.1±20.5	21.2±7.62	79.4±17.2
OA	12	12.4±4.52	391.3±88.0 ^{‡**}	48.7±15.9	76.7±18.0
DEP	12	11.1±3.71	112.1±15.3	23.8±5.92	95.3±17.2
OA+DEP	12	90.7±33.8 ^{‡†**}	308.5±63.5 [†]	86.4±18.8 ^{§**}	78.9±14.9

IL-5とIL-4はELISA法で測定し、結果は平均値±SEで示した。

[†]p<0.05, 対 vehicle 群. [‡]p<0.01, 対 vehicle 群. [§]p<0.001, 対 vehicle 群. ^{||}p<0.01, 対 OVA 群.

[¶]p<0.05, 対 DEP 群. ^{**}p<0.01, 対 DEP 群.

ものと思われる。

なお、この実験では、OA+DEP 投与により6週間でIgG1が数千タイターへと著しく増加し、ぜん息様の病態が明瞭に認められたが、OA 特異的IgE 値には何の変化も認められなかった(表2)。しかし、6週間以降もDEPとOAの併用投与を続けると、9週間目になってIgE抗体価も対照(Vehicle)群の16タイターから42タイターへと低レベルながら約2.6倍の上昇が認められた。また、気道過敏性も測定したが、OA+DEP群のみが他の群より有意に増加していた¹²⁾。

3.1.2 IgE およびIgG1抗体産生能の異なるマウスのぜん息様病態発現の比較¹³⁾

前項において、OA+DEP投与でもIgE抗体価の増加はわずかで、IgG1抗体価の増加が顕著であったことを述べた。それでは、OA+DEP投与によるぜん息様病態の発現とIgE産生とは本当に関係ないのであろうか。このことを調べるために、IgE高産生系のBALB/c系マウスとIgG高産生系のC3H/He系マウスを用いて比較検討を行った。

実験は、25 μ gのDEPを各マウスに毎週1回ずつ5週間にわたって6回気管内投与した。対照群にはDEPを懸濁するのに用いた溶液(Vehicle)のみを気管内投与した。DEPを2回投与した後に1.5mgのアラム(水酸化アルミニウム)と1mgのOAを懸濁した溶液(0.5ml)をマウスに腹腔内注射して感作した。また、DEPを6回投与した後24時間目に1%のOAを溶かした生理食塩水溶液をネブライザーでミスト(霧)状にして2リットルのデシケーター内でマウスに15分間吸入(チャレンジ)させた。対照群には生理食塩水(saline)のみのミストを吸入させた。なお、正常な対

照群(normal control)とはvehicleもsalineも投与していない完全無処置のマウスである。各処理後24時間目に気道過敏性を測定してから、エーテル麻酔下で脱血ト殺し、常法に従って肺を固定し、薄切切片を作り光学顕微鏡観察に付した。また、血清中のIgEとIgG1抗体価の測定もELISA法で行った。

はじめに、IgG高産生系のC3H/He系マウスとIgE高産生系のBALB/c系マウスの気道粘膜下への好酸球、好中球およびリンパ球の浸潤を調べた(表5)。C3H/He系マウスの好酸球浸潤はvehicle-saline群の値に比べてOA+DEP群でのみ約10倍以上に増加していた。BALB/c系マウスでもvehicle群に比べてOA群およびOA+DEP群で著しく増加していた。しかし、OA+DEP群の好酸球浸潤レベルはC3H/He系マウスの1/5程度のレベルにとどまっていた。図7には気道上皮の粘液産生細胞である杯細胞の増生(過形

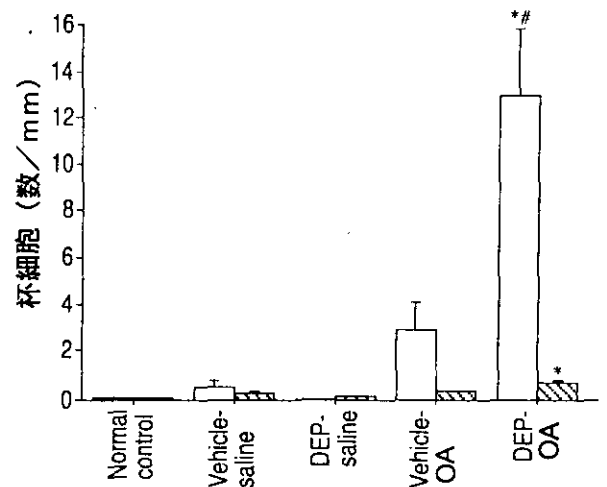


図7 卵白アルブミン(OA)、ディーゼル排気微粒子(DEP)を気管内投与したC3H/He系マウスとBALB/c系マウスの杯細胞の増生に及ぼす影響

表5 ディーゼル排気微粒子(DEP)、卵白アルブミン(OA)を気管内投与したC3H/He系マウスとBALB/c系マウスの炎症細胞の気道周囲への浸潤の程度

群	好酸球数 (個数/mm)		好中球数 (個数/mm)		リンパ球数 (個数/mm)	
	C3H/He	BALB/c	C3H/He	BALB/c	C3H/He	BALB/c
Normal control	0.003 \pm 0.003	0.005 \pm 0.005	0.015 \pm 0.007	0.028 \pm 0.007	0.477 \pm 0.063	0.467 \pm 0.081
Vehicle-saline	0.114 \pm 0.046	0.003 \pm 0.003	0.030 \pm 0.009	0.032 \pm 0.022	0.592 \pm 0.129	0.418 \pm 0.127
DEP-saline	0.033 \pm 0.011	0.013 \pm 0.003	0.040 \pm 0.007	0.026 \pm 0.023	0.510 \pm 0.096	0.365 \pm 0.106
Vehicle-O	0.215 \pm 0.066	0.110 \pm 0.028*	0.069 \pm 0.014*	0.052 \pm 0.016	0.560 \pm 0.184	0.621 \pm 0.135
DEP-O	1.450 \pm 0.211**	0.314 \pm 0.063**	0.066 \pm 0.034*	0.058 \pm 0.009	1.078 \pm 0.123*	0.959 \pm 0.102*

* $p < 0.005$ と** $p < 0.01$ はVehicle-saline群に比べた有意差検定。結果は肺標本中の全気道の単位長さ(mm)当たりの浸潤細胞数として平均値 \pm SEで表わした。

成)の結果を示した。この細胞の増生も DEP 群, OA 群, および OA+DEP 群で増加する傾向を示しているが, 有意な増加が認められたのは OA+DEP 群のみであった。また, C3H/He 系マウスの杯細胞の増生は BALB/c 系マウスの 17~18 倍であり, 気道の炎症性損傷は IgG 高産生系の C3H/He 系マウスで顕著であった。

次に, 好酸球の浸潤を誘起する IL-5 等のサイトカインも上記の実験と同様に増加しているかどうかを調べた。図 8 には IL-5 のほかに GM-CSF ならびに, IL-2, IL-4 の測定結果も示した。図からわかるように, IL-5 は C3H/He 系マウスの OA 群と OA+DEP 群で対照 (vehicle-saline) 群より有意に, しかも著しく増加していた。BALB/c 系マウスの IL-5 はどの群においても対照 (vehicle-saline) 群との間に有意な増加は認められず, 好酸球の浸潤レベルが C3H/He 系マウスよりも低かったこととよく符号していた。GM-CSF は C3H/He と BALB/c の OA 群および OA+DEP 群で対照群より有意に増加したが, その増加率は低かった。IL-2 の変化は IL-5 の変化と極めてよく似ており, ぜん息様病態に何らかの役割を果たしていることが推測される。

IL-4 は免疫グロブリン (Ig) のうち特に IgE の産生に重要な役割を果たしているサイトカインであるが, 両系統マウスの 5 群間にそれほど大きな差はなく IgE 産生にはあまり明瞭な差はないことが推測され, C3H/He 系ではむしろ有意に低下しており, また, IL-4 はマクロファージ, NK 細胞, 肥満細胞や好塩基球等から分泌されるとされているが, この結果は肥満細胞の関与も少ないことを示唆している。事実, 光学顕微鏡観察でも肺の気道周囲に肥満細胞はほとんど認められなかった。

次に, IgE 高産生系の BALB/c マウスと IgG 高産生系の C3H/He 系マウスの血清中の OA に特異的な IgE 抗体価と IgG1 抗体価を測定した。しかし, IgE 値は両系統のマウスとも OA 群でも OA+DEP 群でも全く増加していなかった。これに対して, IgG1 抗体価は図 9 に示すように C3H/He 系では OA 群と OA+DEP 群でそれぞれ 40,000~100,000 タイターに増加し, BALB/c 系マウスでも両群とも 3,000 タイターに増加していた。この結果からも, 本実験におけるぜん息様病態の発現には, IgE よりも IgG1 が関与している可能性が示唆された。

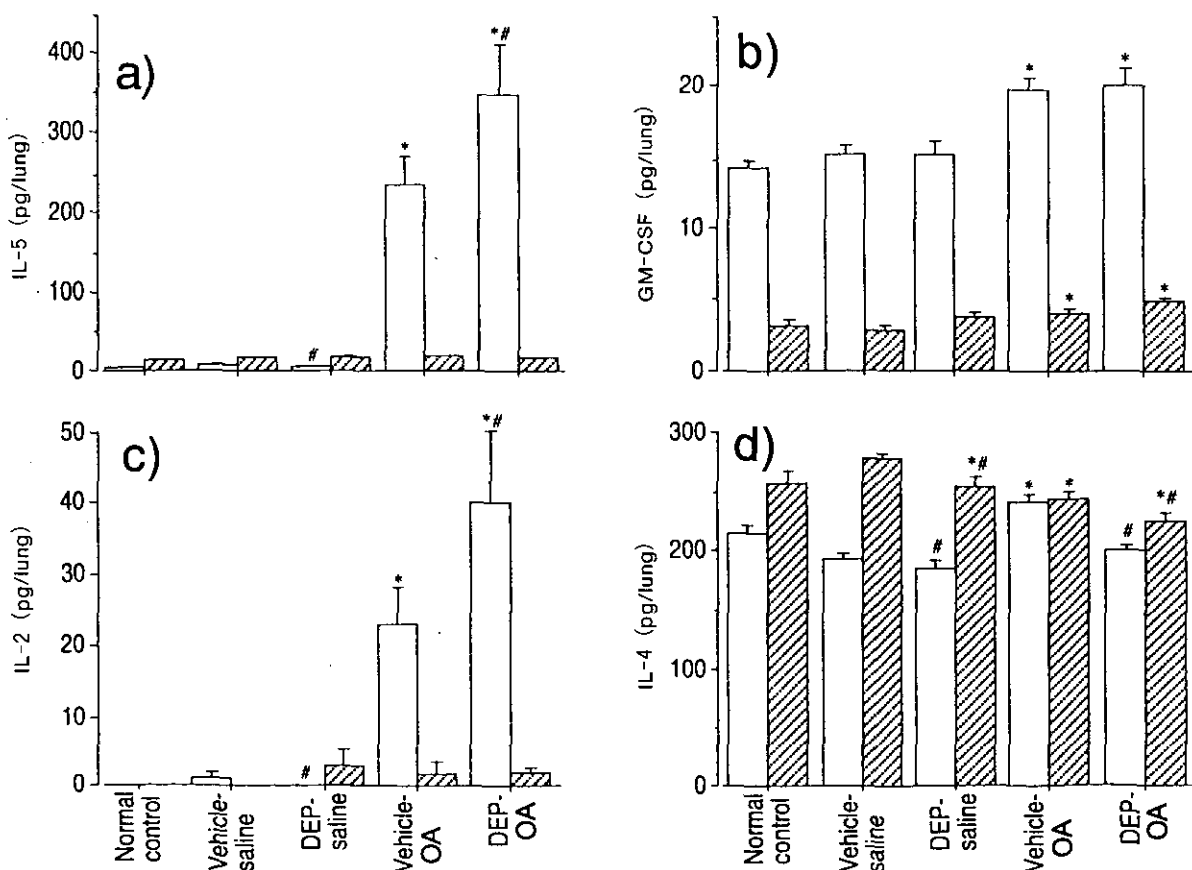


図 8 卵白アルブミン (OA), ディーゼル排気微粒子 (DEP) を気管内投与した C3H/He 系マウスと BALB/c 系マウスの肺におけるサイトカイン産生に及ぼす影響

最後に、気道過敏症亢進の有無を調べた。その測定はアセチルコリンをミスト状にして濃度を2倍ずつ上げ、2分間ずつ吸わせて呼吸抵抗 (Rrs) の変化を測定する方法で行い、その増加率で表示した (図 10)。最終的に、気道過敏性は無処置のマウスの呼吸抵抗 (Rrs) 値を1.5倍に高めるのに必要としたアセチルコリン濃度 (PC₁₅₀ 値) として計算した。図中の a) 欄は C3H/He 系マウスの結果で、b) 欄は BALB/c 系マウスの結果を示している。図からわかるように、C3H/He 系マウスの OA+DEP 群でのみ呼吸抵抗が対照群より有意に増加していた。OA 群、DEP 群では有意な変化は全く認められなかった。また、BALB/c 系マウスではどの

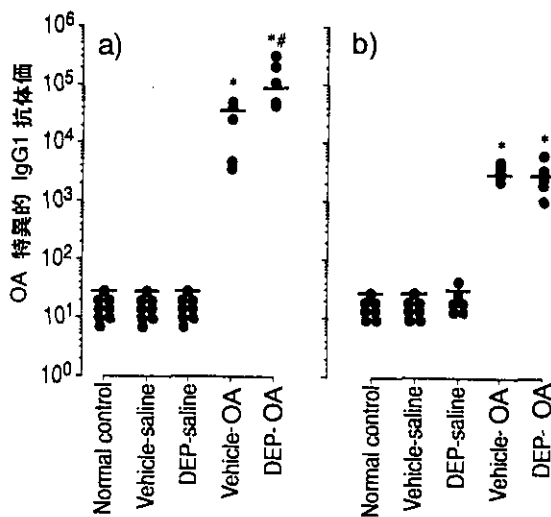


図9 卵白アルブミン (OA), ディーゼル排気微粒子 (DEP) を気管内投与した C3H/He 系マウスと BALB/c 系マウスの OA 特異的 IgG1 抗体産生に及ぼす影響
a) C3H/He 系マウス, b) BALB/c 系マウス。

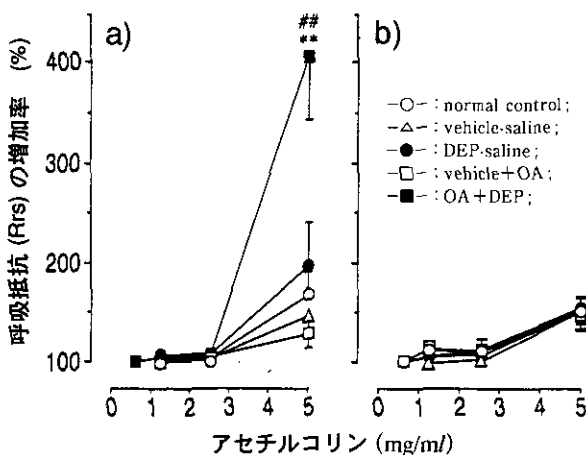


図10 卵白アルブミン (OA), ディーゼル排気微粒子 (DEP) を気管内投与した C3H/He 系マウス (a) と BALB/c 系マウス (b) のアセチルコリンによる気道反応性 (呼吸抵抗 (Rrs)) の変化

群も対照群と全く同じであった。これらの結果から、気道過敏性も IgE と関連せず、IgG1 と関連している可能性が考えられた。

3.1.3 アレルギー性ぜん息様病態の発現と IgG1 との相関について¹⁴⁾

上記の実験において、ぜん息様病態の発現には IgE 抗体ではなく、IgG1 抗体が関与している可能性を述べた。それでは、IgG1 はぜん息の基本病態の発現と本当に関連しているのだろうか。そこで次に、IgG 産生能力が遺伝的に異なる 5 系統のマウスを用いて、OA 投与と OA+DEP 投与による IgG1 抗体価の増加を調べ、それらがぜん息様の基本病態と相関しているのかどうかを¹⁴⁾調べた。

図 11 には、CBA/2N, BDF/1, ICR, C57BL/6 および C3H/He の 5 系統のマウスを用いて、1 μg OA 投与群と 1 μg OA+0.05 mg DEP の気管内投与群の IgG1 抗体価の増加を示した。IgG1 抗体産生能は既知の IgG 産生能の順⁵¹⁾と同じであり、OA 群と OA+DEP 群間の IgG1 産生量は IgG 産生能の低い系統のマウスで異なる傾向が認められたが、IgG 産生能が高い動物になるにつれて OA 群と OA+DEP 群間の相違は認められなくなる傾向にあった。

図 12 には、OA+DEP を投与した C57BL/6 マウスの気道周囲の光学顕微鏡写真を示した。a 欄は OA+DEP 投与マウスの肺組織標本をディフクイック染色し、好酸球を染めたものであり、b 欄は同じ肺組織標本を PAS 染色し、粘液産生細胞中の粘液を染めたもの

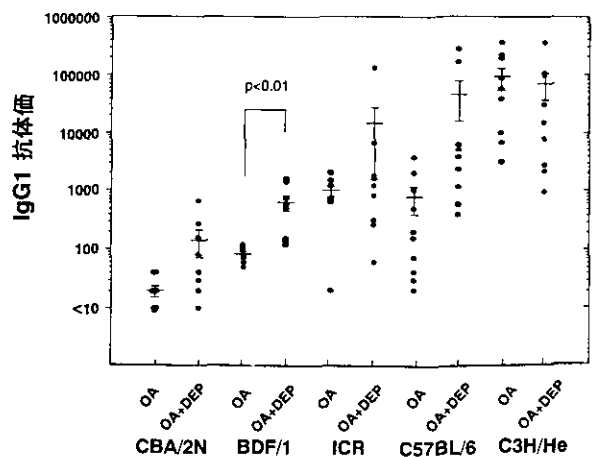


図11 3週間ごとに卵白アルブミン (OA) あるいはディーゼル排気微粒子 (DEP)+OA を投与した 5 系統のマウスの血清中の OA 特異的 IgG1 抗体価の変化

である。倍率は a, b とも 100 倍である。a は気道上皮細胞が昆布のように増生（過形成）し、気管支内腔に突出増殖し、粘膜下層には中心部がピンクに染まっている好酸球の著しい浸潤が認められる。また、気道の周囲には平滑筋層が収縮肥厚している様子も明瞭に認められる。b は突出増殖した気道上皮細胞が赤色に染まり、粘液を多量に含んだ杯細胞に置き換わっていることがわかる。

表 6 と表 7 には、5 系統のマウスの気道粘膜下の好酸球の浸潤と杯細胞の増生の個体観察データを示した。また、表 6 と図 11 のデータから、IgG1 産生能と好酸球浸潤との相関を求めて図 13-a に示し、表 7 と図 11 のデータから、IgG1 産生能と粘液産生細胞である杯細胞の増生との間の相関を図 13-b に示した。いずれも統計学的に有意な相関が認められ、IgG1 がぜん息様病態の発現に重要な役割を果たしていることが示唆された。なお、IgE についても同様の測定と相関性の検討を行ったが、全く相関性は認められなかった。

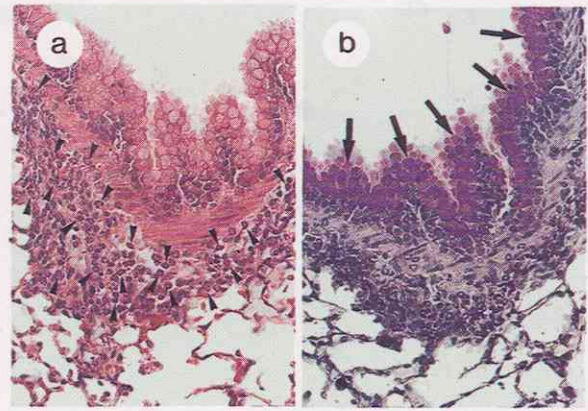


図12 3週間ごとに卵白アルブミン (OA) とディーゼル排気微粒子 (DEP) を投与した C57BL/6 系マウスの肺の中中等度気管支の光学顕微鏡写真 (a) 好酸球を染めるためのディフクイック (DQ) 染色を施した (×100)。矢じりは好酸球を示している。気管支粘膜下には顕著な好酸球浸潤とわずかな浮腫性変化が認められる。(b) 粘液を染めるための PAS 染色を施した (×100)。赤く染まった気道上皮の杯細胞の顕著な増生 (矢印) が認められる。

表 6 卵白アルブミン (OA) のみあるいは OA+DEP 投与マウスの気道周囲への好酸球の浸潤に関するマウスの系統差

マウスの系統	OA 投与群					OA+DEP 投与群					有意差
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
CBA/2N	+	-	+	+	-	+++	+++	++++	++	++	$p < 0.01$
BDF/1	+	-	±	±	-	+++	++++	+++	++	+++	$p < 0.001$
ICR	+++	+++	+++	++	++	++++	++++	+++	+++	+++	$p < 0.05$
C57BL/6	++	+++	++	+++	++	++++	++++	++++	++++	++++	$p < 0.001$
C3H/He	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	$p = NS$

実験には各系統とも各々 5 匹ずつを用い、1~5 の番号で示した。好酸球の浸潤の程度は各マウスの肺の病理標本をディフクイック (DQ) 染色してから光学顕微鏡下で観察して以下のごとく、5 段階評価した。(-) 変化のないもの；(±) 非常にわずかな増加；(+) わずかな増加；(++) 中等度の増加；(+++) 中程度~著しい増加；(++++) 著しい増加；有意差検定は各系統ごとに OA 投与群と OA+DEP 群との間で ANOVA 検定によって行った。

表 7 卵白アルブミン (OA) のみ、あるいは OA+DEP を気管内投与したマウスの気道上皮の杯細胞の増生（過形成）に関するマウスの系統差

マウスの系統	OA 投与群					OA+DEP 投与群					有意差
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
CBA/2N	+	-	±	+	-	-	+	+	-	-	$p = NS$
BDF/1	+	-	-	+	-	+	+++	++	++	+	$p < 0.05$
ICR	±	-	±	-	-	+++	++	+	±	±	$p < 0.05$
C57BL/6	+	++	+	++	-	++	+++	+++	++++	++	$p < 0.05$
C3H/He	+++	+++	++	++	+++	+++	++	++	+	+	$p = NS$

実験内容は表 6 と同じ。

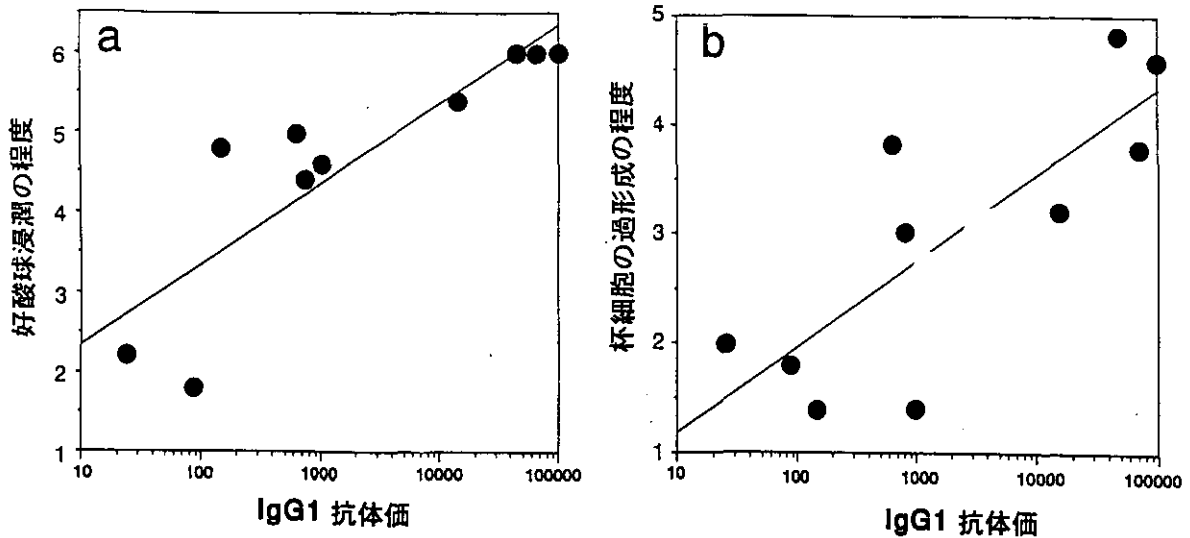


図13 気道の病態変化と血清中のOA 特異的 IgG1抗体価との間の相関
 (a) ANOVA テストで計算した気道粘膜下の好酸球浸潤の程度と IgG1 との間の相関。相関係数 $r=0.637$ ($p<0.05$) で両者の間には有意な相関性が認められる。(b) ANOVA テストで計算した気道上皮の杯細胞の増生の程度と IgG1 との間の相関。相関係数 $r=0.736$ ($p<0.05$) で両者の間には有意な相関性があった。

3.1.4 DEP とアレルゲンの共存によるアレルギー性ぜん息様病態の発現メカニズムについて

それでは、この増加した IgG1 抗体は体内でどんな役割を果たしているのだろうか。最近、ブタクサ花粉症とぜん息を患っていて、IgE や IgG1 抗体価が増えている患者の血清と健常人の好酸球を用いて脱顆粒反応を調べた結果、MBP (Major basic protein) や EPO (Eosinophil peroxidase), ECP (Eosinophil cationic protein), NT (Neurtoxin) 等と呼ばれる気道上皮細胞に傷害を及ぼす毒性の強い塩基性の顆粒タンパク質を放出する(脱顆粒を起こす)のは IgE ではなく、IgG1 と IgG3 であることが米国メイヨークリニックの Kita, Gliach らのグループから報告された⁵²⁾。(なお、この論文では顆粒タンパク質として NT を測定している。)この脱顆粒メカニズムとして、好酸球の IgG1 抗体(カギ)に対する受容体(カギ穴, $Fc\gamma RII$)に IgG1 か IgG3 という抗体(カギ)が合わさったときに特異的に顆粒タンパク質(NT)が遊離するとしている。IgE 用の受容体(カギ穴, $Fc\epsilon RII$)に IgE というカギが合わさっても脱顆粒は全く起こらないという。

また、IgG が好酸球の脱顆粒を起こすことはモットの実験で Makino ら⁵³⁾のグループからも報告された。さらに、ヒトについても木村ら⁵⁴⁾は以前から成人ぜん息における IgG の役割を提唱しており、Ito ら⁵⁵⁾もハウスダストのダニ抗原に対する IgG1 が成人ぜん息の発症をよく説明できるとしている。

また、メイヨークリニックの Kita ら⁵⁶⁾は IgG だけではなく IgA も好酸球を活性化し、脱顆粒を起こすことを報告している。一方、フランス・パスツール研究所の Capron ら⁵⁷⁾は IgE が好酸球の脱顆粒を起こすことを報告している。このように、様々な免疫グロブリンが好酸球の脱顆粒を起こすことが知られているが、IgG, IgA あるいは IgE などの免疫グロブリン(Ig)によって脱顆粒してくる顆粒タンパク質に違いがあることが判明しつつある。

さらに近年、これら免疫グロブリンが関与しなくても Th2 型リンパ球の活性化と IL-5 を中心とするサイトカインの作用によってぜん息の発症を説明することができるという知見も蓄積されてきている^{58,59)}。前記の私達の研究の肺病理標本を観察すると好酸球の遊走や好酸球を活性化する IL-5 および GM-CSF 等のサイトカインを産生する Th2 型のリンパ球が増加していた。特に、IL-5 産生リンパ球の増加が顕著であった。これらのことから、図 14 に DEP とアレルゲンとによるぜん息様病態の発現メカニズムの推定図を示した²²⁾。

まず、OA と DEP の併用投与により、マクロファージが両者を貪食して自ら活性化し、さらに、OA を貪食したという情報を T-リンパ球に伝え、Th0 リンパ球は Th2 型リンパ球に分化し、活性化されて IL-5 や GM-CSF を多量に産生して好酸球を活性化して脱顆粒を起こす。一方、Th2 型リンパ球から OA に関する情報を受け取った B-リンパ球は IgE ではなく IgG1 を多

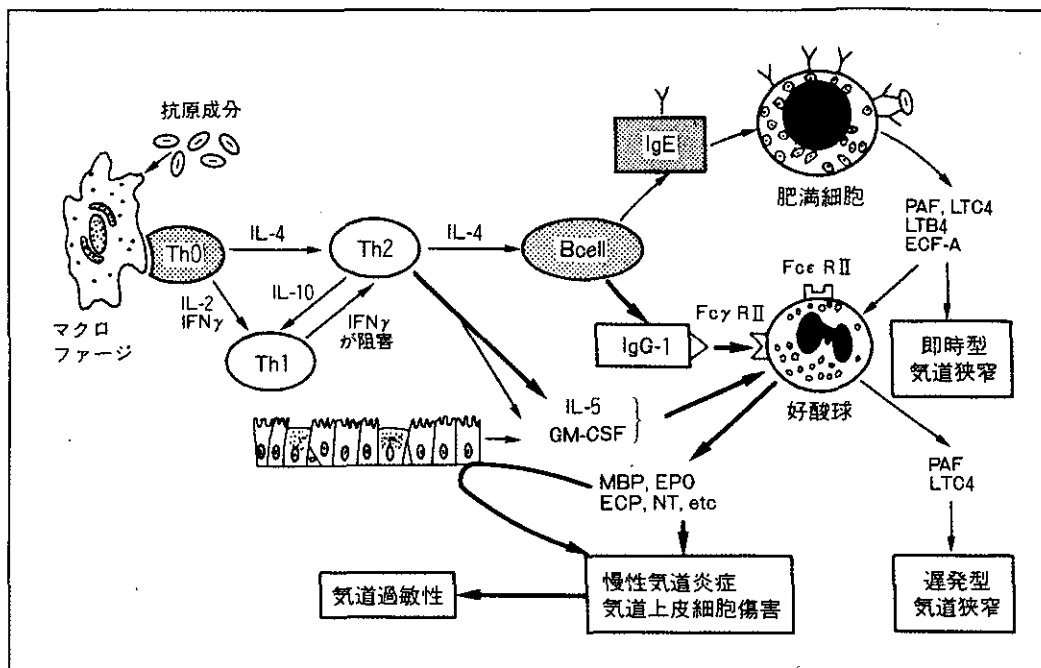


図14 卵白アルブミン (OA) とディーゼル排気微粒子 (DEP) を気管内投与したマウスにおけるアレルギー性気管支ぜん息様病態の発症機序の推定図

IgG1の顕著な増加, IgEの無変化, サイトカインのIL-5とGM-CSF等の増加, 好酸球の顕著な浸潤等の実験結果から, OAとDEP投与により, Th2細胞から好酸球の遊走, 活性化に働く多量のIL-5とGM-CSFが合成され, またB細胞からIgG1も多量に作られ, このIgG1が好酸球のFcγRII受容体に特異的に結合して好酸球を活性化して, 慢性気道炎症や脱顆粒反応を起こし, 顆粒タンパク質 (MBP, EPO, ECP, NT) が気道上皮細胞を傷つけたり, 剥離させ, 気道に分布している神経を刺激しやすくして, 気道過敏性を引き起こしているものと推測される。

量に産生する。このIgG1 (カギ) が好酸球上の受容体 (カギ穴, FcγRII) に結合して, 好酸球を活性化し, IL-5によるのと同様に脱顆粒を起こす。これによって遊離されたMBP, ECP, EPO, NT等の顆粒タンパク質が気道上皮細胞を損傷する。これによって, 気道上皮細胞の下部に無数に分布している知覚神経が露出し, 気道の過敏性が亢進するものと考えられる。

3.1.5 まとめ

(1) DEPとアレルギー性抗原(OA)の気管内併用投与により, 気道粘膜下への好酸球浸潤を伴う慢性気道炎症や気道上皮の粘液産生細胞化, および気道過敏性 (気道平滑筋のレン縮) 等の明瞭なぜん息様病態が発現することが認められた。

(2) このとき, 血清中のIgEはほとんど増加せず, I型アレルギー反応によるメカニズムでの発症とは異なるメカニズムが存在することが示された。

一方, IgG1が顕著に増加していたことから, 好酸球上のIgG1受容体 (FcγRII) にIgG1が結合することとともにリンパ球からのIL-5の顕著な遊離等によ

り, 好酸球が活性化されるメカニズムにより病態が増悪した可能性が示唆された (図14)。

3.2 ディーゼル排気 (DE) によるアレルギー性ぜん息様病態の発現に関する実験的研究¹⁵⁻¹⁹⁾

前項には, ディーゼル排気微粒子 (DEP) による気管支ぜん息様病態の発現に関する私達の研究室の知見を紹介した。しかし, これらの実験でのDEPは人工的な気管内投与方法によっている。この方法はDEPのみの影響を調べる方法としての利点は大きいですが, ヒトはDEPを吸入によって肺に取り込んでいる。従って, 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病態が起こることを証明する必要がある。私達は吸入実験でも上記と同じような病態が発現するかどうかを調べたので以下で紹介する。

3.2.1 アレルギー性ぜん息のモデル動物に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響¹⁵⁾

免疫学の分野ではアラム (水酸化アルミニウム) と懸濁混合したアレルギー性抗原(OA)を腹腔内に注射して動物

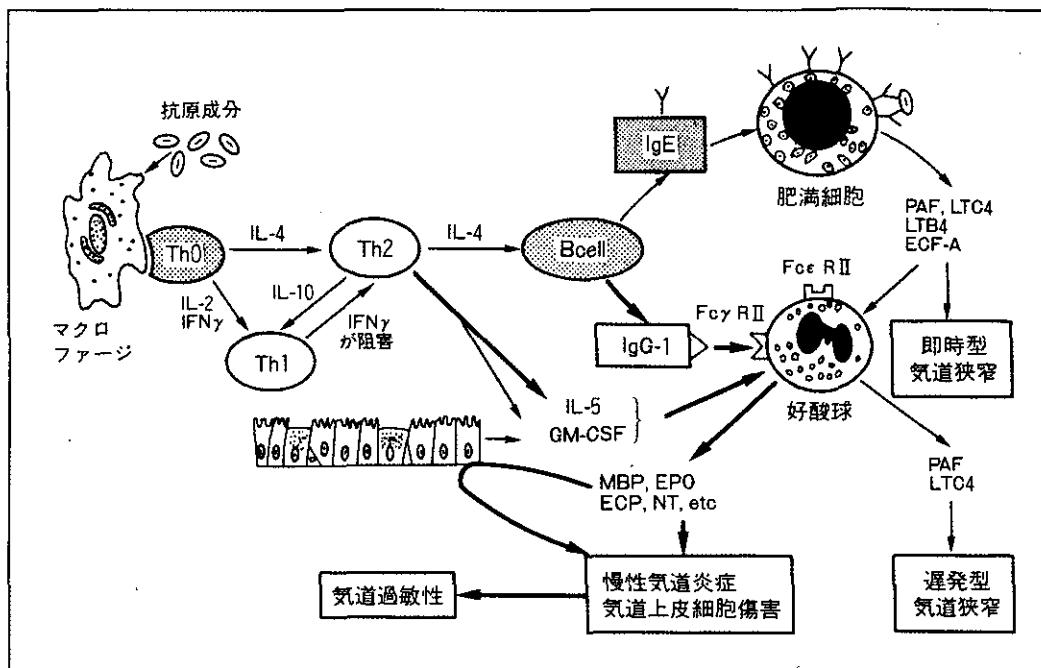


図14 卵白アルブミン (OA) とディーゼル排気微粒子 (DEP) を気管内投与したマウスにおけるアレルギー性気管支ぜん息様病態の発症機序の推定図

IgG1の顕著な増加, IgEの無変化, サイトカインのIL-5とGM-CSF等の増加, 好酸球の顕著な浸潤等の実験結果から, OAとDEP投与により, Th2細胞から好酸球の遊走, 活性化に働く多量のIL-5とGM-CSFが合成され, またB細胞からIgG1も多量に作られ, このIgG1が好酸球のFcγRII受容体に特異的に結合して好酸球を活性化して, 慢性気道炎症や脱顆粒反応を起こし, 顆粒タンパク質 (MBP, EPO, ECP, NT) が気道上皮細胞を傷つけたり, 剥離させ, 気道に分布している神経を刺激しやすくして, 気道過敏性を引き起こしているものと推測される。

量に産生する。このIgG1 (カギ) が好酸球上の受容体 (カギ穴, FcγRII) に結合して, 好酸球を活性化し, IL-5によるのと同様に脱顆粒を起こす。これによって遊離されたMBP, ECP, EPO, NT等の顆粒タンパク質が気道上皮細胞を損傷する。これによって, 気道上皮細胞の下部に無数に分布している知覚神経が露出し, 気道の過敏性が亢進するものと考えられる。

3.1.5 まとめ

(1) DEPとアレルゲン(OA)の気管内併用投与により, 気道粘膜下への好酸球浸潤を伴う慢性気道炎症や気道上皮の粘液産生細胞化, および気道過敏性 (気道平滑筋のレン縮) 等の明瞭なぜん息様病態が発現することが認められた。

(2) このとき, 血清中のIgEはほとんど増加せず, I型アレルギー反応によるメカニズムでの発症とは異なるメカニズムが存在することが示された。

一方, IgG1が顕著に増加していたことから, 好酸球上のIgG1受容体 (FcγRII) にIgG1が結合することとともにリンパ球からのIL-5の顕著な遊離等によ

り, 好酸球が活性化されるメカニズムにより病態が増悪した可能性が示唆された (図14)。

3.2 ディーゼル排気 (DE) によるアレルギー性ぜん息様病態の発現に関する実験的研究¹⁵⁻¹⁹⁾

前項には, ディーゼル排気微粒子 (DEP) による気管支ぜん息様病態の発現に関する私達の研究室の知見を紹介した。しかし, これらの実験でのDEPは人工的な気管内投与方法によっている。この方法はDEPのみの影響を調べる方法としての利点は大きい, ヒトはDEPを吸入によって肺に取り込んでいる。従って, 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病態が起こることを証明する必要がある。私達は吸入実験でも上記と同じような病態が発現するかどうかを調べたので以下で紹介する。

3.2.1 アレルギー性ぜん息のモデル動物に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響¹⁵⁾

免疫学の分野ではアラム (水酸化アルミニウム) と懸濁混合したアレルゲン(OA)を腹腔内に注射して動物

を感作した後にOAをミストとして吸わせてぜん息様病態を発現させる方法が広く用いられている。

そこで、ディーゼル排気 (DE) のぜん息様病態に及ぼす影響を検討する第1段階として、このモデルどおりの処理をしたC3H/He系マウスにディーゼル排気を吸わせ、ぜん息様病態が悪化するかどうかを調べた。

実験は上記マウスにDEP濃度として $3\text{mg}/\text{m}^3$ のディーゼル排気 (DE) を1日に12時間ずつ、5週間吸わせた。なお、この吸入は12時間行ったので、日平均値としてみると $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度となる。このDEの吸入開始1週間後に、 1.5mg のアラム懸濁液 (0.5ml) に 1mg のOAを混合した液を腹腔内注射しマウスを感作した。さらに、DEを4週間 (合計5週間) 吸入させ、吸入終了24時間後に1%OA生理食塩水溶液 (saline) をオムロン社製ネブライザーでミストとして15分間吸わせた。その24時間後に、気道過敏性を測定してから、エーテル麻酔下でト殺した。肺は常法により固定して病理用の顕微鏡観察に付した。また、他のマウスは、DE吸入終了後に1%OA液からのミストを15分間吸わせ、その24時間後にエーテル麻酔下で心臓から採血してト殺し、血清を分離してOA特異的IgE抗体価とIgG1抗体価の測定に供した。また、このマウスの肺は肺胞洗浄を行い、肺胞洗浄液 (BALF) を得た。気管支の炎症の程度を調べるため、BALFの塗抹標本作製し、その中の総細胞数、マクロファージ、好中球および好酸球等の炎症細胞数を計測した。

図15には清浄空気 (Air) を吸わせ、OA感作後に生理食塩水のみをミストとして吸わせたAir-saline群、Airのかわりに $3\text{mg DEP}/\text{m}^3$ を含むDEを吸わせたDE-saline群、Airを吸わせた後にOAミストを吸わせたAir-OA群、およびDEを吸わせながらOAミストを吸わせたDE-OA群のBALF中各細胞数を示し

た。総細胞数、マクロファージ数および好中球数はDE-saline群とDE-OA群で同等程度レベルに増加していた。この結果は、これらの細胞の増加には主にDEが関与していることを示している。一方、ぜん息の病態として最も重要な意味を持つ好酸球数はDE-OA群でのみ著しく増加していた。

表8には、上記4群のマウスの体重、気道粘膜下への好酸球の浸潤および気道上皮の粘液産生細胞の増生の結果を示した。4群間に体重の変化は認められなかった。気道粘膜下への好酸球の浸潤はAir-OA群とDE-OA群で対照 (Air-saline) 群より有意に増加し、各々18倍と80倍に相当していた。また、DE-OA群はOA群に比べても4倍以上の有意な増加を示していた。気道上皮の粘液産生細胞 (杯細胞) の増生は、Air-saline群に比べてDE-OA群のみ有意に、かつ55倍にも増加していた。一方、気道過敏性の結果は表9に示すように、Air-saline群に比べてAir-OA群とDE-OAの PC_{150} 群が有意に低下しており、気道が各々

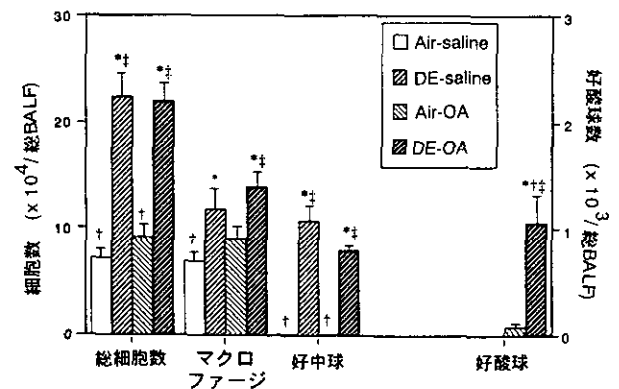


図15 卵白アルブミン (OA) あるいはディーゼル排気微粒子 (DEP) を投与されたC3H/He系マウスの肺胞洗浄液 (BALF) 中の総細胞数、マクロファージ数、好中球数及び好酸球数の変化

表8 ディーゼル排気 (DE)、卵白アルブミン (OA) ミスト吸入マウスの体重、気道周囲への好酸球浸潤および気道上皮の杯細胞の増生 (過形成)

群	動物数 (n)	体重 (g)	好酸球数 (個数/mm)	杯細胞数 (個数/mm)
Air-saline	9	24.27±0.52	0.021±0.005 [†]	0.061±0.017
DE-saline	9	23.77±0.32	0.042±0.008	0.125±0.030
Air-OA	9	24.40±0.43	0.386±0.052 [*]	0.558±0.106
DE-OA	9	23.80±0.39	1.686±0.236 ^{*†‡}	3.390±0.528 ^{*†‡}

* $p < 0.05$, Air-saline群に比べて。† $p < 0.05$, DE-saline群に比べて。‡ $p < 0.05$, Air-OA群に比べて。

1.5 倍と 2.4 倍過敏になっていた。

この実験における OA 特異的 IgE と IgG1 抗体価の結果を図 16 に示した。両抗体とも対照 (Air-saline) 群に比べて、Air-OA と DE-OA 群で有意に増加していた。なお、IgE 抗体価は 15~35 タイター程度で低値であったのに対して IgG1 の抗体価は 280,000~460,000 タイターへと増加していた。

最後に、各群の肺組織中の 7 種のサイトカイン濃度

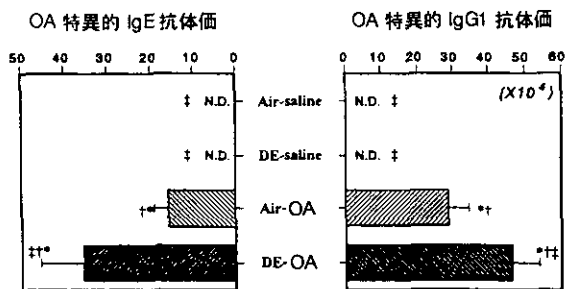


図16 卵白アルブミン (OA) あるいはディーゼル排気 (DE) を吸わされた C3H/He 系マウスの血清中の OA 特異的 IgE 抗体価および IgG1 抗体価
左欄は IgE の変化を示し、右欄は IgG1 変化を示している。両抗体価変化は類似しているが、IgG1 抗体価は IgE の 10,000 倍高い。ND: 検出できず; *: Air-saline 群に比べて P<0.05; †: DE-saline 群に比べて P<0.05; ‡: Air-OA 群に比べて p<0.05

を表 10 に示した。各サイトカインの中で、群間で最も顕著な変化が認められたのは、前記の実験の場合と同様に、好酸球の遊走、活性化を引き起こす IL-5 であり、OA+DE 群で最も増加していた。IL-2 も若干ながら有意に増加していた。図 17 には、本実験で測定された各指標間で統計的に有意な相関性が認められたものを示した。IgG1 と IgE は IL-2 との間に有意な相関性が認められた。また、気道粘膜下の好酸球の浸潤程度と IL-5 の間にも有意な相関性が認められ、リンパ球由来の IL-5 が好酸球の遊走、活性化を起こしていることを裏付けている。また、IL-5 と IL-2 との間にも極めて高い相関性が認められ、IL-2 もぜん息様病態の発症に重要な役割を果たしていることが推測される。これらの結果から、アラムと OA で感作した後に OA ミストを吸入させてぜん息様病態を発現させるぜん息モデル動物 (Air-OA 群) にディーゼル排気を吸わせるとそのぜん息様病態が著しく増悪することが示された。

3.2.2 ディーゼル排気 (DE) とアレルゲン吸入によるぜん息様病態の発現^{16,17)}

前項では、従来から知られているアラム (水酸化ア

表 9 ディーゼル排気 (DE)、卵白アルブミン (OA) のミストを吸入させたマウスの無処置状態での呼吸抵抗 (Rrs) とその呼吸抵抗を 1.5 倍に高めるのに必要としたアセチルコリン濃度 (PC₁₅₀ACh)

群	動物数 (n)	無処置状態での呼吸抵抗 (Rrs) ^{a)} (cm H ₂ O/ml/s)	PC ₁₅₀ ACh ^{b)} (mg/ml)
Air-saline	8	1.209 ± 0.019 [‡]	5.06 ± 0.44 [‡]
DE-saline	8	1.283 ± 0.051	4.73 ± 0.53 [‡]
Air-OVA	8	1.335 ± 0.030 [*]	3.35 ± 0.22 ^{*†}
DE-OVA	8	1.226 ± 0.034 [‡]	2.09 ± 0.60 ^{*†‡}

*p<0.05, Air-saline 群に比べて。†p<0.05, DE-saline 群に比べて。‡p<0.05, Air-OA 群に比べて。

a) 無処置状態とはアセチルコリンのミストを吸わせていないことを意味する。

b) この値は小さいほど気道が過敏であることを示す。

表10 ディーゼル排気 (DE)、アレルゲン (OA) のミストを吸入させたマウスの肺組織中の各種サイトカイン濃度の変化

群	動物数 (n)	肺組織中のサイトカイン濃度 (総肺組織上清)						
		IL-5	IL-4	GM-CSF	IL-2	IFN-γ	IL-10	TNF-α
Air-saline	10	26.20 ± 1.98 [‡]	333.6 ± 14.7 [‡]	27.21 ± 1.00 [‡]	21.27 ± 1.00 [‡]	11.57 ± 7.43	363.5 ± 16.9 [‡]	3952 ± 323
DE-saline	10	24.15 ± 1.09 [‡]	312.8 ± 31.4 [‡]	29.83 ± 1.36 [‡]	19.99 ± 1.12 [‡]	Not detected	285.0 ± 9.8 [*]	3169 ± 130 [*]
Air-OA	10	47.79 ± 2.34 ^{*†}	405.5 ± 13.7 ^{*†}	35.46 ± 2.10 ^{*†}	26.04 ± 1.21 ^{*†}	40.54 ± 38.56	305.7 ± 17.8 [*]	3169 ± 212 [*]
DE-OA	10	70.70 ± 5.22 ^{*†‡}	337.9 ± 20.6 [‡]	29.83 ± 1.57 [‡]	28.85 ± 1.66 ^{*†}	18.95 ± 12.87	351.5 ± 21.9 [†]	3306 ± 252

*p<0.05, Air-saline 群に比べて。†p<0.05, DE-saline 群に比べて。‡p<0.05, Air-OA 群に比べて。

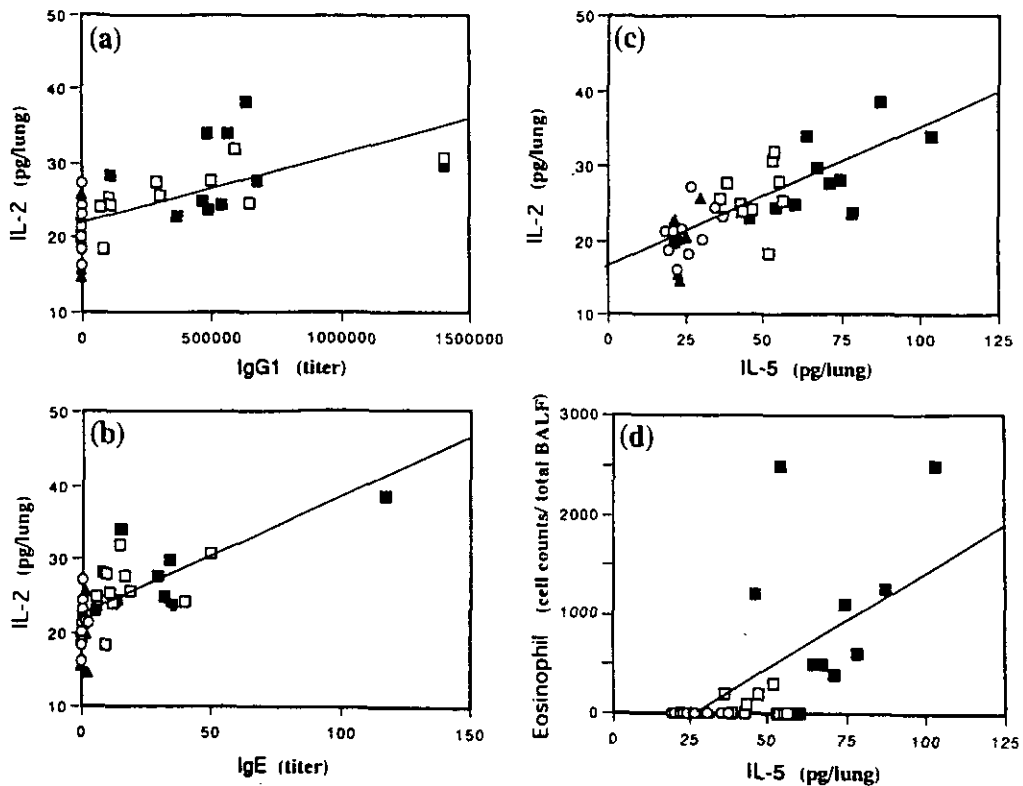


図17 卵白アルブミン (OA) のミスト, ディーゼル排気 (DE) を吸わされた C3H/He 系マウスの測定した様々な因子間の相関
○は Air-saline 群を示し, ▲は DE-saline, □は Air-OA, ■は DE-OA 群の各個体のデータを示している。

ルミニウム) とアレルゲンとで感作した後に, アレルゲンをミストとして吸入させることでぜん息様病態を発現するモデル動物にディーゼル排気 (DE) を吸わせると, ぜん息様病態がより悪化することを述べた。しかし, ヒトはアラムとアレルゲンの懸濁液を摂取するというようなことはありえない。そのため, 実際にヒトが摂取あるいは吸入するアレルゲンとディーゼル排気だけでも動物にぜん息様病態が発現しうるかどうかを明らかにすることが求められる。

そこで, 前項に述べた実験からアラムとの併用をやめ OA のみを腹腔内投与する実験を行った^{16,17)}。OA の腹腔内投与は, 感作手段として必要であり, 食品摂取による感作はヒトでも起こりうるのでこの感作方法を採用した。すなわち, 6 週齢の C3H/He 系マウスに $10\mu\text{g}$ の OA を 1 回腹腔内投与して感作した。その後, DEP 濃度として $1\text{mg}/\text{m}^3$ と $3\text{mg}/\text{m}^3$ のディーゼル排気を 1 日 12 時間ずつ, 12 週間吸わせた。この濃度も日平均値にすると $0.5\text{mg}/\text{m}^3$ と $1.5\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度ということになる。この DE 吸入の期間中 3 週間に 1 回ずつ合計 4 回, 1%OA のミストを 6 分間ずつ吸入させ, 最後の OA 吸入の 24 時間後にエーテル麻酔下で心臓から, 脱

血ト殺した。この血液から血清を分離して OA 特異的 IgE と IgG1 抗体価の測定に用いた。一部のマウスは前項と同様に, 気道過敏性測定後にト殺し, 肺は常法に従って固定し顕微鏡観察に付した。また, 残りのマウスは肺胞洗浄を行い肺胞洗浄液 (BALF) 中の炎症細胞数等の測定に供した。

本実験に用いた DE 中の NO, NO₂, SO₂ および CO₂ の濃度を表 11 に示した。ここでは Air 群と DEP 濃度として $1\text{mg}/\text{m}^3$ と $3\text{mg}/\text{m}^3$ の DE 吸入群を示す。なお, Air は清浄空気を吸わせた対照群を示す。図 18 には OA を腹腔内投与して感作したマウスと OA 感作をしなかったマウスのアセチルコリン濃度変化に伴う呼吸抵抗 (Rrs) 変化とその呼吸抵抗を 1.5 倍に増加させるに必要なアセチルコリン (ACh) 濃度 (PC₁₅₀) を示した。(a) 欄の OA 感作したマウスではアセチルコリン濃度の上昇につれて呼吸抵抗が DEP 濃度に依存して増加していることを示しており, (b) 欄は各群の PC₁₅₀ 値を示し, 清浄空気を吸入した Air 群, $1\text{mg}/\text{m}^3$ および $3\text{mg}/\text{m}^3$ DE 群の値は各々 3.88 ± 0.54 , 1.85 ± 0.47 および $0.90\pm 0.16\text{mg ACh}/\text{ml}$ で, $1\text{mg}/\text{m}^3$ 群では対照 (Air) 群より 2 倍以上, $3\text{mg}/\text{m}^3$ 群では 4 倍以上に気

表11 ディーゼル排気 (DE) 暴露実験の時のガス状物質の濃度

DEP 濃度群	NO (ppm)	NO ₂ (ppm)	SO ₂ (ppm)	CO ₂ (ppm)
Air	0.04 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.01 ± 0.00	245 ± 33
1 mg/m ³	8.85 ± 0.85	1.42 ± 0.19	0.87 ± 0.04	1,477 ± 146
3 mg/m ³	21.34 ± 2.38	4.02 ± 0.28	1.83 ± 0.10	2,916 ± 220

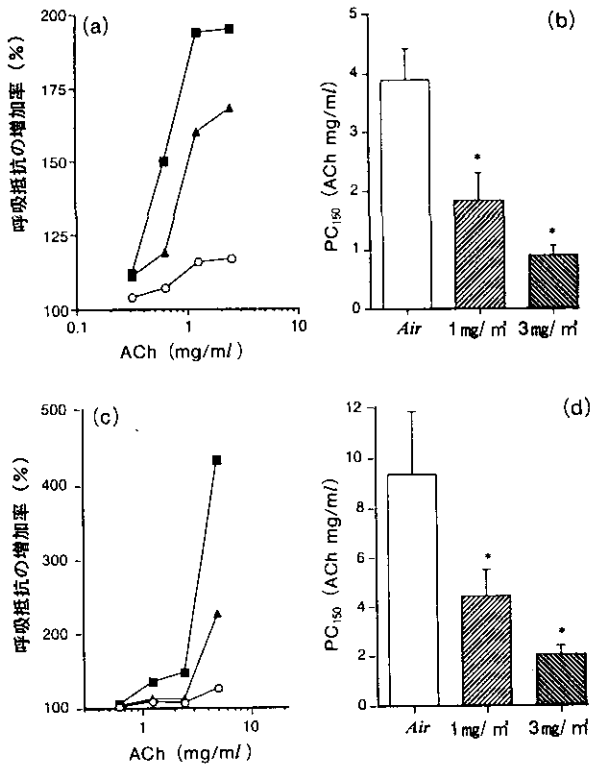


図18 卵白アルブミン (OA) で感作したマウスと感作しなかったマウスに清浄空気 (Air) あるいは DEP 濃度として 1 mg/m³, 3 mg/m³ のディーゼル排気を暴露したマウスのアセチルコリン (ACh) 誘発性気道過敏性 (呼吸抵抗 (Rrs)) 変化
 (a) OA 感作マウスの呼吸抵抗 (Rrs) のパーセント変化; ○は清浄空気 (Air) 暴露群; ▲は 1 mg/m³ 群; ■は 3 mg/m³ 群を示す。(b) 感作マウスの呼吸抵抗 (Rrs) を 50% 増加させるに必要とするアセチルコリンの濃度 (PC₁₅₀)。PC₁₅₀ 値は小さいほど気道が過敏になっていることを示す。*は清浄空気 (Air) 暴露群に比べて有意に低いことを示す。(c) 非感作マウスの呼吸抵抗 (Rrs) のパーセント変化; ○は清浄空気 (Air) 暴露群; ▲は 1 mg/m³ 群; ■は 3 mg/m³ 群を示す。(d) 非感作マウスの呼吸抵抗を 50% 増加させるに必要とするアセチルコリンの濃度 (PC₁₅₀)。

道が過敏になっていることを示している。また、図 18 の (c) と (d) は OA を腹腔内投与しなかった、いわゆる非感作動物の結果を示している。その PC₁₅₀ 値は各々 9.38 ± 2.47, 4.42 ± 1.11 および 2.05 ± 0.37 mg ACh/ml となり 1 mg/m³ 群と 3 mg/m³ 群は対照 (Air) 群より

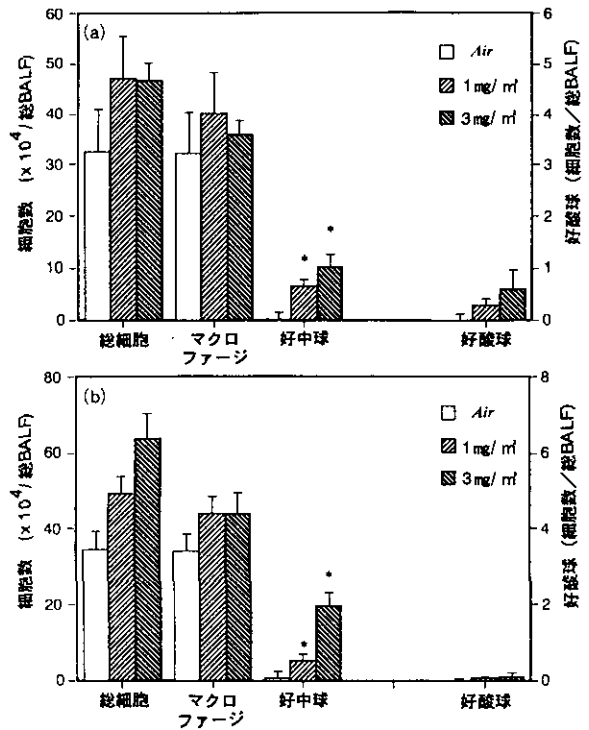


図19 卵白アルブミン (OA) で感作したマウス (a) と感作しなかったマウス (b) に清浄空気 (Air) あるいは DEP 濃度として 1 mg/m³ あるいは 3 mg/m³ のディーゼル排気を暴露した C3H/He 系マウスの肺胞洗浄液 (BALF) 中の総細胞数、マクロファージ数、好中球数及び好酸球数の変化
 (a) OA 感作マウス; (b) 非感作マウス *は清浄空気 (Air) 暴露群に比べて有意に高いことを示す。

各々 2 倍以上と 4.5 倍以上に気道が過敏になっていた。これらの結果より、10 μg OA 腹腔内投与の有無にかかわらず DE 濃度に依存して気道が過敏になることが明らかになった。

図 19 には OA で感作したマウスの肺胞洗浄液 (BALF) 中の細胞数の変化を示した。総細胞数とマクロファージ数は DE 吸入の有無によって有意な変化は認められなかったが、好中球と好酸球数は対照 (Air) 群ではほとんど検出されなかったのに対して、1 mg/m³ 群と 3 mg/m³ DE 群では濃度依存的に有意に増加していた。対照 (Air) 群では好中球、好酸球とも、特に好酸球は全く認められない動物である。この点は、もともと好酸球浸潤の多いモルモットとは著しく異なっている。表 12 には肺の病理標本から計測された気道粘膜下への好酸球の浸潤、気道上皮の粘液産生細胞の増生ならびに肥満細胞数の変化を示した。Air 群は OA ミストの吸入は行っているのでも各群の値は前項までの OA 吸入をしていない対照群の約 10 倍に上昇している。さらに、1 mg/m³ DE 群と 3 mg/m³ DE 群

表12 ディーゼル排気 (DE) 暴露マウスの気道周囲の好酸球浸潤, 肥満細胞遊走および気道上皮の杯細胞の増生 (過形成)

DEP 濃度群	動物数 (n)	好酸球数 (個数/mm)	肥満細胞数 (個数/mm)	杯細胞数 (個数/mm)
Air	5	0.205±0.043	0.044±0.009	9.05±2.43
1 mg/m ³	5	0.411±0.017	0.096±0.029	25.66±4.97
3 mg/m ³	5	0.942±0.176*	0.205±0.074*	59.75±12.19*

*p<0.05, Air 群に比べて。測定単位の個数/mm は表3, 表5 と同じ。

では本実験の Air 群より 4 倍から 6 倍くらいに増加している。たとえば, 好酸球浸潤は, Air 群, 1 mg/m³ DE 群および 3 mg/m³ DE 群で各々 0.205, 0.411 および 0.942 個/mm で, DE 吸入により Air 群より 2 倍, 4.7 倍の増加にすぎないが, 前項に記した OA 吸入をしていない Air 群では 0.02 個/mm であったので, 本来は 20 倍, 47 倍に増加したと見るべきである。粘液産生細胞の増生も前項の OA 吸入をしていない Air 群に比べると DE 吸入で各々 440 倍と 980 倍に相当する増加であった。肥満細胞は, 本実験ではじめて若干ながら増加していたので定量化してみたところ, OA 吸入を行っている Air 群では 0.044 個/mm であったが 1 mg/m³ DE 群と 3 mg/m³ DE 群とでそれぞれ 2 倍と 4.6 倍へと増加していた。

図 20 には上記 3 群の血清中の OA 特異的 IgE と IgG1 抗体価を示した。OA をミストとして吸わせただけの Air 群の IgE 値に増加は認められなかったが, DE 吸入によって若干増加し, 1 mg/m³ 群では 15 タイター, 3 mg/m³ 群では 4 タイターであった。一方, IgG1 値は 5,000 と 2,000 タイターへと著しく増加しており, OA をミストとして吸わせただけの Air 群に比べても 1 mg/m³ 群と 3 mg/m³ 群で 10 倍と 5.5 倍に増加していた。なお, IgE, IgG1 とも 1 mg/m³ 群のほうが 3 mg/m³ 群より高い値を示しており, 濃度依存的ではなかった。しかし, 上記の気道過敏性, 好酸球の浸潤および粘液産生細胞の増生等のぜん息様基本病態はすべて 1 mg/m³ 群から 3 mg/m³ 群へと濃度に依存して増加していた。これらの事実から考えると, IgG1 は必要レベル以上に十分上昇しているのだから, 病態発現を律速していないのかもしれないと思われる。これに対し, IgE タイターは十分に高い値に上昇しているとは考えづらいので, やはりあまり重要な役割は果たしていないのではないかと考えられる。

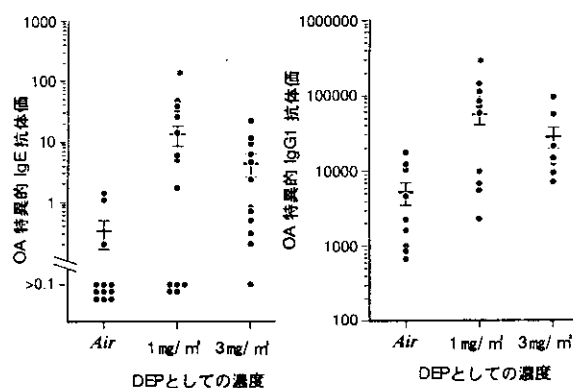


図20 卵白アルブミン (OA) で感作したマウスに清浄空気 (Air) あるいは DEP 濃度として 1 mg/m³ あるいは 3 mg/m³ のディーゼル排気を暴露した C3H/He 系マウスの血清中 OA 特異的 IgE 抗体価 (左欄) 及び IgG1 抗体価 (右欄)
* : Air 群に比べて P<0.05

3.2.3 ディーゼル排気の長期間吸入によるぜん息様病態の発現^{18,19)}

前項の実験で, ディーゼル排気とアレルゲンの吸入のみでぜん息様の基本病態のすべてが発現することを明らかにした。そこで, 本実験では 3 段階の濃度のディーゼル排気を 8 ヶ月間吸入させた長期実験で, 量-反応関係の解析を行うとともに病態の重篤化が起こるかどうかを調べた。

(1) ディーゼル排気長期間吸入実験の方法について

実験には 6 週齢の ICR 系雄マウスを用いた。実験群の濃度は DEP 濃度として 0.3 mg/m³, 1 mg/m³ および 3 mg/m³ とした。この実験も一日 12 時間の吸入であったので, それぞれの群の日平均値は 0.15 mg/m³, 0.5 mg/m³ および 1.5 mg/m³ となる。

この実験時のほかのガス状物質の濃度を表 13 に示した。また, このときの DEP の濃度制御の例を図 21 に示した。図からわかるように DEP の濃度は極めて良好に制御されていた。また, 本実験のデザインは図 22 に

表13 ディーゼル排気 (DE) 中の微粒子 (DEP) およびガス成分の濃度

ディーゼル 排気成分	Air 群	暴露 群		
		0.3mg/m ³ 群	1.0mg/m ³ 群	3.0mg/m ³ 群
DEP濃度	0.02±0.01	0.33±0.02	0.99±0.10	3.24±0.61
ガス成分				
NO _x (ppm)	0.13±0.12	5.12±0.98	16.54±3.30	32.29±4.80
NO (ppm)	0.08±0.10	4.42±0.92	14.15±2.90	27.70±4.92
NO ₂ (ppm)	0.07±0.05	0.89±0.92	2.47±0.60	5.18±1.40
SO ₂ (ppm)	0.02±0.02	0.24±0.07	0.70±0.03	1.40±0.42
CO ₂ (ppm)	475±46	1126±150	2207±312	3810±518
CO (ppm)	1.10±0.11	3.84±0.51	8.49±1.20	15.38±2.09

各濃度は34週間の慢性暴露期間中の平均値±SDで示した。

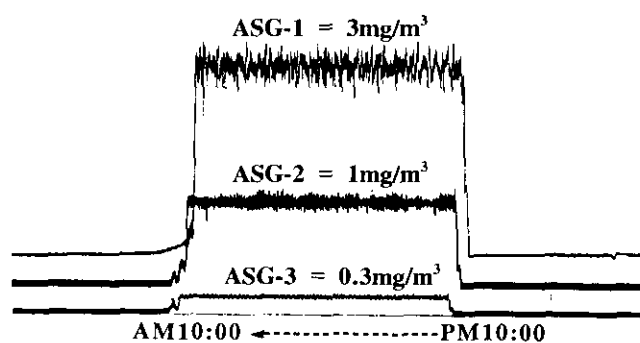


図21 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 濃度として0.3mg/m³ (ASG-3) 群, 1mg/m³ (ASG-2) 群および 3mg/m³ (ASG-1) 群のDEP濃度制御

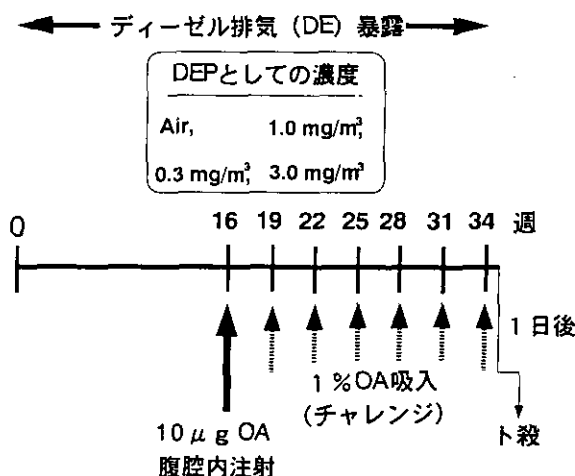


図22 卵白アルブミン (OA) の吸入による免疫処置とディーゼル排気 (DE) 暴露の実験デザイン

示した。マウスは合計128匹を用い、これを各群32匹ずつとして、Air群、0.3mg/m³群、1.0mg/m³群および3mg/m³群の4群に分けた。動物は通算34週間(8ヵ月間)ディーゼル排気(DE)を吸入させた。DE吸入開始から4ヵ月後に10μg OAを1回だけ腹腔内に投与して感作した。この感作形態はヒトでは卵白等の食品摂取に相当するもので現実にあると考え採用した。

その後、すべてのマウスに3週間に1回ずつ合計6回にわたって、オムロン社製ネブライザーで1%OA溶液からミストを発生させて6分間ずつ吸入させた。最後の吸入を行った24時間後に、各群8匹ずつをエーテル麻酔下で心臓せん刺により脱血してト殺した。得られた血液から血清を分離してOA特異的IgEとIgG1の抗体価を測定した。このマウスは肺胞洗浄を行い肺胞洗浄液(BALF)を得、その塗沫標本作製して細胞数の計測に供した。また、各群8匹ずつの残りのマ

ウスは放血ト殺後、常法により肺の病理標本作製し、顕微鏡観察に供した。さらに、残りの各群8匹ずつのマウスは肺を切除し、凍結保存した。この肺は、ホモジナイズ後、超遠心により100,000×g上清を取り、サイトカイン類の測定に供した。

(2) ディーゼル排気による気管支ぜん息様病態の変化

図23にはディーゼル排気を長期間暴露し、その間にOAを6回吸入させたマウスの肺の病理標本から計測した気道の形態変化を示した。左側の欄はOAを吸入させていないDE吸入だけの動物の結果であり、右側の欄はDE吸入とOA吸入の両方を行った動物の結果を示している。形態変化はぜん息様病態の指標としての気道上皮の粘液産生細胞化と粘膜下への好酸球の浸潤を調べた。そのほかにも、一般的に慢性気管支炎の

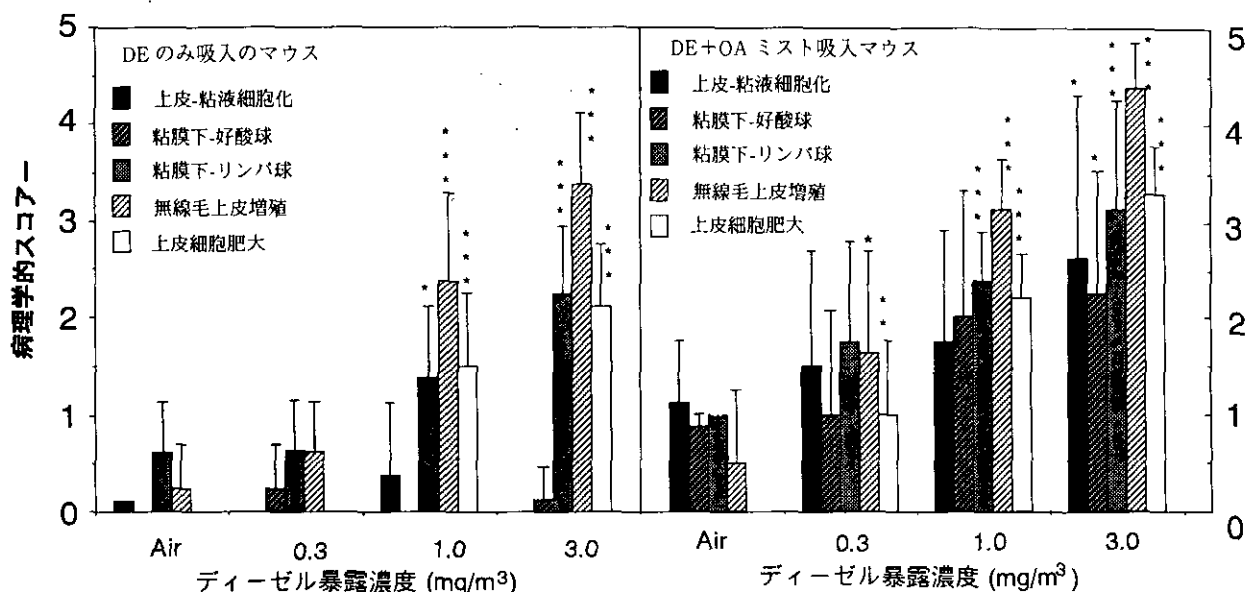


図23 ディーゼル排気 (DE) と卵白アルブミン (OA) のミストを長期間吸わせたマウスの気道の形態変化

左の欄は OA ミスト吸入による免疫処置をせず、DE 暴露のみを行ったマウスの結果を示す。気管支ぜん息様の指標である気道上皮の杯細胞化と気道粘膜下への好酸球の浸潤はほとんど認められない。一方、リンパ球浸潤や無線毛上皮の増殖、上皮細胞の肥大のような慢性気管支炎様の指標は 1 mg/m³ (ASG-2) 群と 3 mg/m³ (ASG-1) 群では対照群より有意に増加していた。

右の欄は OA ミスト吸入による免疫処置をした群で、気管支ぜん息様の指標である気道上皮の杯細胞化と気道粘膜下への好酸球浸潤等の気管支ぜん息様の指標は濃度に依存して増加し、3 mg/m³ (ASG-1) 群では対照群より有意に増加していた。また、リンパ球浸潤や無線毛上皮の増殖、上皮細胞の肥大のような慢性気管支炎様の指標はすべての群で対照群より有意に増加していた。

*P<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

指標と考えられる無線毛上皮の増殖ならびに気道上皮細胞の肥大の程度等を調べた。これら変化の計測には、6段階の病理学的スコア (0~5点) を付けて、8匹分の点数 (スコア) の平均値を求め、各群間の有意差は ANOVA テストによって検定した。

DE 吸入のみのマウス (左側欄) と DE+OA ミスト吸入マウス (右側欄) との間の最も顕著な相違は、DE 吸入のみではぜん息様病態の発現はほとんど認められなかったのに対して、DE+OA ミスト群では気道上皮の粘液産生細胞化と気道粘膜下への好酸球の浸潤というぜん息様病態の両指標とも DE の濃度に依存して増加していたことである。

なお、ぜん息様病態の指標である気管支上皮の粘液産生細胞化と気道粘膜下への好酸球の浸潤はアレルギー (OA) のみを吸わせたマウス (右側欄の Air 群) に比べて 3 mg/m³ 群でのみ有意差を示すにとどまっていた。一方、無線毛上皮の増殖や上皮細胞肥大のような慢性気管支炎様病態の指標は右側欄に示す OA ミスト吸入のみの群 (右側欄の Air 群) に比べて、0.3, 1.0 および 3.0 mg/m³ のいずれの群でも有意に増加している

ことが認められた。また、これらの指標の変化は、DE+OA 吸入群ほどではないが、DE のみの吸入群 (左側欄) でもみられ、1.0 および 3.0 mg/m³ 群では Air 群より有意に増加していた。

図 24 には、DE と OA ミストの吸入を行ったマウスの気道粘膜下へ浸潤した好酸球をディフクイック染色した光学顕微鏡写真を示した。㊸は Air+saline の対照群、㊹は DE のみを吸入させ、OA のかわりに saline のミストを吸わせた DE-Saline 群、㊺は清浄空気と OA ミストを吸わせた Air-OA 群、および㊻は 3 mg/m³ の DE と OA ミストの両方を吸わせた DE-OA 群の病理像を示している。㊸の対照群では肺胞構造はよく保たれており、気道粘膜下への好酸球の浸潤は全く認められない。㊹の DE のみを吸入させた群では気道粘膜下へのリンパ球の浸潤が著しいが、好酸球の浸潤は見られない。なお、気道上皮細胞の肥大あるいは増殖はかなり顕著であることもはっきりと認められる。㊺の OA のみを吸わせた群では肺胞構造はよく保たれているが、気道粘膜下から肺胞にかけて細胞の中心部がピンク色に染まっている好酸球の遊走がわずか

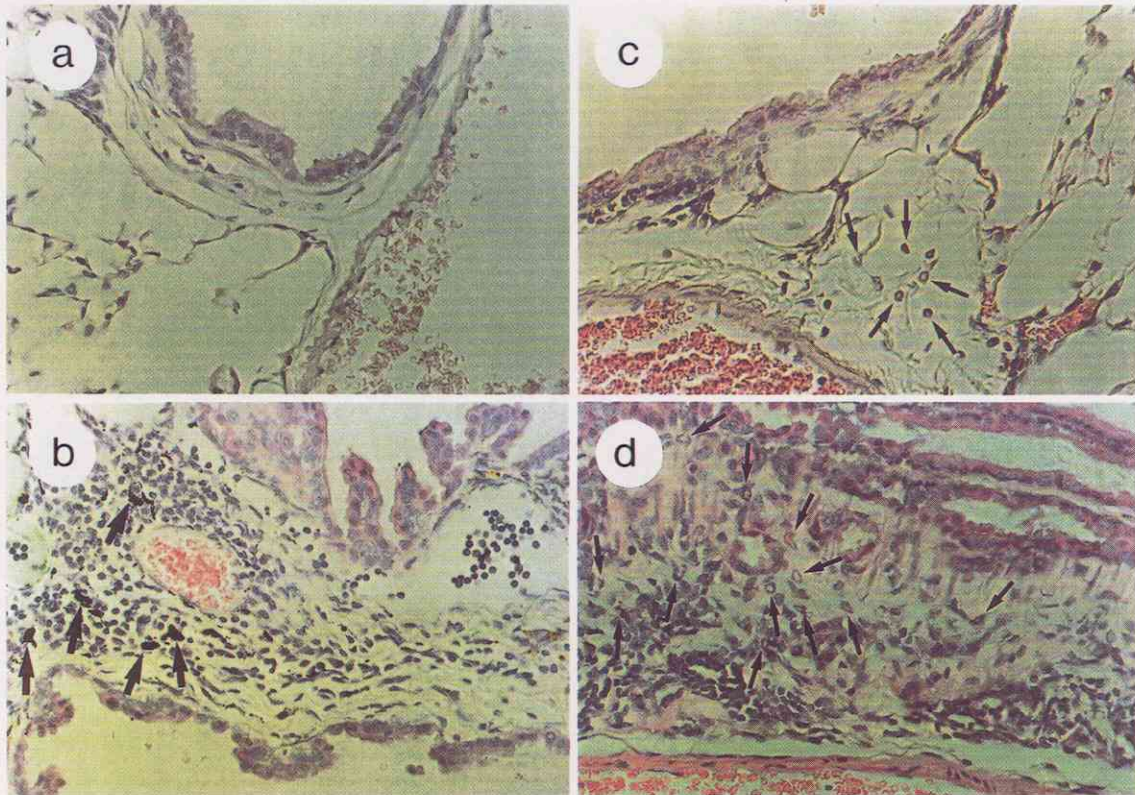


図24 ディーゼル排気 (DE) と卵白アルブミン (OA) を吸入させた各群のマウス気道周囲の好酸球をディクイック (DQ) 染色した光学顕微鏡写真 (×100)

Ⓐ Saline+Air 群, 正常な気道周囲が見られる。Ⓑ Saline+DE (3 mg/m³) 群, 気道粘膜下にリンパ球と粒子を貪食したマクロファージ (矢印) 等の浸潤が無数に見られる。Ⓒ Air+OA 群, 気道粘膜下に浸潤した好酸球 (矢印, 中心部がピンク色に染まっている) がわずかに認められる。Ⓓ OA+DE 群, 気道粘膜下に浸潤した好酸球 (矢印) やリンパ球が無数に見える。

に認められる。これに対して, Ⓓの DE+OA 群では, 気道粘膜下に好酸球と黒色に染まっているリンパ球とが著しく浸潤している。また, 気道上皮細胞の肥大, 増殖も著しく, さらに気管支周囲の平滑筋の収縮肥厚も明瞭に認められる。

図25には, DE と OA の吸入を行ったマウスの気道上皮の粘液産生細胞化を PAS 染色で調べた光学顕微鏡写真を示した。Ⓐ~Ⓓは上記好酸球浸潤を示した群と同じ群を示している。対照群Ⓐの気道上皮細胞は一列に整然と並んでおり, PAS 染色で赤く染まる粘液産生細胞も全く認められない。DE のみの吸入群Ⓑではやはりリンパ球浸潤と上皮細胞の肥大, 増殖が顕著であるが粘液細胞は認められない。OA のみを吸わせた群Ⓒでは矢印で示した赤く染まった粘液産生細胞がわずかに認められるだけであるが, OA+DE 吸入群Ⓓでは気道上皮細胞はほとんど赤く染まった粘液産生細胞に置き換わり, その肥大, 増殖により気道が閉塞している所も認められる。また, 気道粘膜下への細胞浸潤も顕著である。

これらの結果から, アレルゲン (OA) だけの吸入に比べ, ディーゼル排気 (DE) とアレルゲンの両方を吸わせるとぜん息様の基本病態は著しく増悪することが明らかになった。また, DE 吸入だけではぜん息様病態の指標にはほとんど変化が認められないが, リンパ球の浸潤, 気道上皮細胞の肥大, 増殖など慢性気管支炎の指標には著しく影響することが示された。

(3) ディーゼル排気吸入による免疫グロブリン, 気道過敏性およびサイトカイン類の変化

本実験マウスの血清中の OA 特異的 IgG1 と IgE についてみると, IgG1 抗体価は OA 吸入だけで 200,000 タイター以上に増加し, DE との併用でも 2 倍以内の増加にとどまり, OA 群と OA+DE 群とも IgG1 作用発現には十分な濃度に増加しているものと考えられた。一方, IgE 抗体価は DE の濃度に依存して数十タイターに増加していたが, 1 mg/m³ 群だけは数十~数百タイターへと増加していた。しかし, ぜん息様の病態が特に 1 mg/m³ 群で強く発現したということはない。

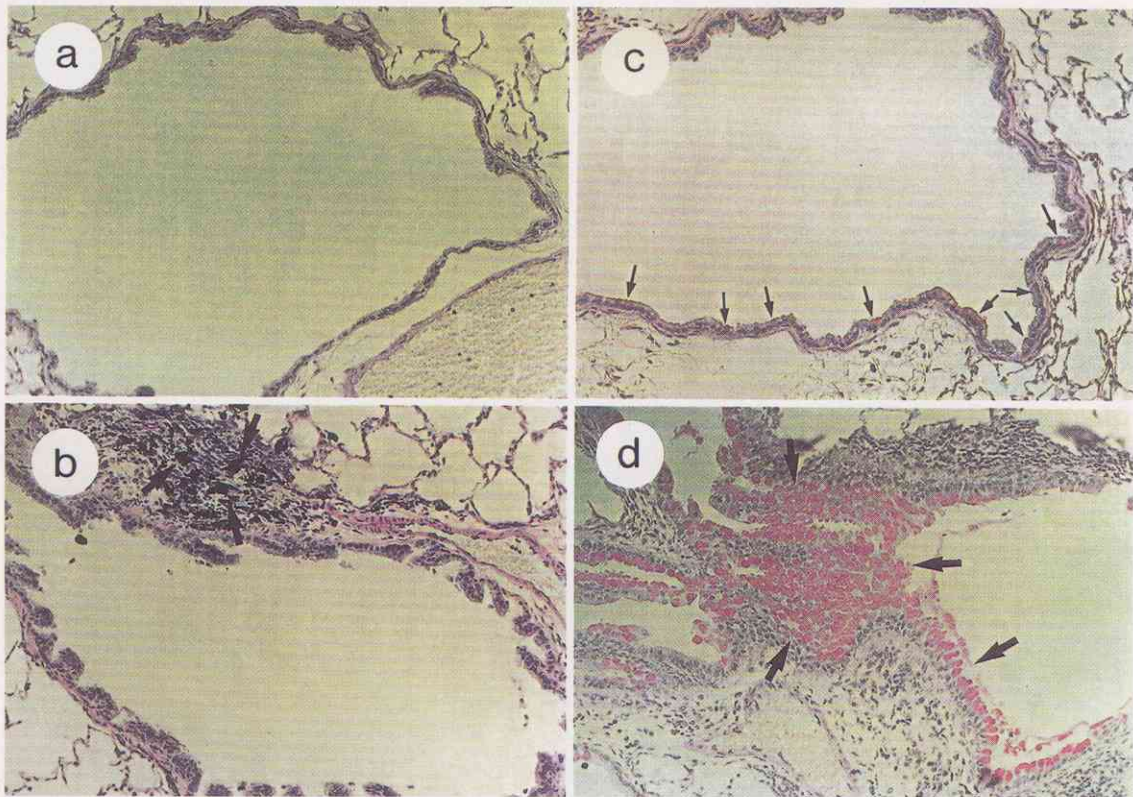


図25 ディーゼル排気(DE)と卵白アルブミン(OA)を吸入させた各群のマウスの気道上皮の粘液産生細胞(杯細胞)をPAS染色した光学顕微鏡写真(×50)

① saline+air 群, 中等度の気管支周囲に異常は見られない。② saline+DE (3 mg/m³) 群, 無線毛上皮の増殖と上皮細胞の肥大等が認められ, 気道粘膜下にはリンパ球と粒子を貪食したマクロファージ(矢印)等の浸潤が無数に見られる。③ OA+air 群, 気道上皮細胞上にわずかにピンクに染まった杯細胞(矢印)が認められる。④ OA+DE 群, 気道上皮細胞のほとんどがピンクに染まる杯細胞(矢印)に変わっており, かつ異常に増生(過形成)している。気道粘膜下には浸潤した好酸球やリンパ球の浸潤が無数に見える。

上記実験では気道過敏性を測定する時間的余裕がなかったためDE吸入をさらに、6週間延長し、その間に3週間おきにOAを吸入させ合計8回のOAを吸入させたマウスの気道抵抗(PC₁₅₀)を測定することを目的とした実験を行った¹⁹⁾。その結果を図26に示した。左のカラムはDEのみを吸入させた動物のPC₁₅₀の変化を示し、右側のカラムはDE+OAミスト吸入動物のPC₁₅₀の変化を示している。図からわかるように、DEのみを吸わせた実験では各DE濃度群間に有意な変化は認められていない。これに対してOA+DE群では1 mg/m³群では対照群とほとんど同じ値であったが、0.3 mg/m³群と3 mg/m³群では濃度に依存して気道が過敏になっている傾向が認められ、3 mg/m³群では対照群に比べて有意な過敏性の上昇を示していた。

また、図27には肺組織中と肺胞洗浄液(BALF)中のIL-5濃度の変化を示した。DEのみを吸入させた動物(左側カラム)のIL-5は検出限界(5 pg/ml)以下

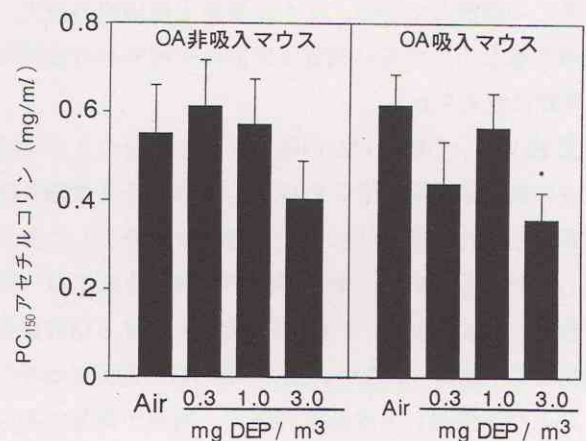


図26 ディーゼル排気(DE)の長期暴露による気道過敏性の亢進

ICR系雄マウスに、DEP濃度として0.3mg/m³、1 mg/m³および3 mg/m³のディーゼル排気を最長34週間暴露。最初の16週間はDEのみを暴露し、その後3週間おきに1%OA液から超音波発生器でミストを発生させ6分間OAを吸入(チャレンジ)した。最終チャレンジの24時間後に呼吸抵抗(Rrs)を測定し、呼吸抵抗を50%増加させるに必要なアセチルコリン(ACh)(PC₁₅₀mg/ml)として表示した。*p<0.05

であった。これに対して、OA+DE吸入動物（右側カラム）のIL-5は肺組織とBALF中ともDE濃度に依存して増加する傾向を示していた。

(4) 低濃度ディーゼル排気によるぜん息様病態発現の可能性についての考察

本実験では、(2)項に述べたごとく、気道粘膜下への好酸球の浸潤や気道上皮の粘液産生細胞への変化というようなぜん息様病態は、OAミストを吸入させた最も濃い濃度の3mg/m³群でのみ有意な増加を示すにとどまった。

ここでは、リスク評価の基礎資料として、病理形態的に点数化したOA投与し、かつDEを暴露した群の個体(n=8)のうちで、好酸球の浸潤が明らかに病的な形態を示す4段階目(3点)以上の点数(スコア)が得られた動物の数をDE濃度に対してプロットし、図28に示した。図中に黒丸で示したように、対照群で3点以上の点数が得られたものはなく、0.3mg/m³群、1.0mg/m³群、及び3mg/m³群で各々2、3、4匹であった。この結果から外挿して、0.1mg/m³DEPというような低濃度域では8匹中1匹は好酸球の浸潤が病的に増加する動物が出現する可能性が推測される。もう一つのぜん息様病態の指標である気道上皮の粘液産生細胞化も全く同じ傾向を示し、0.1mg/m³くらいでは8匹中1匹は病的になる可能性が示唆された。

ここでは、点数が6段階のうちの4段階目以上を仮に陽性として線引きした。この4段階目で線引きすることが妥当かどうかは議論の分かれるところである。そこで、私達は次のような検討を行い、この線引きが不当なものではないことを検証した。すなわち、これまでの実験は、OAミストの最終吸入(チャレンジ)の1日後に動物をト殺して病態の変化を観察してきた。その後、この時点が最も病態が悪化した時期かどうか問題となるので、上記と類似の実験を行い、最終OA吸入(チャレンジ)の1、2、3及び7日後に動物をト殺して上記と同様の検索を行った。このときの好酸球の病態を点数化しグラフにしたものを図29に示した。

図から明らかなようにOA投与後の日数が経過するほど病態は悪化しており、2日後では1日後より明らかに病態悪化の進行が認められた。これは、1日後に4段階目の点数であったものでも、2~3日後では5

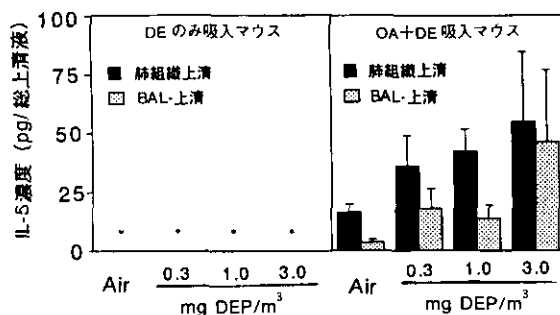


図27 ディーゼル排気 (DE) の長期暴露による肺のサイトカインIL-5産生
実験は図26の記載と同じ。*検出限界以下を示す。

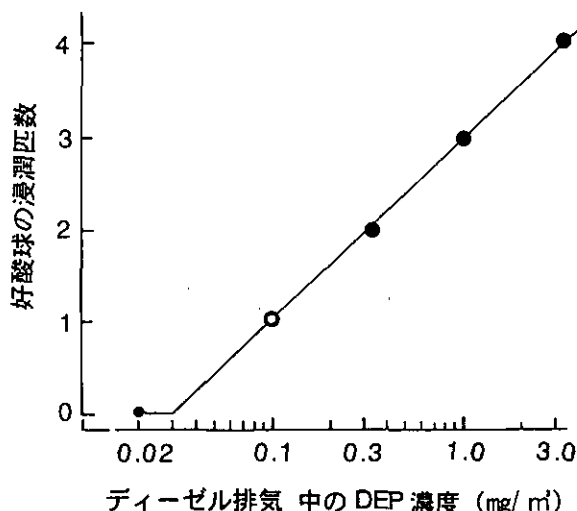


図28 好酸球の浸潤程度が6段階中4段階以上であったマウスの数とディーゼル排気濃度との間の相関
実験には各群8匹のマウスを用いた。血管より気道粘膜下への好酸球の浸潤程度を-, ±, +, ++, +++の6段階に評価し、その中で4段階以上のスコアが付いたマウスの数をDE濃度に対してプロットした。この結果から、SPMの環境基準値である0.1mg/m³の濃度レベルでも8匹中1匹(図中の○)はぜん息様病態を発現する可能性が示唆された。また、気道上皮の杯細胞産生についても全く同様の結果が得られた。

段階目6段階目に進行しうることを示唆している。このような事実から、前記データの4段階目で線引きしたことに特に不都合はないものと考えている。

3.2.4 モルモットぜん息モデルに及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響

(1) はじめに

ヒトの気管支ぜん息と大気汚染物質との関連については、二酸化硫黄 (SO₂)、硫酸ミスト (H₂SO₄) などが気管支ぜん息患者の気道過敏性を亢進させ、かつ気道に直接刺激を与え、これによって気管支ぜん息の症

状を増悪させると指摘されている。しかし、日本における大気中のSO₂汚染は、昭和40年代以降の発生源対策によって著しい改善をみている。これに対して、近年の大気汚染の発生源は、特に大都市地域では主に自動車等の移動発生源に変わってきており、中でも1台当たりの汚染物質排出量の多いディーゼル車が重要な発生源とみなされている。その中でも、特に東京のような大都市部における大気中の浮遊粒子状物質 (SPM) の相当部分はディーゼル車の排気ガス (diesel exhaust, DE) であるとされている⁴⁰⁾。近年、DEあるいはその中のディーゼル排気微粒子 (diesel exhaust particles, DEP) が気管支ぜん息の発症、増悪に関与するのではないかと考えられている。しかし、ヒトの気管支ぜん息との直接的な因果関係については不明な点が多い。そこで、本研究では、DEがアレルギー性気管支ぜん息に増悪因子として作用するか否かを明らかにするために、ヒトに類似した抗原誘発気道反応を示すモルモットを実験モデルとして用い、その影響を検討した。

(2) 実験モデルと気管支ぜん息発作の評価

1) 気管支ぜん息の実験モデルとしてのモルモット

気管支ぜん息の発症機序や病態生理の解明、ならびに治療法の開発などのために各種の動物モデルが作成されている。今回私達は、ヒトによく似た抗原誘発性

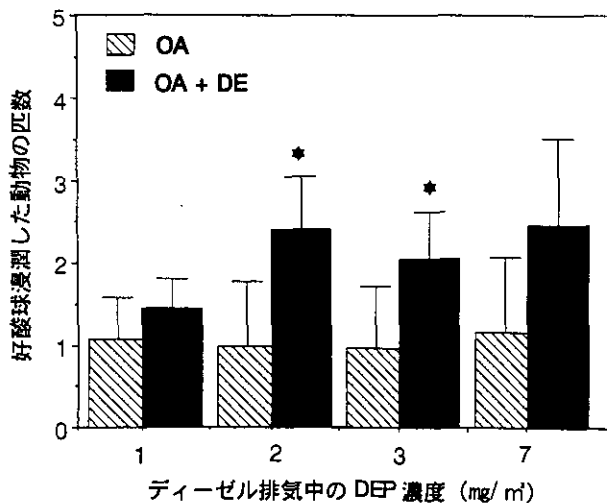


図29 ディーゼル排気 (DE) の長期暴露による気道粘膜下への好酸球浸潤の経時変化
ICR系雄マウスに、DEP濃度として1mg/m³のDEを暴露し、その間3週間おきにOAミストを6回吸入 (チャレンジ) し、最終チャレンジ後1日後、2日後、3日後および7日後にト殺し、6段階評価 (0点から5点まで) で組織の形態観察した。1日後に比べて2日、3日後で有意に増加していた。

気道反応を示すモルモットを用いて実験を行った。モルモットは気管支ぜん息の実験モデル動物として以下のような特徴を持っている。モルモットは従順なので、小動物用体プレチスモグラフ内に無麻酔下に固定して気道抵抗を測定することが可能である。また、抗原に対して、IgG1抗体、IgE抗体を産生して、抗原吸入暴露により即時型及び遅発型の気道反応を起こす⁶⁰⁾。さらに、抗原に対するアナフィラキシー反応の標的臓器が肺であるために、長年、気道過敏性研究のモデル動物として使用されてきた歴史を持っている。

2) モルモットを用いた気管支ぜん息実験モデルの作成

今回用いた感作方法はAndersonらの方法⁶¹⁾を一部変更して行ったもので、高率に抗原誘発性の二相性の気道反応が観察されることが大瀬ら^{62,63)}やUchidaら⁶⁴⁾により報告されている。私たちの作成した実験モデルの作成手順を図30に示した。実験には生後3週齢のHartley系雌モルモットを用いた。同モルモットを、清浄空気 (Air) 暴露し、抗原感作は行わなかった群 (対照群)、清浄空気暴露下に卵白アルブミン (OA) を抗原として感作した群 (OA感作群)、DE暴露し抗原感作を行わなかった群 (DE群)、およびDE暴露下にOAで抗原感作を行った群 (DE+OA感作群) の4群に分けた。DE暴露は国立環境研究所のAC系ディーゼル排気暴露装置で行った。DE暴露群では3.0mg/m³のDEを1日12時間、週7日間暴露した。対照群にはフィルターでろ過した清浄空気を暴露した。抗原感作はDE暴露装置にモルモットを入れてから5日目より開始した。DE暴露開始より5日目にcyclophosphamide (30mg/kg) を腹腔内注射し、その2日後に1000μgのOAを水酸化アルミニウムゲル (アラム) の100mgに懸濁液として腹腔内に注射して感作した。さらに、こ

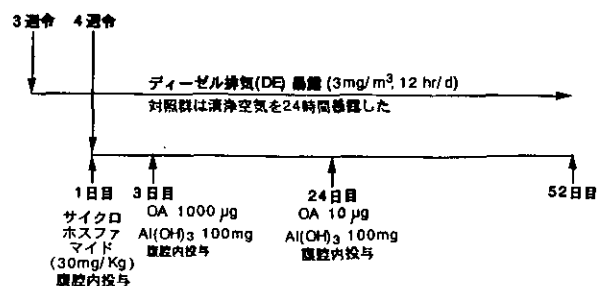


図30 モルモットの気管支ぜん息モデルにディーゼル排気 (DE) を暴露し、ぜん息様病態の増強の有無を調べた実験のデザイン

れより3週間後に10 μ gのOAを水酸化アルミニウムゲル100mgに懸濁して腹腔内注射により追加感作した。

3) 抗原誘発ぜん息反応の測定

24日目の追加感作より4週間目(52日目)にモルモットをDE暴露チャンバーより出し、すなわち清浄空気(Air)あるいはDEの最終暴露より24時間目にモルモットを体プレチスモグラフィ内は無麻酔下に固定し、気道閉塞の指標として特殊気道コンダクタンス(sGaw)を測定した。その後、抗原誘発による気道反応を調べる群では、4mg/mlのOA溶液を超音波ネブライザーにてミストとして90秒間吸入(チャレンジ)させ、気道反応を誘発し、15分ごとにsGawを測定した。

4) 組織標本の作成および形態計測

各群においてOA吸入前、吸入後15分、および吸入後4時間の各時点でト殺し、気管、気管支、肺組織を採取し光学顕微鏡標本と電子顕微鏡標本を作成した。同標本の観察を行うとともに杯細胞および同細胞の分泌顆粒についてもWeibelのPoint-counting法⁶⁵⁾に基づき体積率および平均直径を測定した。

5) シアル酸濃度の測定

シアル酸は糖タンパク質の一種で、ノイラミン酸のアセチル化あるいはグリコシル化誘導体を総称する。気道粘液においてはムチンと呼ばれる高分子糖タンパク質のコアタンパク質に結合した糖鎖の中にノイラミン酸として含まれている。このことから、気道過分泌の生化学的指標として、気管支肺胞洗浄液中のシアル酸濃度を測定した。気管支肺胞洗浄では少量の注入では気道成分が回収され、肺胞成分の回収は少なく、注入量が多くなるにつれて末梢肺-肺胞成分が多く回収される。このため、今回の気管支肺胞洗浄は肺胞成分ではなく気道成分を反映する初回回収液を対象とした。15mlの生理的食塩水で気管支肺胞洗浄を行い、各々13.5mlを回収した。この回収液を1500rpm、5分間の遠心分離を行い細胞を除いた後、上清中のシアル酸濃度を過ヨウ素酸-チオバルビツール酸反応^{66,67)}により測定し、気道における粘液分泌の指標とした。

(3) 気管支ぜん息発作に対するディーゼル排気ガスの影響について

1) DE暴露の抗原誘発性気道反応に及ぼす影響

DE暴露+OA感作群では、OA吸入(チャレンジ)

後、他の群に比べてsGawの絶対値は低下した。特に、OA吸入(チャレンジ)45分目以降でDE暴露していないOA感作のみの群に比べて有意に低下し、4時間目までの変化に有意な差を認めた。このことは、気流閉塞の程度が大きくなり、即時型気道反応(immediate airway response, IAR)から遅発型気道反応(late airway response, LAR)に至る間にみられる気流閉塞の改善が十分でなかったことを意味する(図31)。この原因を明らかにするために、気道内への粘液の過分泌に着目して検討した。気道内に過分泌された粘液が多量かつ広範になると気道抵抗の上昇につながる。また、分泌物が気道内に貯留することにより、それ自体では気道抵抗に顕著な影響を及ぼさない程度の場合においても、気道収縮反応時には、気道内に粘液が貯留する場合には貯留しない場合に比べて気道抵抗の上昇が急激になり、気流閉塞の増悪、気道過敏性の悪化につながる^{68,69)}とされている。

2) ディーゼル排気暴露の気道分泌反応に及ぼす影響

① 組織学的検討

気管や気管支領域の光学顕微鏡による組織所見(HE染色)の観察においては、対照群とDE暴露群ではOA吸入前と吸入直後では明らかな変化を認めなかった。

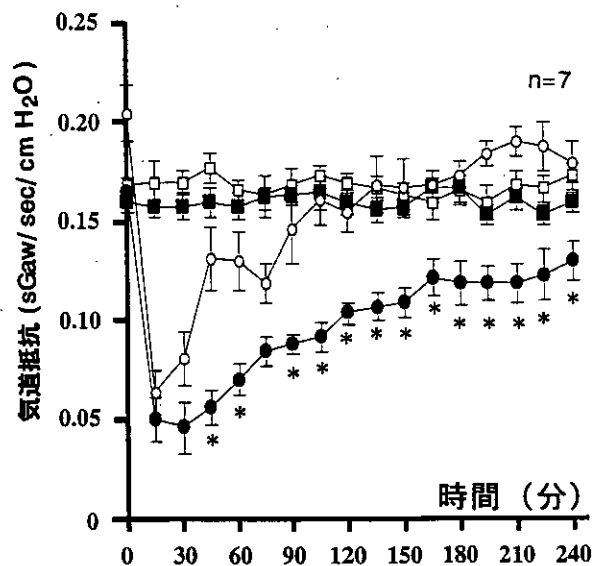


図31 ディーゼル排気(DE)を暴露したぜん息モデル・モルモットに卵白アルブミン(OA)を吸入(チャレンジ)させた後の気道抵抗(sGaw)の経時的変化。DEの暴露濃度はDEP濃度として3mg/m³とし、8週間暴露した。その間に、サイクロホスファミド投与やOA-アラム感作を行い、最後にOAミストを吸入(チャレンジ)させてsGawを測定した。□: Air群; ■: DE(3mg/m³)群; ○: Air+OA感作群; ●: DE(3mg/m³)+OA感作群; 各群とも7匹ずつのモルモットを用いた。

しかし、DE+OA 感作群では、OA 吸入前には気道粘膜下に、OA 吸入後には粘膜下および気道内に好酸球の浸潤が認められた。OA 吸入後4時間目の時点で、OA 感作群では粘液の染色法であるアルシアンブルー染色陽性の滲出物が気道腔内に索状に見られた(図32)。さらにDE+OA 感作群では、同滲出物は気道内腔を塞ぐほどの粘液栓として認められた(図32)。これらの結果から、DE+OA 感作群では抗原吸入(チャレンジ)により、気道内の粘液が増加することが認められた。中でも、DE+OA 感作群では同滲出物は気道内腔を塞ぐほどに著しく増加した所見が認められた。この滲出物は、アルシアンブルーにより青色に染色されるため、酸性糖タンパク質と考えられ、PAS 染色陽性の中性糖タンパク質に比べて病的意義が大きいと考えられる。

②電子顕微鏡(EM)を用いた気道上皮杯細胞の組織学的検討と形態計測による検討
 モルモットの気管支上皮の電子顕微鏡観察(図33,

34)では、気道上皮の杯細胞中の粘液分泌顆粒が、OA 感作群で、OA 吸入4時間後に若干減少しているのが認められた(図33-d)。これに対し、DE+OA 感作群のマウスにOAを吸入(チャレンジ)4時間後においてはさらに著明に減少していた(図34-d)。

電子顕微鏡によるモルモット気管支上皮の杯細胞の形態計測による検討では、気管支上皮に占める杯細胞の体積率はOA 感作群、DE+OA 感作群ともOA 吸入(チャレンジ)前後で有意な差を認めなかった。52日目のOA吸入をしていないモルモットの気管支上皮の杯細胞内の分泌顆粒の平均直径(μm)は、DE+OA 感作群で $1.007\mu\text{m}$ であり、OA 感作のみの群では $0.709\mu\text{m}$ であり、DE+OA 感作群においてはOA吸入前の段階で有意($p<0.05$)な増大を認めた(図35)。Weibelのpoint counting法による杯細胞内粘液分泌顆粒の体積率の検討では、OA 感作群のOA吸入4時間後の動物においてはDE暴露した群もしなかった群もともに分泌顆粒の体積率は有意($p<0.01$)に低下し

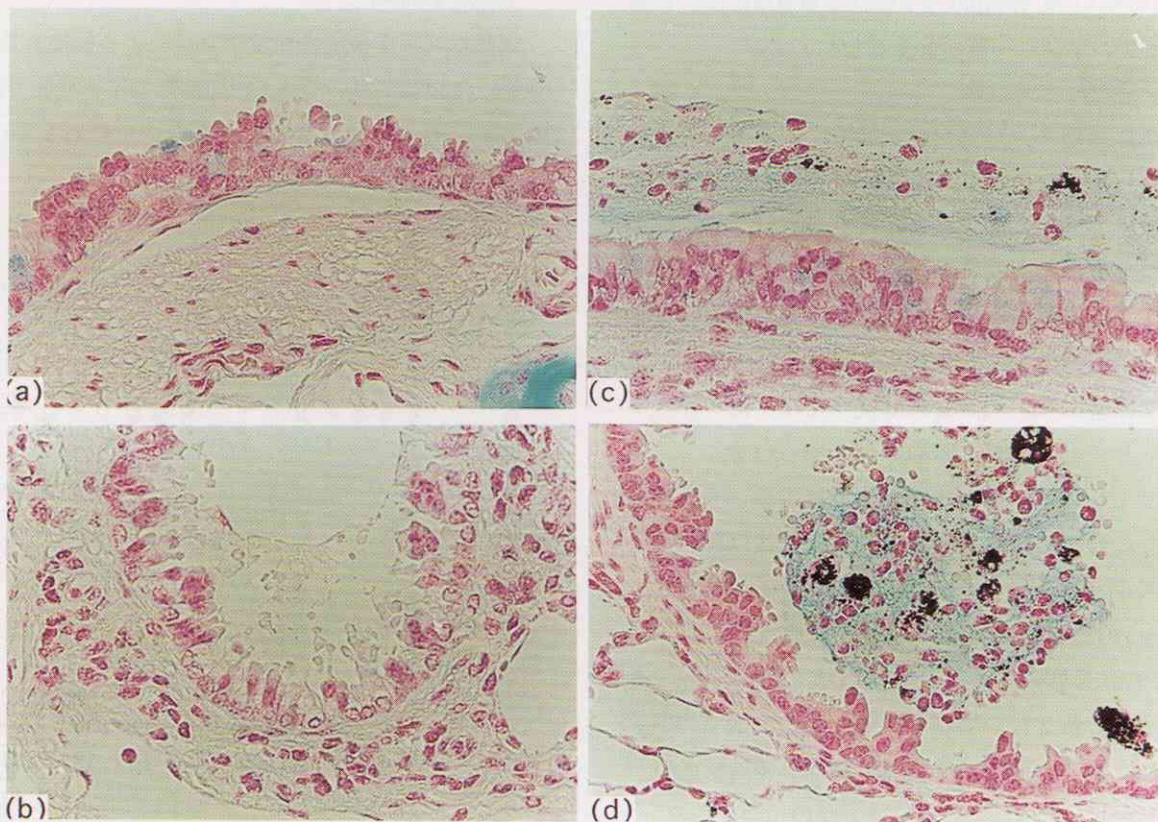


図32 ディーゼル排気(DE)暴露をしていないぜん息モデル・モルモットにディーゼル排気(DE)を暴露しない場合と暴露した場合のモルモットの気管支周囲の病理組織像
 (a) 清浄空気(Air)吸入群: Air吸入の間にOA-アラムで感作し、最後にOAミストを吸入(チャレンジ)させた。その4時間後にト殺し、アルシアンブルー染色した軟骨を含む気管支周囲像 (b) (a)と同じ群の同時点の末梢気管支(径2mm程度) (c) DE暴露群: DE暴露の間に、OA-アラムで感作し、最後にOAミストを吸入(チャレンジ)させ、その4時間後にト殺し、アルシアンブルー染色した軟骨を含む気管支周囲像 (d) (c)群と同時点の末梢気管支(径2mm程度)

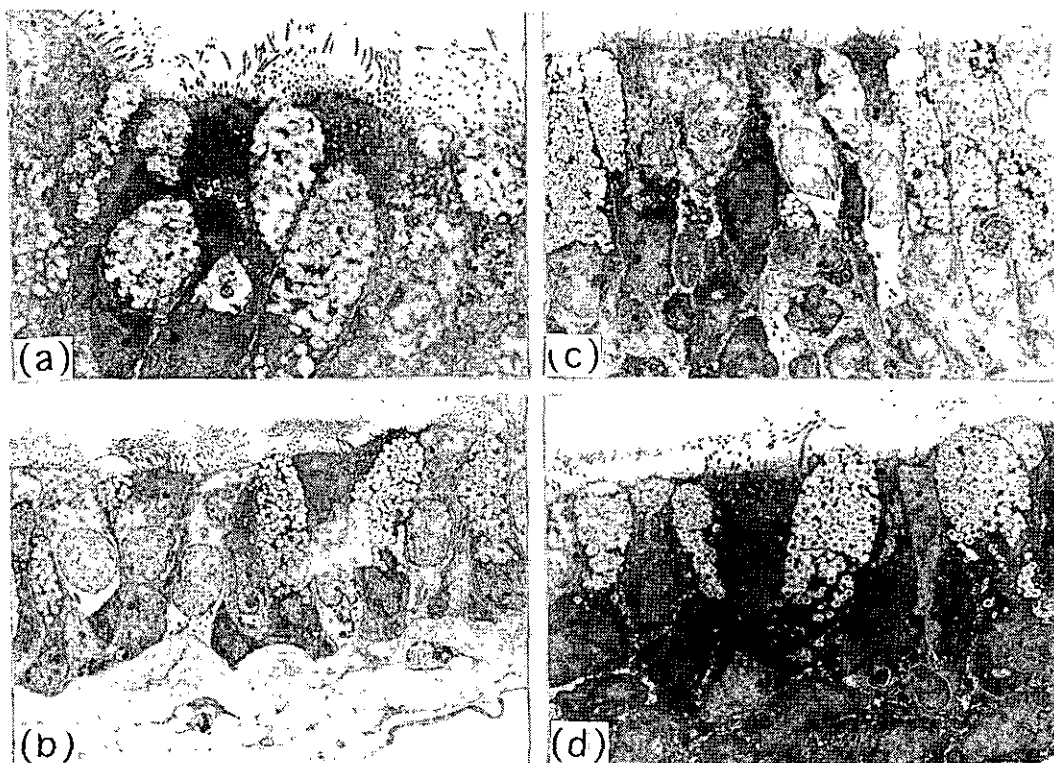


図33 OA-アラムによる感作を行っていないモルモットの気管支粘膜上皮の電子顕微鏡像 (×1000)
 (a) 清浄空気暴露対照群, OA 吸入 (チャレンジ) 前 (b) 清浄空気暴露対照群, OA 吸入 (チャレンジ) 4 時間後 (c) DEP 濃度として 3 mg/m^3 の DE 暴露群, OA 吸入 (チャレンジ) 前 (d) DEP 濃度として 3 mg/m^3 の DE 暴露群, OA 吸入 (チャレンジ) 4 時間後

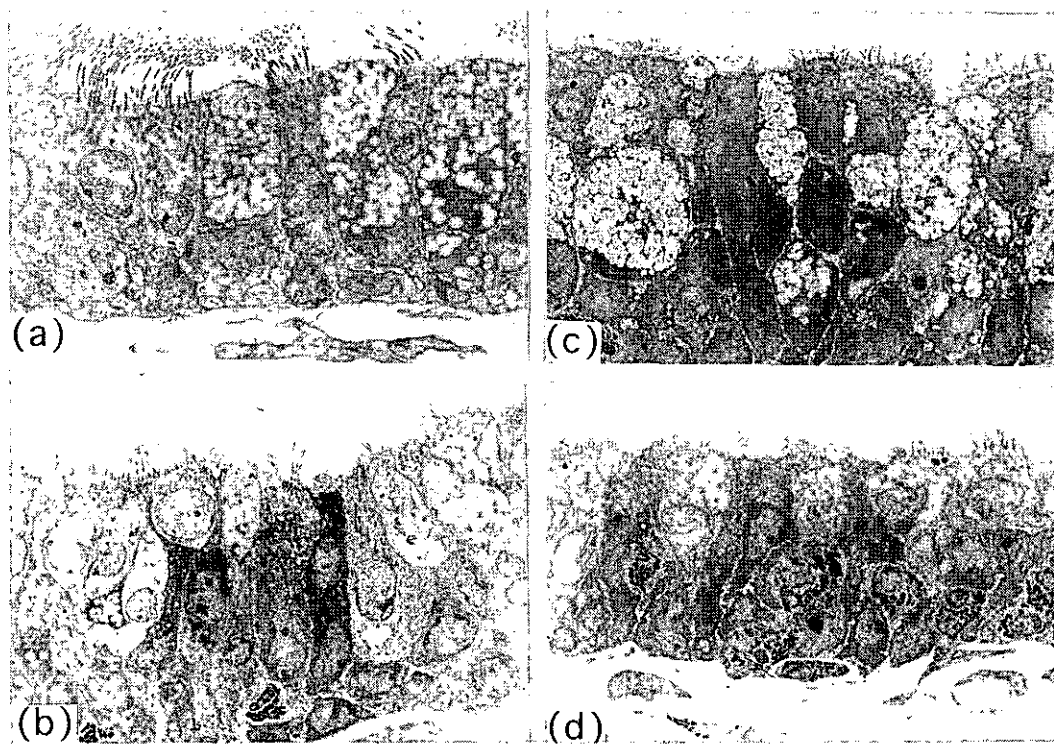


図34 OA-アラムによる感作を行ったモルモットの気管支粘膜上皮の電子顕微鏡像 (×1000)
 (a) 清浄空気暴露と OA-アラムによる感作群, OA 吸入 (チャレンジ) 前 (b) 清浄空気暴露と OA-アラムによる感作群, OA 吸入 (チャレンジ) 4 時間後 (c) DEP 濃度として 3 mg/m^3 の DE 暴露と OA-アラムによる感作群, OA 吸入 (チャレンジ) 前 (d) DEP 濃度として 3 mg/m^3 の DE 暴露と OA アラムによる感作群, OA 吸入 (チャレンジ) 4 時間後

ていた (図 36)。さらに、DE 暴露群においては DE 暴露していない群に比較し、さらに顕著な低下が認められた。これらの所見は、杯細胞の過形成といえるほどの所見ではないものの、杯細胞内の顆粒の増大と抗原誘発による気道内への粘液分泌の増加所見と考えられる。

杯細胞は粘液分泌細胞であるが、杯細胞から分泌されるムチンの量はヒト健常者では粘液下腺より分泌されるムチンに比べて極めて少ない。しかし、慢性気道炎症においては、杯細胞由来のムチン量が増えることが明らかになっており、特に気管支ぜん息患者の末梢気道における杯細胞由来のムチンは、気道閉塞の原因として重要な「粘液栓 (mucus plug) あるいは粘液塞栓 (mucus impaction) の形成」に大きな役割を果たしている。したがって、病理学的に観察された杯細胞の過形成はムチンの分泌増加を意味する。気管支ぜん息死の剖検肺では末梢気道の杯細胞の増加が顕著にみられ、気道腔内粘液と連続する所見がみられることが指摘されており、気管支ぜん息の重症化に重要な意味を持つ。今回の実験では、杯細胞の過形成あるいは気

道上皮細胞の杯細胞化は確認されなかったが、DE 暴露により杯細胞あたりの分泌顆粒は直径が大きくなった。外分泌顆粒では分泌間近の顆粒は形態学的に大きくなるといわれており²⁰⁾、DE 暴露の影響として分泌顆粒の成熟が考えられる。また、抗原誘発気道反応により杯細胞からの分泌顆粒の減少すなわち分泌が起こると考えられるが、DE の暴露により細胞あたりの分泌顆粒の分泌現象は増強すると考えられる。

③気管支肺胞洗浄液中のシアル酸濃度

気管支肺胞洗浄液中のシアル酸濃度は OA 感作し、さらに OA の吸入 4 時間後の群では OA 吸入前の群に比べ有意に増加していた。また、OA 吸入 4 時間後の群の中でも清浄空気を吸わせた群より DE 暴露群でさらに顕著に増加していた。なお、OA 感作をしなかった群では DE 暴露の有無や OA 吸入の有無にかかわらず、すべての群間で差がみられなかった (図 37)。この結果より、OA 感作群の OA 吸入による抗原誘発気道反応時には、気管支肺胞洗浄液中のシアル酸濃度が増加することから、気道での粘液分泌が亢進したと考えられるが、DE 暴露がこの現象をより増強すると考えられた。また、これは杯細胞の過形成に至っていない

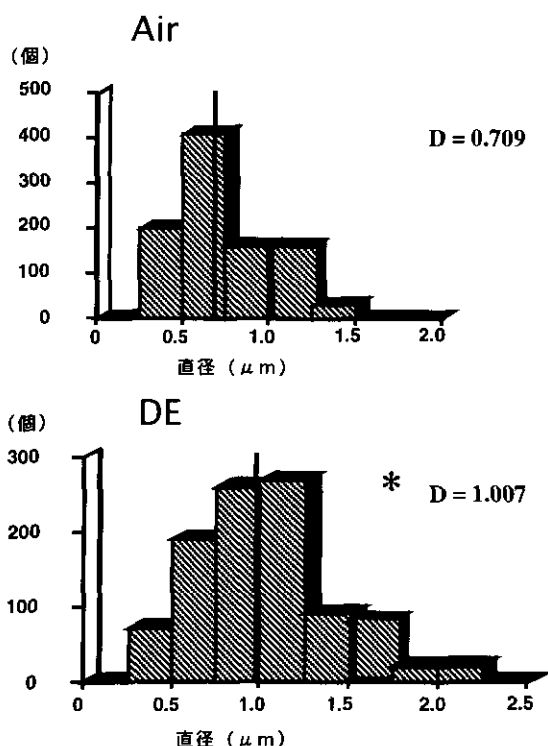


図35 ぜん息モデル・モルモットの杯細胞分泌顆粒直径のヒストグラム

上段の Air は清浄空気を暴露し、OA 感作した群。分泌顆粒の平均直径は $0.709 \mu\text{m}$ であった。下段の DE は DEP として $3 \text{ mg}/\text{m}^3$ の DE を暴露し、OA 感作した群。分泌顆粒の平均直径は $1.007 \mu\text{m}$ で上段の値より $*p < 0.01$ で有意差あり。

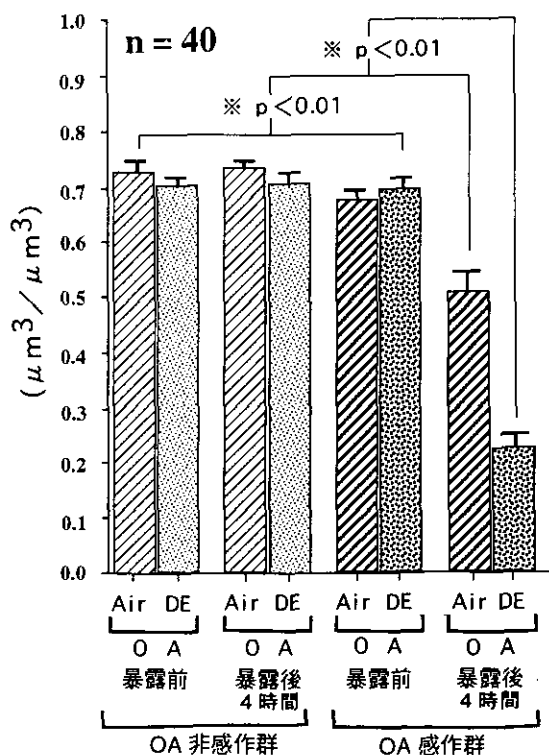


図36 ぜん息モデル・モルモットの杯細胞における分泌顆粒の体積率の変化

Air は清浄空気を暴露群で、DE は DEP として $3 \text{ mg}/\text{m}^3$ の DE を暴露し、OA 感作した群

段階で確認されたことから、実際に杯細胞あたりの粘液顆粒分泌現象の増強が広範囲に起きていることを支持する所見と考えられる。

3) DE 暴露による気道上皮細胞の線毛傷害とその影響
透過型電子顕微鏡による観察において、DE 暴露群 (DE 暴露のみの群, DE+OA 感作群) では気道上皮の線毛が、OA 感作の有無にかかわらず、OA 吸入前からすでに、消失あるいは短毛化しているのが認められた (図 33(c) (d), 図 34(c) (d))。DE 暴露をしていない OA 感作のみの群では、OA 吸入後 4 時間目で気道上皮の線毛に傷害がみられた (図 34(b))。気管支ぜん息における気道上皮の線毛傷害はアレルギー性炎症による上皮剥離などの結果生じるものが主であるとされている。OA 感作群でみられた図 34(b) の所見はそういった変化を反映していると考えられる。これに対して、DE 暴露によって生じたと考えられる気道上皮の線毛傷害は、別の機序により発生したものと考えられる。気道上皮の線毛は線毛運動により気道粘液のクリアランスに重要な役割を果たしている。従って、気道上皮を覆うように存在する線毛が消失あるいは短毛化してその機能を著しく損なえば、気道粘液のクリアランスは低下し、気道粘液に捕そくされた異物は排除が遅れるか停滞することになり、異物に起因する影響をさらに大きくする可能性がある。また、気道の粘液産生が増加した場合にも、その排出・除去が遅れることが考えられる。気道粘液の産生に変化がない場合の線毛の消失・短毛化が及ぼす影響がどの程度のものになるのかは不明であるが、明らかに気道粘液産生が亢進した状況ではその粘液のクリアランスが低下することによって影響が顕在化することが考えられる。

これまでも述べてきたように、ヒトの気管支ぜん息においても、その発作時には粘液の過分泌が起こっており、気道内に粘液が増加する。さらに、ヒトの気管支ぜん息では気道支平滑筋収縮による気道狭窄や気道粘膜浮腫による気道狭窄も起こるために、気道内粘液のクリアランスが低下することは、気流閉塞の悪化をさらに著しくする恐れがある。DE 暴露による気道上皮の線毛の傷害が存在することは、気管支ぜん息においては抗原によって誘発される気道反応の発生時にすでに気道粘液のクリアランスが低下していることを意味し、気道反応初期より影響が生じうると考えられる。したがって、気道粘液の増加は抗原誘発気道反応の気流閉塞を反応初期より悪化させる因子として重要であると考えられる。

(4) まとめ

気管支ぜん息患者が大気汚染地域に移住した場合に症状が増悪し、大気汚染地域から転地すると症状が軽減することは、臨床的に経験されることである。しかし、DE との因果関係については不明な点も多く、種々の観点から研究が進められている。今回の私達の研究ではモルモットに DE を暴露すると抗原によって誘発される気道反応 (気道閉塞) が抗原吸入直後より増強された (図 31)。さらに、この実験では気道腔内に著明な粘液塞栓を認め、杯細胞内の分泌顆粒の著しい減少を認め、さらに気管支肺胞洗浄液中のシアル酸濃度が増加していたことを認めた。DE は杯細胞からの粘液の分泌を亢進することにより、気流閉塞に悪影響を及ぼす可能性が示唆された。特に、広範で著しい気道の粘液塞栓はヒトの致死性気管支ぜん息において認められる特徴的な病理所見であり、気管支ぜん息の重症化の機序を検討していく上で重要な所見と考えられる。

粘液分泌の亢進は細胞レベルにおいて杯細胞の過形成、粘液 (ムチン) の産生亢進、同過分泌に分けて考えることができる。いずれも気管支ぜん息で認められる所見であり、また他の刺激性吸入物質によっても起こりうる変化である⁶¹⁾。杯細胞の過形成は Sagai ら⁸⁾によりマウスへの DEP の気管内注入によって起こりうることを報告されているが、今回のモルモットを用いた実験で、粘液染色および形態計測による検討では明らかな過形成は確認されなかった。これは、動物の種差によるのかもしれない。また今回の実験が、生理的

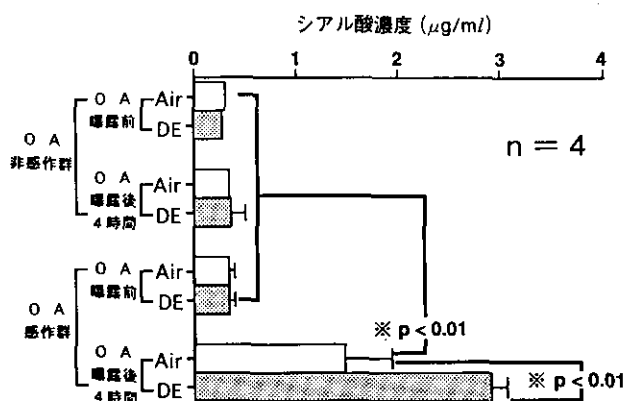


図 37 ぜん息モデル・モルモットの気管支肺胞洗浄液中のシアル酸濃度の変化

吸入であり、10週間程度の短期暴露（亜急性吸入）であることなども関係しているものと考えられる。また、DE暴露を受けたモルモットでは、OA感作の有無にかかわらず、気道上皮の線毛の消失や短毛化が認められた。この気道上皮の線毛の傷害は、気道粘液クリアランスを低下させ、気流閉塞現象を増幅し、悪化させる可能性が疑われた。

（本3.2.4項は筑波大学・臨床医学系・呼吸器内科・内田義之講師と橋本健一博士に御執筆をいただき、編集担当者が加筆修正した。文責は編集担当者にある。）

3.2.5 まとめ

（1）ディーゼル排気（DE）とアレルゲン（OA）の両者の吸入によって、マウスの気道粘膜下への好酸球の浸潤を伴う慢性気道炎症や気道上皮の粘液産生細胞（杯細胞）化などのぜん息様の基本病態が顕著に発現する事が認められた。

（2）ディーゼル排気吸入のみではそれらぜん息様病態はほとんど認められなかった。しかし、慢性気管支炎様の病態指標の悪化が認められた。アレルゲンだけの吸入でもぜん息様病態は極めて軽度であり、両者の複合によって病態が増悪することが示された。

（3） $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ のDEPのような低濃度領域でのぜん息様病態発現の確率推定のために、病態を6段階に点数化して4段階以上のスコアのものを陽性として、各濃度群で陽性と見なされた匹数をプロットすると、 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ レベルでも8匹に1匹の確率で病態が発現する可能性が示唆された。

（4）モルモットにアレルゲン（OA）をアラムとともに投与して作製（感作）したぜん息モデルにディーゼル排気ガスを吸入させ最後にOAのミストを吸入（チャレンジ）すると、二相性の気道閉塞が増強されることを見いだした。この閉塞の増強は気道内の粘液の過剰産生によって起こることが認められた。このことは、アレルゲンの吸入だけでは軽度な病態でもディーゼル排気暴露との併用によってぜん息様症状が増悪することを示している。

3.3 アレルギー性鼻炎様症状に及ぼすディーゼル排気（DE）の影響

3.3.1 はじめに

近年、アレルギー性鼻炎やそれに伴うアレルギー性

副鼻腔炎患者が急速に増加してきている。その原因の一つとして、大気汚染とくに自動車の排気ガスの影響が考えられている⁷¹⁾。スギ花粉症に関する栃木県日光市の調査では、スギ花粉の飛散数が同じでも、自動車通行量の多い地域では自動車通行量の少ない地域に比べて有意に花粉症の頻度が高いことが報告されている⁷²⁾。このことより、花粉症の発症には花粉とともに自動車の排気ガスも関与していることが示唆された。

自動車排気ガスの中でも、特にディーゼル排気（DE）やディーゼル排気微粒子（DEP）とアレルギー性疾患との関係が注目されてきており、DEPの点鼻投与によりIgE抗体の著しい上昇が引き起こされることが多くの動物実験で示され⁷³⁻⁷⁹⁾、DEPにはアジュバント作用があることが示されている。

また最近、米国UCLAのD. SanchezとA. Saxsonらのグループはボランティア100人の鼻にDEPやブタクサの花粉を噴霧し、ブタクサ花粉だけの群ではIgE増加は通常の10~20倍程度であったのに対し、DEP+ブタクサ花粉群では50~500倍にも増加し、この増加にAh受容体（細胞質内に浮遊している情報伝達タンパク質で、ベンゾ（a）ピレンのような多環芳香族炭化水素と容易に結合し、遺伝子を活性化させるもの）が関与していると報告している¹²⁰⁾。また最近、ダイオキシンがアレルギー性疾患を引き起こすことが知られてきた。ダイオキシンはこのAh受容体との結合能力が著しく強い化合物で、その結合を介してIgE抗体を産生する遺伝子を活性化させる¹²⁰⁾ものと考えられている。

一方、先の3.1.1項の表2に示したように、私達はDEPとアレルゲンを鼻腔を介さず、直接気管内に投与するとIgE抗体価は全く増加しないことを経験した。これは鼻腔に粒子を効果的に吸収するメカニズムが存在することを示唆しているものと考えられる。

鼻腔は外界と直接接触する器官であることから、病原微生物や抗原などの付着や侵入に対する防御機能として、鼻粘膜リンパ組織（nasal-associated-lymphoid-tissue, NALT）が発達している。最近、Alparら¹²¹⁾は粒径 $0.83\mu\text{m}$ の疎水性蛍光微粒子を経鼻腔（点鼻）投与したところ、このNALTにおいて疎水性微粒子が極めて効率的に吸収されることを報告した。さらに、Heritageら¹²²⁾は同様の疎水性微粒子とヒトの血清アルブミンを抗原として用いると、溶液として投与した場合よりIgG産生が有意に高く、鼻腔からの免疫誘導が顕著に

吸入であり、10週間程度の短期暴露（亜急性吸入）であることなども関係しているものと考えられる。また、DE暴露を受けたモルモットでは、OA感作の有無にかかわらず、気道上皮の線毛の消失や短毛化が認められた。この気道上皮の線毛の傷害は、気道粘液クリアランスを低下させ、気流閉塞現象を増幅し、悪化させる可能性が疑われた。

（本3.2.4項は筑波大学・臨床医学系・呼吸器内科・内田義之講師と橋本健一博士に御執筆をいただき、編集担当者が加筆修正した。文責は編集担当者にある。）

3.2.5 まとめ

（1）ディーゼル排気（DE）とアレルゲン（OA）の両者の吸入によって、マウスの気道粘膜下への好酸球の浸潤を伴う慢性気道炎症や気道上皮の粘液産生細胞（杯細胞）化などのぜん息様の基本病態が顕著に発現する事が認められた。

（2）ディーゼル排気吸入のみではそれらぜん息様病態はほとんど認められなかった。しかし、慢性気管支炎様の病態指標の悪化が認められた。アレルゲンだけの吸入でもぜん息様病態は極めて軽度であり、両者の複合によって病態が増悪することが示された。

（3） $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ のDEPのような低濃度領域でのぜん息様病態発現の確率推定のために、病態を6段階に点数化して4段階以上のスコアのものを陽性として、各濃度群で陽性と見なされた匹数をプロットすると、 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ レベルでも8匹に1匹の確率で病態が発現する可能性が示唆された。

（4）モルモットにアレルゲン（OA）をアラムとともに投与して作製（感作）したぜん息モデルにディーゼル排気ガスを吸入させ最後にOAのミストを吸入（チャレンジ）すると、二相性の気道閉塞が増強されることを見いだした。この閉塞の増強は気道内の粘液の過剰産生によって起こることが認められた。このことは、アレルゲンの吸入だけでは軽度な病態でもディーゼル排気暴露との併用によってぜん息様症状が増悪することを示している。

3.3 アレルギー性鼻炎様症状に及ぼすディーゼル排気（DE）の影響

3.3.1 はじめに

近年、アレルギー性鼻炎やそれに伴うアレルギー性

副鼻腔炎患者が急速に増加してきている。その原因の一つとして、大気汚染とくに自動車の排気ガスの影響が考えられている⁷¹⁾。スギ花粉症に関する栃木県日光市の調査では、スギ花粉の飛散数が同じでも、自動車通行量の多い地域では自動車通行量の少ない地域に比べて有意に花粉症の頻度が高いことが報告されている⁷²⁾。このことより、花粉症の発症には花粉とともに自動車の排気ガスも関与していることが示唆された。

自動車排気ガスの中でも、特にディーゼル排気（DE）やディーゼル排気微粒子（DEP）とアレルギー性疾患との関係が注目されてきており、DEPの点鼻投与によりIgE抗体の著しい上昇が引き起こされることが多くの動物実験で示され⁷³⁻⁷⁹⁾、DEPにはアジュバント作用があることが示されている。

また最近、米国UCLAのD. SanchezとA. Saxsonらのグループはボランティア100人の鼻にDEPやブタクサの花粉を噴霧し、ブタクサ花粉だけの群ではIgE増加は通常の10~20倍程度であったのに対し、DEP+ブタクサ花粉群では50~500倍にも増加し、この増加にAh受容体（細胞質内に浮遊している情報伝達タンパク質で、ベンゾ（a）ピレンのような多環芳香族炭化水素と容易に結合し、遺伝子を活性化させるもの）が関与していると報告している¹²⁰⁾。また最近、ダイオキシンがアレルギー性疾患を引き起こすことが知られてきた。ダイオキシンはこのAh受容体との結合能力が著しく強い化合物で、その結合を介してIgE抗体を産生する遺伝子を活性化させる¹²⁰⁾ものと考えられている。

一方、先の3.1.1項の表2に示したように、私達はDEPとアレルゲンを鼻腔を介さず、直接気管内に投与するとIgE抗体価は全く増加しないことを経験した。これは鼻腔に粒子を効果的に吸収するメカニズムが存在することを示唆しているものと考えられる。

鼻腔は外界と直接接触する器官であることから、病原微生物や抗原などの付着や侵入に対する防御機能として、鼻粘膜リンパ組織（nasal-associated-lymphoid-tissue, NALT）が発達している。最近、Alparら¹²¹⁾は粒径 $0.83\mu\text{m}$ の疎水性蛍光微粒子を経鼻腔（点鼻）投与したところ、このNALTにおいて疎水性微粒子が極めて効率的に吸収されることを報告した。さらに、Heritageら¹²²⁾は同様の疎水性微粒子とヒトの血清アルブミンを抗原として用いると、溶液として投与した場合よりIgG産生が有意に高く、鼻腔からの免疫誘導が顕著に

増加することを示した。DEP も疎水性の微粒子であることを考えると、抗原の免疫誘導能を高め、アレルギー性鼻炎を誘起することは十分に考えられる。一方、DE 吸入は DEP の気管内投与とは異なり、むしろ DEP の点鼻投与に類似して鼻腔を刺激し吸収されるので、IgE や IgG の増加を介したアレルギー反応が起こる可能性が考えられる。そこで、私達は鼻アレルギーの実験モデル動物として確立されているラットを用いて DE 吸入実験を行い、鼻アレルギー反応に対する DE の影響を検討した²³⁾。また、鼻アレルギーモデルとは異なるが、モルモットに DE を吸わせながら抗原をくり返し点鼻投与し、花粉症様症状が悪化するかどうかを調べた^{25, 26)}。

3.3.2 ラットでのアレルギー性鼻炎症状に関する研究

(1) 鼻アレルギー・モデルの作製

ウィスター系雄ラット（6～7週齢）を用いて、卵白アルブミン（OA）に対する鼻アレルギー・実験モデル動物を作成した。方法は、斉藤らの方法⁸⁰⁾に準じ、図38に示すスケジュールでラットを感作した。すなわち、全身感作としてラットに一匹当たり10 μ gのOAとアラム（水酸化アルミニウム）1mgを懸濁したものを腹腔内投与した。この腹腔内投与による感作は第1日目と第5日目に行い、第21日目と第28日目から第34日目までは鼻の局所感作として、左右両鼻腔内に5mgのOAを200 μ lの生理食塩水に溶かして点鼻投与した。また、アジュバンドとして第1日目に百日咳菌の死菌懸濁液を足の裏（foot pad）に皮内注射した。

点鼻投与開始直前（第28日目）、点鼻3日目（第30日目）および点鼻7日目（第34日目）にラットの心臓

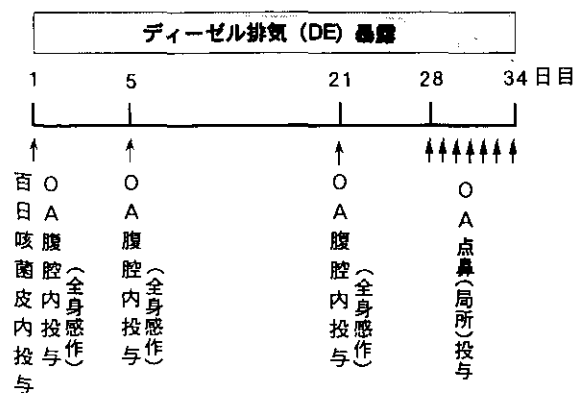


図38 アレルギー性鼻炎モデル・ラットへのディーゼル排気暴露と全身感作および局所感作のスケジュール

から血液を採取し、OAに対する血清中の特異的抗体（anti-OA IgG1）価をELISA法で調べた。すると、OAの点鼻前でも抗体価の上昇が見られ、点鼻投与（局所感作）を7日間続けた後、さらに抗体価が上昇していた。また、後述するように、はななき動作も、点鼻投与をしなかったラットに比べて点鼻投与ラットでは著明に見られた。以上のことより、これらのラットにはOAによる全身感作が成立しており、鼻腔への局所感作でさらにそれが増強していることが確認された。以下の感作ラット（鼻アレルギー・モデル化動物）を用いて鼻アレルギー発症に及ぼすDE吸入の影響を検討した。

(2) 鼻アレルギーに対するディーゼル排気（DE）の影響

鼻アレルギーに対するDE吸入の効果を検討するため、表14に示すように、ラットを4群（それぞれ10匹ずつ）に分けて検討した。すなわち、第1群は清浄空気を吸わせ、全身感作（OA腹腔内投与）は行わなかった群 [DE(-)OA(-)]。第2群は清浄空気吸入で全身感作を行った群 [DE(-)OA(+)]。第3群はDEを吸入させたが全身感作は行わなかった群 [DE(+)OA(-)]。第4群はDE吸入とともに全身感作を行った群 [DE(+)OA(+)] とした。

DE吸入は、DEP濃度として3mg/m³のDEを毎日12時間ずつ、34日間行った（図38）。28、30、34日目に麻酔下で心臓から血液を採取し、死亡後に断頭し、頭部をホルマリン液にて固定・保存した。組織学的検討は鼻骨甲介粘膜を採取し、ヘマトキシリン・エオジン染色とギムザ染色を施して行った。また、200 μ lのリン酸緩衝液を含んだ生理食塩水（PBS）あるいは200 μ lのOA液を点鼻投与した後10分間ラットを観察し、くしゃみとはななき動作の回数を調べた。

表14 ラットを用いた実験群の種類と使用匹数

	OA腹腔内投与なし (全身感作なし) OA (-)	OA腹腔内投与あり (全身感作あり) OA (+)
清浄空気暴露 DE (-)	DE (-) OA (-) 群 10匹	DE (-) OA (+) 群 10匹
ディーゼル排気暴露 DE (+)	DE (+) OA (-) 群 10匹	DE (+) OA (+) 群 10匹

1) OA 特異的 IgG1 抗体産生に及ぼす DE 吸入の影響
 点鼻投与（局所感作）を 7 日間行った各群 3 匹の動物の平均抗体価を図 39 に示した。OA の腹腔内投与による全身感作を行っていない群では、DE 吸入の有無にかかわらず OA 特異的 IgG1 抗体の産生は全くみられなかったが、全身感作を行った群では IgG1 抗体の産生がみられた。DE 吸入の有無で差は見られなかったことから、OA 特異的 IgG1 抗体産生に DE 吸入は影響していないと考えられる。

2) 非特異的の刺激に対するラットのくしゃみとはな
 かき回数に及ぼす DE 吸入の影響

くしゃみはヒトのアレルギー性鼻炎で見られる典型的な症状の一つである。また、はなかきはヒトのアレルギー性鼻炎のむずがゆさに相当すると考えられ、鼻粘膜の知覚神経を化学伝達物質が刺激しているとされる。これらの症状は鼻過敏性を示すものである。

DE 吸入開始後 28 日目、すなわち局所感作をしていない状態で、リン酸緩衝液含有生理食塩水（PBS）の点鼻投与（非特異的の刺激）によるくしゃみの各群平均回数を図 40 に示した。DE(-)OA(-)群と DE(-)OA(+)群ではこれらの動作はほとんどみられず、全身感作のみでは非特異的の刺激に対するくしゃみは生じなかった。これに対して、DE を吸入させた群では著明なくしゃみがみられ、特に DE 吸入だけの群より DE 吸入と全身感作を行った群 [DE(+)OA(+)群] でより多くみられた。また、同時に観察した“はなかき”の各群平均回数を図 41 に示した。対照群である DE(-)OA(-)群でははなかきはみられなかったが、DE 吸入した DE(+)OA(-)群や全身感作のみの DE(-)OA

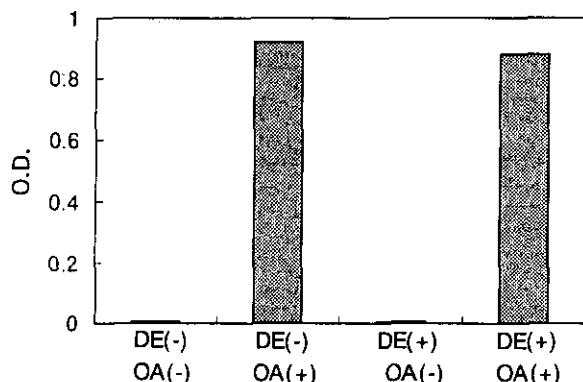


図39 アレルギー性鼻炎モデル・ラットの全身および局所感作後の OA 特異的 IgG1 抗体価の変化
 縦軸は ELISA 法により測定した IgG1 抗体量を吸光度で示している。

(+)群でははなかき動作が見られ、DE(+)OA(+)群ではさらに増し、DE 吸入と全身感作とが相加的に働いていると考えられた。

これらの結果より、リン酸緩衝液含有生理食塩水液（PBS）の点鼻投与という非特異的の刺激に対して、DE を吸入したラットは OA 感作の有無にかかわらず、くしゃみやはなかきという鼻過敏性を示し、さらに OA 全身感作した鼻アレルギー・モデルのくしゃみやはなかき症状も増強されていると考えられた。

3) OA による特異的の刺激に対するラットのくしゃ
 みとはなかき回数に対する DE 吸入の影響

次に、特異的の刺激である OA の点鼻投与（局所刺激）によるくしゃみとはなかき回数を、局所感作開始後 3 日目と 7 日目に観察し、各群別に図 42、43 に示した。各群とも OA の点鼻回数が増すに従いくしゃみとはなかきの回数も増えていた。しかし、各群間の相違は非特異的の刺激である PBS 点鼻の場合とほぼ同様で

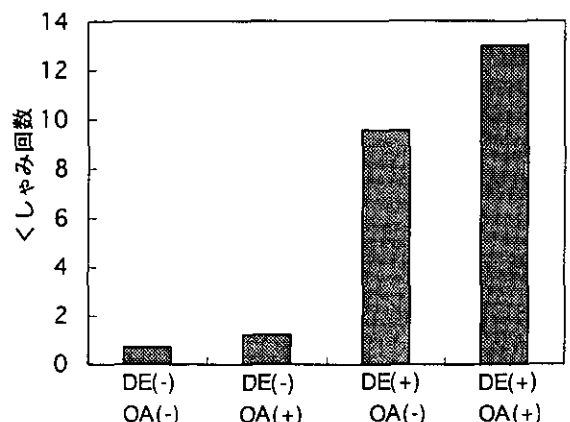


図40 リン酸緩衝-生理食塩水液（PBS）点鼻という非特異的の刺激によるくしゃみ回数の変化

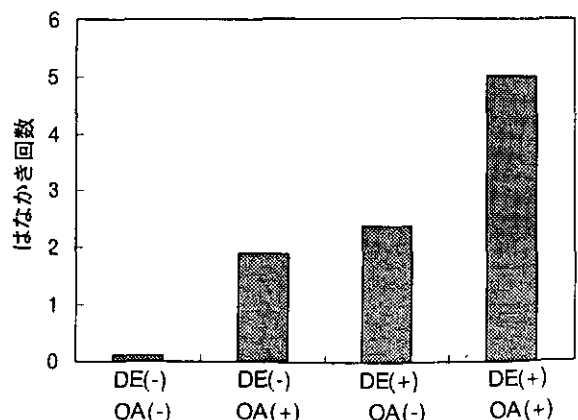


図41 リン酸緩衝-生理食塩水液（PBS）点鼻という非特異的の刺激によるはなかき回数の変化

あった。

4) DE 吸入の影響に関する鼻粘膜の組織学的検討
DE 吸入による鼻粘膜損傷の有無を調べる目的で、

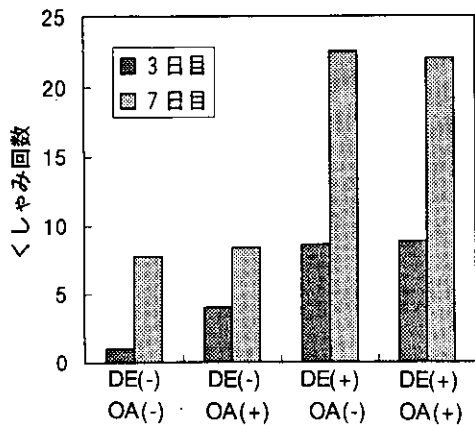


図42 卵白アルブミン (OA) 点鼻という特異的刺激によるくしゃみ回数の変化

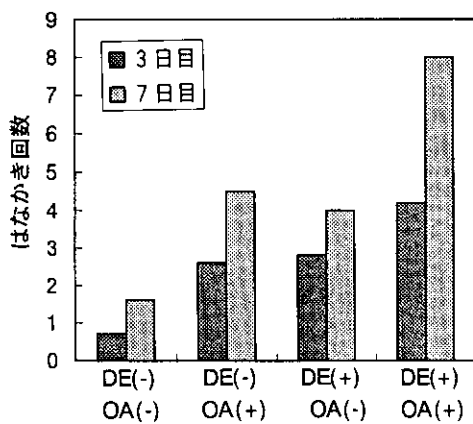


図43 卵白アルブミン (OA) 点鼻という特異的刺激によるはなかき回数の変化

DE 吸入群の鼻粘膜をヘマトキシリン・エオジン染色して組織学的に検討した。図44に示すように、光学顕微鏡レベルでは鼻粘膜上皮は正常で、明らかな上皮障害は見られなかった。ただし、炎症性細胞浸潤については各群間で相違が見られたので、次にギムザ染色を行い、炎症性細胞の浸潤状態を検討し、表15に示した。

すなわち、鼻粘膜組織切片の長さを約4mmにそろえて炎症性細胞の出現を各群で比較し、切片全体で浸潤が全くない場合は(-)、数個みられた場合は(±)、約10個未満は(+)、それ以上は(++)と評価して、各群の点鼻投与1日目と最終日の7日目を比較した。すると、DEを吸入せず全身感作もしていない対照群[DE(-)OA(-)]でも若干の好酸球と好中球の浸潤はみられたが、点鼻投与(局所感作)による細胞浸潤の増加は見られなかった。DE(-)OA(+)群では、点鼻投与により好酸球浸潤が増加していた。DE(+)OA(-)群では、点鼻投与開始前にすでに好中球が多くみられていた。その後、点鼻により好酸球も増加した

表15 鼻骨甲介粘膜における炎症性細胞浸潤

		好酸球	好塩基球	好中球
DE(-) OA(-)	1日目	±	-	±
	7日目	±	-	+
DE(-) OA(+)	1日目	±	-	±
	7日目	++	-	+
DE(+) OA(-)	1日目	±	-	+E<N
	7日目	+	-	+E<N
DE(+) OA(+)	1日目	+	-	+
	7日目	++	+	+

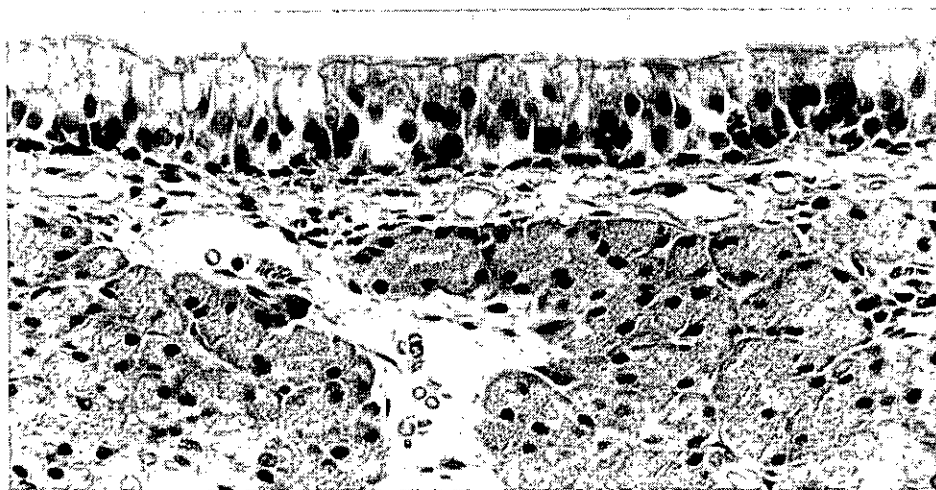


図44 アレルギー性鼻炎モデル・ラットへのディーゼル排気暴露による鼻粘膜の上皮組織像
鼻粘膜上皮は正常で、明らかな上皮障害は認められないが、炎症性細胞浸潤が認められる。

が、やはり好中球の方が優位であった。DE(+)OA(+)群では、点鼻開始前に対照群に比べて好酸球、好中球とも多くみられたが、OA点鼻投与により好酸球は著明に増加し、さらに好塩基球も出現していた。これらより、DE吸入だけで全身感作をしていないDE(+)OA(-)群では好中球の浸潤のみが起り、OA全身感作で好酸球の浸潤も増強され、さらに好塩基球浸潤も誘導されていた。

(3) 考察

近年、アレルギー性鼻炎の罹患率は増加しており、国民病の一つになりつつある。この原因として、食生活や住宅環境などの生活習慣の変化や、大気汚染などがあげられている⁷¹⁾。疫学的調査により、アレルギー性鼻炎と自動車排気ガスとの関係は以前から報告されていた⁷²⁾。近年では、自動車排気ガスの中でも、特にディーゼル自動車の排気ガスとアレルギー性疾患との関係が注目されている。ディーゼル排気微粒子 (DEP) はIgE抗体産生を増強させる作用、すなわちアジュバント作用があると報告⁷³⁾されて以来、DEPが好酸球の脱顆粒を促進すること⁸¹⁾や、DEPが抗原刺激による気道粘膜やリンパ球からのIL-4やIL-5の産生を促進すること⁸²⁾などが報告されている。これらの事実から、DEPがアレルギー性炎症を増悪させることが示唆されていた。

一方、これまでの実験ではDEPは懸濁液として点鼻投与されている。しかし、大気汚染の影響を考える場合、より現実に近いディーゼル排気 (DE) の吸入実験により、上記のようなアレルギー症状が発現するのかどうかを明らかにすることが必要である。そこで今回、私達はDEが鼻のアレルギー性炎症に対してどのような作用を示すかを検討するため、DE吸入実験を行い、鼻アレルギー・モデル化ラットに対するDE吸入の効果を検討した。

DEを吸入させたラットは非特異的刺激であるPBS点鼻投与によっても著明なくしゃみ動作を示した。これはアレルゲン (OA) による全身感作の有無にかかわらず、DE単独吸入で生じた。このことは、マウスを用いたDE単独吸入実験でも、同様にDE吸入のみでも気道抵抗の上昇 (気道の過敏性亢進) が観察されており²⁴⁾、DEが鼻腔上皮 (上気道上皮) に何らかの変化を引き起こし鼻の過敏性を亢進させたものと考えられる。

DE吸入による鼻腔上皮の変化を光学顕微鏡で調べると、鼻腺や杯細胞の増加は見られた²⁴⁾が、上皮細胞に変化は見られなかった。しかし、DEPを点鼻投与した実験の電子顕微鏡観察によれば、光学顕微鏡レベルでは変化が見られなかった上皮にも細胞間隙の増大などの変化が見られており⁸³⁾、またDEPの気管内投与では活性酸素産生による組織傷害も報告されている^{6,7)}。それゆえ、今回のDE吸入でも粘膜上皮に何らかの微小な傷害が生じたことは否定できない。このような変化によって鼻が過敏になり、くしゃみ回数が増えたものと考えられる。

また、PBS点鼻投与によって、くしゃみのほかにはなかき動作も観察された。くしゃみと同様にDE吸入だけの群でもみられ、DE吸入による鼻の過敏性亢進の結果と考えられた。しかし、くしゃみの場合とは異なり、はなかき動作に関してはDE吸入をしていないOAの全身感作のみの群でもみられ、DE吸入とOAの全身感作で相加的効果が見られた。

特異的刺激としてのOA点鼻投与 (局所感作) では、OAの全身感作をした群におけるくしゃみやはなかきは、当然のことながら、非特異的刺激の場合よりも強くみられた。また、点鼻回数が増すに従いくしゃみやはなかきの回数も増加し、全身感作に加えOAの局所感作でラットに鼻アレルギーが成立してくる過程がみられた。この過程のくしゃみやはなかきに対するDE吸入の効果は非特異的刺激の場合とほぼ同様であった。すなわち、くしゃみに関しては全身感作の有無にかかわらずDE吸入のみで十分に生じ、はなかきに関してはDE吸入と全身感作で相加的効果が見られた。

これらの事実から、DE吸入のみでも鼻過敏性が生じ、さらにDEは鼻アレルギー発症を増強する可能性が示唆された。ラットに見られたくしゃみやはなかき (ヒトでは鼻のむずがゆさ) は、ヒトのアレルギー性鼻炎症状の一つと考えられる。ヒトでは、抗原などによって鼻粘膜中の肥満細胞や好塩基球が刺激されると、化学伝達物質が遊離され三叉神経終末を刺激する。これにより、むずがゆさが生じる。さらに、三叉神経を介してくしゃみ中枢を刺激すると迷走神経を介してくしゃみ発作を生じる。一方、最近では従来型アレルギーの典型とされていたアレルギー性鼻炎も即時相と遅発相に区別され、IL-5などのサイトカインや好酸球の役割が注目されてきている^{83,84)}。この観点か

ら、DE吸入とアレルギー（抗原）感作との間で、くしゃみとはなかきに関して差が見られたことは興味深い事実である。

DE吸入群のラットでは、光学顕微鏡レベルでは明らかな上皮障害を生じなかった。しかし、炎症性細胞浸潤に関してはいくつかの変化が観察された。OAでの全身感作をしていないDE吸入のみの群でも、好中球優位な炎症性細胞の浸潤がみられた。DEPを点鼻投与した実験でも、好中球の走化性因子であるIL-8の産生亢進が報告されており⁸⁴⁾、好中球浸潤に関連した炎症が鼻の過敏性亢進にも関与している可能性が考えられる。また、アレルギー（OA）感作群において好酸球の浸潤が多くみられ、さらにDE吸入により好塩基球も出現したことは、はなかきなどのアレルギー症状がDE吸入によって増強された事実と関連するものと考えられる。

以上より、DE吸入は光学顕微鏡レベルでは上皮障害を生じないが、鼻過敏性を生じ、アレルギー感作した鼻アレルギー・モデルのアレルギー性炎症をより強く悪化させることが示された。

（本3.3.1項と3.3.2項は国立国際医療センター・耳鼻咽喉科・石戸谷淳一科長に御執筆いただき、編集担当者が加筆修正した。文責は編集担当者にある。）

3.3.3 モルモットの花粉症様病態に及ぼす影響について

近年、大気汚染物質が花粉症の発症を増加させる可能性を示唆する疫学調査報告^{71,72)}があることから、本項では、モルモットを用いてディーゼル排気（DE）が花粉症様病態にどのような影響を及ぼすかを明らかにする。

DEの花粉症様病態に及ぼす影響を考える場合、以下の3点を明らかにすることが重要と考えられる。その第一は、DEがアレルギー反応を増幅させる鼻の過敏状態を惹起するかどうか、第二には、DEがアレルギー反応のもととなる抗原に対する抗体の産生を増加させるかどうか、第三には、DEが鼻の過敏状態や抗体産生の増加等により実際に花粉症様病態を増悪するのかどうか、である。

ディーゼル排気（DE）がこれら3点におよぼす影響についてみると、第一についてはすでに前期特別研究報告（SR-14-'94）⁹⁾、その他⁸⁵⁾に報告している。第二については、ディーゼル排気微粒子（DEP）がIgE抗体産生能を増進させる作用があることが報告されてい

る⁷³⁻⁷⁹⁾。しかし、第三についてはこれまで実験的な検討があまりなされていない。

（1）モルモットのヒスタミンに対する反応性に及ぼすディーゼル排気（DE）の影響²⁵⁾

本稿では、すでに報告した⁸⁵⁾DEP点鼻投与で観察された鼻の過敏性がDE吸入でも起きるかどうかを検討した。このときのDE濃度はDEP濃度として3.2mg/m³および1.0mg/m³とし、対照群の動物には清浄空気を各々3時間吸わせた後、ヒスタミンをミストとして吸わせることにより誘起されるくしゃみ、鼻汁分泌、鼻づまりの程度を調べた。DEを3時間吸わせただけでは、くしゃみ、鼻汁の分泌、鼻づまりを起ささない。しかし、ヒスタミンを吸わさせることにより誘発されるくしゃみおよび鼻汁分泌量はDEP濃度が3.2mg/m³群においてのみ増加した。また、DE吸入はヒスタミンによる鼻腔内圧増加作用を強める傾向を示したが対照群に比べて有意な差は得られなかった。これらのことから、高濃度のDEを短時間吸入させた場合にはDEPの点鼻投与の場合と同様に、ヒスタミンに対する鼻の過敏性が亢進することが明らかになった。

次に、より長い3,7または28日間、DEを暴露した場合にもヒスタミンに対する鼻の過敏性の亢進状態が続くかどうかを検討した。いずれの暴露期間においてもDE吸入のみでは、くしゃみ、鼻づまり、鼻汁の分泌のいずれも誘発されなかったが、DEP濃度が3.2mg/m³群においてはヒスタミン吸入により誘発されるくしゃみの回数が増えることが見いだされた。1.0mg/m³においても、7日または28日間のDE吸入ではくしゃみの誘発を増進することが見いだされた。ヒスタミン誘発性の鼻づまりは1.0mg/m³ではいずれの場合も有意な影響はなく、3.2mg/m³において28日間暴露においてのみ亢進することが見いだされた。これらの結果は、鼻を過敏にさせる作用はDE濃度に依存して強くなることを示唆している。

（2）DE吸入モルモットへの抗原の繰り返し点鼻投与による花粉症様病態の増悪について²⁶⁾

次に本項では、DE吸入が鼻粘膜でのアレルギー反応を増進するかどうかについて検討した。実験は、清浄空気あるいはDEP濃度が1.0mg/m³あるいは0.3mg/m³のDEを1日12時間ずつ5週間にわたって吸入させ、

この間に抗原を繰り返し投与した。抗原の投与は卵白アルブミン (OA) を生理食塩水に溶かした1%溶液を鼻腔の両側に点鼻投与により行った。これにより、誘発されるくしゃみと鼻汁分泌量を比較した。その結果を図45, 46に示した。抗原の点鼻投与はDE吸入直前に一度行い、その後毎週1回ずつ合計6回行った。それぞれDEの濃度に依存してくしゃみ回数および鼻汁分泌量が増加することを示している。また、OAに特異的なIgEとIgG抗体価および鼻の上皮と上皮下に浸潤した好酸球数のいずれもDEの濃度に依存して増加することが見いだされた。

これらのことから、DEを吸わせている期間中に抗原を繰り返し点鼻投与することで花粉症様病態は増悪することが明らかになった。

(本3.3.3項は国立環境研究所・環境健康部・小林隆弘氏が執筆し、編集担当者が加筆修正した。文責は編集担当者にある。)

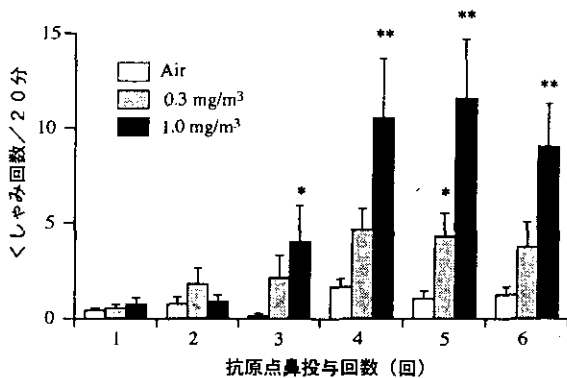


図45 モルモットへの抗原の繰り返し点鼻投与により誘発されるくしゃみ回数に及ぼすディーゼル排気 (DE) 暴露の影響
抗原点鼻は毎週1回ずつ合計6回行った。

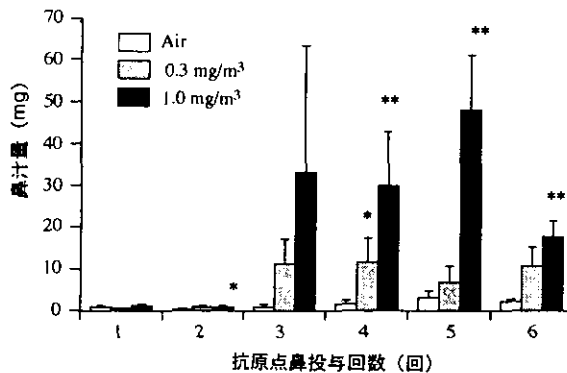


図46 モルモットへの抗原の繰り返し点鼻投与により誘発される鼻汁量に及ぼすディーゼル排気 (DE) 暴露の影響
抗原点鼻は毎週1回ずつ合計6回行った。

3.3.4 まとめ

(1) ラットにOA全身感作した後、DEを吸入させるとくしゃみやはなかき運動を起し、アレルギー性鼻炎症状が発現することが認められた。くしゃみに関してはOAによる全身感作の有無にかかわらずDE吸入のみで十分に生じ、はなかきに関してはDE吸入とOAの全身感作で同等くらいで、両者の併用で相加的増強効果が見られた。

(2) モルモットのアレルギー実験では、DEだけで鼻の過敏性に顕著な増加が認められた。DE+OA処理したモルモットではDE暴露の濃度に依存して、くしゃみ、鼻水、鼻づまりに相当する諸症状が亢進することが認められた。

3.4 肺がん発生に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響について

3.4.1 はじめに

近年、日本人の肺がんによる死亡率は年々増加の一途をたどっており、1993年の男性のデータでは死亡率第一位の胃がんを超えた。近年の肺がんの型別死亡率をみると、喫煙の関与が最も高い扁平上皮がんは減少傾向にあり、逆に喫煙の関与が低い腺がんの割合が増加している。このような事実から、肺がんによる死亡率増加の原因の一つとして、喫煙のほかに食事因子や大気汚染の関与が考えられている。

大気汚染物質としてはSO₂、NO₂、O₃やアスベスト、ベンゼンあるいはダイオキシン等も含まれよう。しかし、最近の大都市部における主要な大気汚染は二酸化窒素と浮遊粒子状物質であるが、いずれもディーゼル車が主な発生源である。浮遊粒子状物質のうち、ディーゼル車から直接排出されるディーゼル排気微粒子 (DEP) 中には発がん性物質あるいは発がん性の疑いのある物質が沢山の種類含まれており、それらが肺がんの発生に深く関与していることを示す多くの実験的研究が報告されている^{37, 86, 87)}。これまで、ラットを用いた大規模なディーゼル排気 (DE) 暴露実験で肺がんができることはよく知られていた。このメカニズムとして、DEP中の様々な発がん物質がDNAと付加物を作ることにより、遺伝情報が攪乱されてがん化するものと考えられていた。しかし、発がん物質をほとんど含んでいないカーボンブラック (炭素粒子) のみの暴露でもDEと同じ割合の肺がんが発生すること^{87, 88)}、

この間に抗原を繰り返し投与した。抗原の投与は卵白アルブミン (OA) を生理食塩水に溶かした1%溶液を鼻腔の両側に点鼻投与により行った。これにより、誘発されるくしゃみと鼻汁分泌量を比較した。その結果を図45, 46に示した。抗原の点鼻投与はDE吸入直前に一度行い、その後毎週1回ずつ合計6回行った。それぞれDEの濃度に依存してくしゃみ回数および鼻汁分泌量が増加することを示している。また、OAに特異的なIgEとIgG抗体価および鼻の上皮と上皮下に浸潤した好酸球数のいずれもDEの濃度に依存して増加することが見いだされた。

これらのことから、DEを吸わせている期間中に抗原を繰り返し点鼻投与することで花粉症様病態は増悪することが明らかになった。

(本3.3.3項は国立環境研究所・環境健康部・小林隆弘氏が執筆し、編集担当者が加筆修正した。文責は編集担当者にある。)

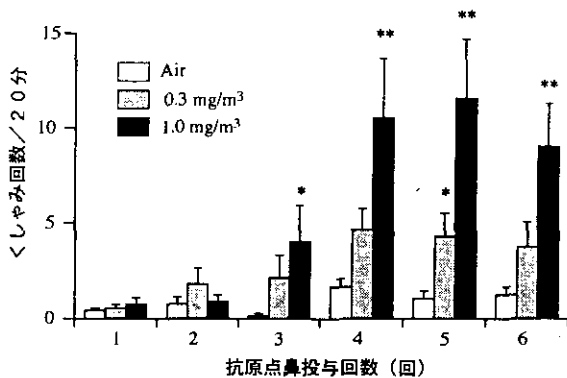


図45 モルモットへの抗原の繰り返し点鼻投与により誘発されるくしゃみ回数に及ぼすディーゼル排気 (DE) 暴露の影響
抗原点鼻は毎週1回ずつ合計6回行った。

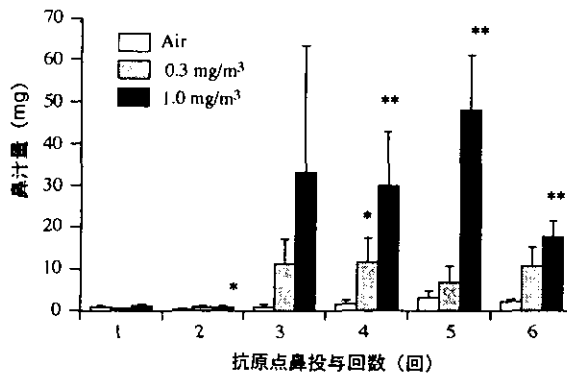


図46 モルモットへの抗原の繰り返し点鼻投与により誘発される鼻汁量に及ぼすディーゼル排気 (DE) 暴露の影響
抗原点鼻は毎週1回ずつ合計6回行った。

3.3.4 まとめ

(1) ラットにOA全身感作した後、DEを吸入させるとくしゃみやはなかき運動を起し、アレルギー性鼻炎症状が発現することが認められた。くしゃみに関してはOAによる全身感作の有無にかかわらずDE吸入のみで十分に生じ、はなかきに関してはDE吸入とOAの全身感作で同等くらいで、両者の併用で相加的増強効果が見られた。

(2) モルモットのアレルギー実験では、DEだけで鼻の過敏性に顕著な増加が認められた。DE+OA処理したモルモットではDE暴露の濃度に依存して、くしゃみ、鼻水、鼻づまりに相当する諸症状が亢進することが認められた。

3.4 肺がん発生に及ぼすディーゼル排気 (DE) の影響について

3.4.1 はじめに

近年、日本人の肺がんによる死亡率は年々増加の一途をたどっており、1993年の男性のデータでは死亡率第一位の胃がんを超えた。近年の肺がんの型別死亡率をみると、喫煙の関与が最も高い扁平上皮がんは減少傾向にあり、逆に喫煙の関与が低い腺がんの割合が増加している。このような事実から、肺がんによる死亡率増加の原因の一つとして、喫煙のほかに食事因子や大気汚染の関与が考えられている。

大気汚染物質としてはSO₂、NO₂、O₃やアスベスト、ベンゼンあるいはダイオキシン等も含まれよう。しかし、最近の大都市部における主要な大気汚染は二酸化窒素と浮遊粒子状物質であるが、いずれもディーゼル車が主な発生源である。浮遊粒子状物質のうち、ディーゼル車から直接排出されるディーゼル排気微粒子 (DEP) 中には発がん性物質あるいは発がん性の疑いのある物質が沢山の種類含まれており、それらが肺がんの発生に深く関与していることを示す多くの実験的研究が報告されている^{37,86,87}。これまで、ラットを用いた大規模なディーゼル排気 (DE) 暴露実験で肺がんができることはよく知られていた。このメカニズムとして、DEP中の様々な発がん物質がDNAと付加物を作ることにより、遺伝情報が攪乱されてがん化するものと考えられていた。しかし、発がん物質をほとんど含んでいないカーボンブラック (炭素粒子) のみの暴露でもDEと同じ割合の肺がんが発生すること^{87,88}、

また発がん率と DNA-付加物との間には何の相関も認められないこと⁸⁹⁾から、DNA-付加物説に疑問が抱かれていた。

さらに、ディーゼル排気がヒトの肺がん発生に及ぼす岩井らによるリスク評価研究では日本人の肺がん死亡率の3-8%がDEPによるとする報告^{90,91)}があること等もあげられる。また、ディーゼル排気については多くの機関や研究者によるリスクアセスメントが Valberg と Watson ら⁹²⁾によってまとめられている。

また、日本人の食生活が欧米化し、それらの食事因子が肺がんの発生に影響していることはよく知られている。本研究では食事因子の中でも高脂肪摂取が最も発がんに影響を及ぼし、そのメカニズムとして過酸化脂質や活性酸素の生成が重要であろうと考え、DEPによる肺がん発生に及ぼす高脂肪摂取の影響について調べた。さらに、過酸化脂質や活性酸素の生成を抑制し、疫学調査からもその有効性が言及されているβ-カロチンの効果についても調べた。また、それらの発がんに及ぼす影響と DNA の酸化的損傷指標としての8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) 生成等から DEP あるいは DE の発がんメカニズムを検討した。

3.4.2 ディーゼル排気 (DE) 暴露による世界6施設からの発がん実験報告とカーボンブラック (CB)、酸化チタン (TiO₂) 暴露による発がん実験

これまで、ラットを用いた大規模な実験でディーゼル排気で肺がんが発生することは米国、独、スイス、日本等の6つの研究機関から報告されている^{37,86)} (図47)。DE 暴露期間はどの研究機関も2年間で、データ間に多少のばらつきはあるが、一定の量-反応関係と統計的有意差が認められており、ディーゼル排気の発がん作用は確かなものと考えられている。また、このメカニズムとして DNA-付加物生成説が考えられている。しかし、Gallagher ら⁸⁹⁾は 7.5 mg DEP/m³ のディーゼル排気を2年間吸入させたラットの肺の DNA-付加物量を調べたところ、肺がん発生率との間に全く相関がなかったと報告している。これらに加えて、Mauderly ら⁸⁷⁾や Dungwarth ら⁸⁸⁾は発がん物質を全く含まない同じ濃度のカーボンブラック (CB) や酸化チタン (TiO₂) の暴露でも DE 暴露とほとんど同じ発がん率を示すことを報告した。これらの結果から、これまで DNA-付加物の生成によると考えられていた発がんメ

カニズムに疑問が持たれ、別のメカニズムとして、マクロファージが CB や TiO₂ のような粒子を貪食するときに放出する活性酸素が関与するのではないかと推測されている。

3.4.3 DEP の繰り返し気管内投与によるマウスの肺腫瘍発生率と8-OHdG 生成との間の相関

私達は普通脂肪食 (4%)、高脂肪食 (16%) ならびにこれらに各々 200ppm のβ-カロチンを添加した飼料を与え続けたマウスに 0.05mg、0.1mg および 0.2mg の DEP を毎週1回ずつ10週間にわたって気管内投与し、マウスの腫瘍発生率と活性酸素による DNA 損傷指標としての8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) の生成量 (図48) との間の相関性を調べた²⁷⁾。その結果、図49に示すように 0.05 mg DEP 投与群と 0.1 mg DEP 投与群では両者の間に非常に高い相関性が認められた。従って、DEP による発がんのメカニズムとして、DNA-付加物の生成に加えて、活性酸素の関与があるものと思われる。

さらに、データは示さないが、私達は DEP 中のキノン系化合物等が肺に多量に存在する NADPH CytP-450 reductase の働きによって多量の活性酸素 (O₂⁻, ·OH) を生成すること²⁸⁾と肺泡マクロファージも多量の活性酸素を生成することを認めた。これらの結果から、DEP による肺がんの発生は図50に示すメカニズムを提唱した²⁷⁾。なお特筆すべきこととして、この実験においては、β-カロチンを投与した群の悪性腫

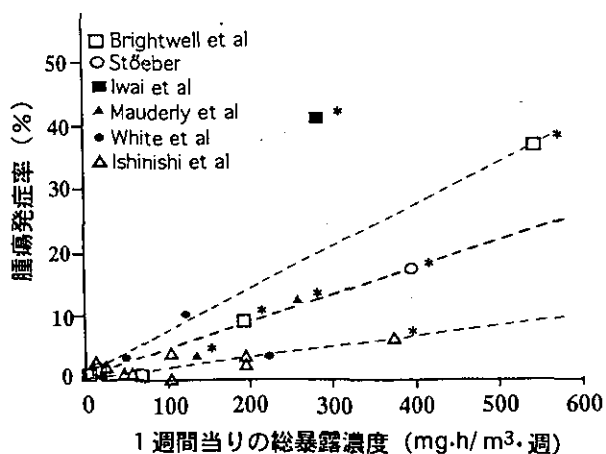


図47 世界6施設においてフィッシャー F-344ラットに2年間ディーゼル排気 (DE) を吸わせた発がん実験の結果のまとめ³⁷⁾
横軸は暴露した DEP 濃度に1週間の DE の暴露時間を掛けた1週間当たりの総暴露量を示している。

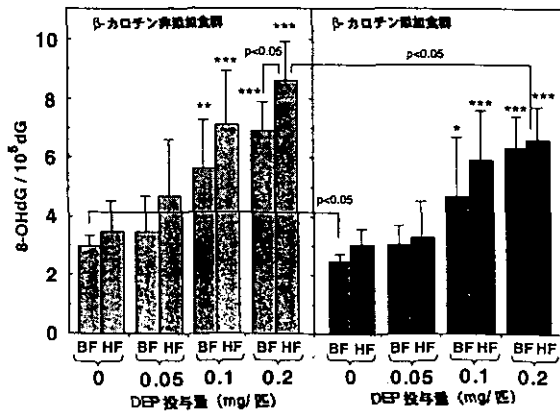


図48 DEPを気管内投与したマウスの肺内8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) 生成量の変化
 実験は、ICR系マウスに4種の飼料を与え、かつ4濃度のディーゼル排気微粒子 (DEP) を週に1回ずつ10週間にわたって気管内投与した。BFは4%脂肪含有食 (Basal Fat), HFは16%脂肪含有食 (High Fat) を示す。左の欄は各飼料にβ-カロチンを含まない飼料をあたえたマウスの結果を示し、右のカラムはBFあるいはHF飼料に0.02%のβ-カロチンを加えた飼料を与えたマウスの結果を示す。

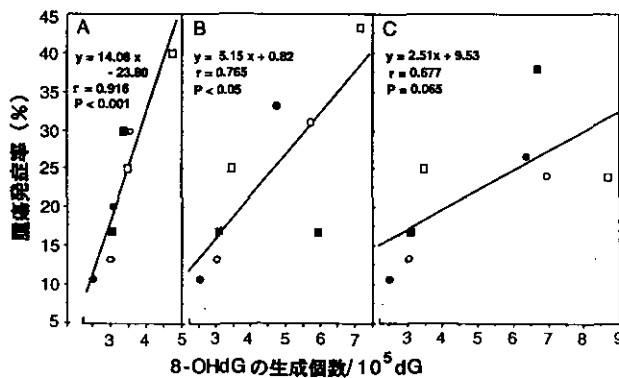


図49 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 投与マウスの肺の腫瘍発生率と肺内8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) 生成量との間の相関
 実験は図48の説明と同じに行った。○: BF食群, ●: BF + β-カロチン群, □: HF食群, ■: HF + β-カロチン群

瘍発生率は0.05 mgあるいは0.1 mgのDEPをくり返し投与した群で顕著に抑制されていたが、0.2 mg DEPを投与した群では逆に増加傾向が認められた²⁷⁾。

3.4.4 DEPの気管内投与による発がんにおける食事因子の関与について

これまでβ-カロチンは肺がんや胃がんをはじめとする多くのがんの発生に予防的に働くとする報告が多い⁹³⁾。一方最近、フィンランドや米国で行われた喫煙者に対するβ-カロチンの影響を調べた大規模な疫学調査結果が報告された⁹⁴⁻⁹⁶⁾。これによると、β-カロチンの単独多量投与は効果がなく、むしろβ-カロチンはがんの発

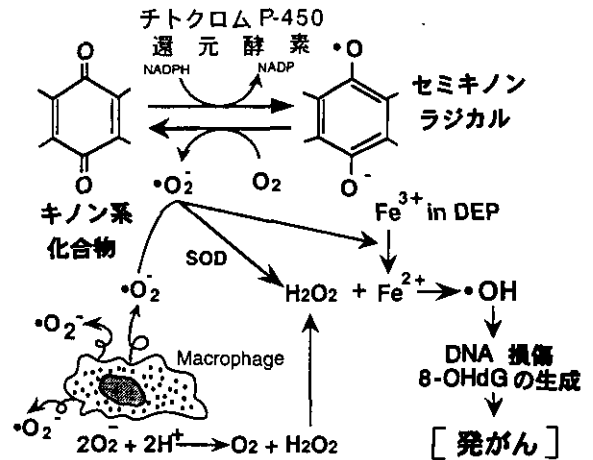


図50 ディーゼル排気微粒子 (DEP) による腫瘍発生に及ぼす活性酸素の関与のメカニズムの推定図²⁷⁻²⁹⁾

生を高めたと報告された。このことは、私達の上記の0.2 mg DEP投与群の悪性腫瘍増加の結果と符号している。これら外国での疫学介入調査も私達の実験も、比較的高濃度のβ-カロチンを投与した実験であるので、これだけでβ-カロチンを悪者にすることはできないが、β-カロチンがどんなに有効でもヘビースモーカーや重度の空気汚染下に住んでいるヒトにそれだけを多量に投与することは賢明ではないことを示唆している。

DEPによる肺がんにおいて、DEPが免疫監視細胞の機能低下を起こしてはいないかどうかという面からも研究する必要があると考えられる。さらに、先に述べたようにディーゼル排気中にはダイオキシンが含まれているという報告^{97,98)}もあり、これらについての検討も必要になってきている。

3.4.5 ディーゼル排気 (DE) 暴露による肺がん発生とβ-カロチンの作用について

ディーゼル排気がヒトの発がんに関与するかどうかを明らかにするには、ぜん息の場合と同様、最終的には吸入実験によって評価されるべきである。このため、私達はICR系雄マウスに清浄空気、およびDEP濃度としては0.3 mg/m³、1.0 mg/m³ならびに3.0 mg/m³の各濃度のディーゼル排気を1日12時間ずつ、1年間吸わせた。この間、各群のマウスをさらに2グループに分け、一方には4%脂肪含有食 (Basal fat, BF) を与え、もう一方には16%の高脂肪 (High fat, HF) 含有食を与えた (表16の左側のβ-カロチン (無添加) 群)。また、この各脂肪食に200 ppmのβ-カロ

表16 ディーゼル排気 (DE) 暴露による肺腫瘍発生に対する高脂肪とβ-カロチンの影響

Diet	β-カロチン無添加群				β-カロチン添加群					
	検査動物数	腫瘍動物数 (%)	腺腫 (%)	腺がん (%)	検査動物数	腫瘍動物数 (%)	腺腫 (%)	腺がん (%)		
Air	BF	54	5(9)	4(7)	1(2)	BF-β	54	6(11)	6(11)	0
	HF	54	9(17)	5(9)	4(7)	HF-β	53	12(23)	7(13)	5(9)
0.3mg/m ³	BF	54	7(13)	6(11)	1(2)	BF-β	54	11(20)	6(11)	5(9)
	HF	54	5(9)	4(7)	1(2)	HF-β	53	6(11)	3(6)	3(9)
1 mg/m ³	BF	54	6(11)	5(9)	1(2)	BF-β	54	4(7)	4(7)	0
	HF	52	5(10)	3(6)	2(4)	HF-β	54	9(17)	7(13)	2(4)
3 mg/m ³	BF	52	5(10)	4(6)	2(4)	BF-β	54	11(20)	8(15)	3(6)
	HF	53	10(19)	9(17)	1(2)	HF-β	54	14(26)*	11(20)	3(6)

BF: 4%脂肪食, HF: 16%脂肪食, BF-β: 4%脂肪食+βカロチン, HF-β: 16%脂肪食+βカロチン

*P<0.05, compared to BF-β + 0 mg group (χ²-test)

表17 β-カロチン添加群と無添加群の腫瘍発生率の比較

	β-カロチン無添加群	β-カロチン群	β-カロチン群 / 無添加群
腫瘍動物数 (%)	52/427 12%	73/430 16.7%*	1.39倍
悪性腫瘍動物数 (%)	13/427 3%	21/430 4.9%	1.63倍

*P<0.05, β-カロチン無添加群と比較したとき (χ²-test)

チンを添加した同じ実験 (表16の右側のβ-カロチン(添加)群) も行った。

この実験結果 (表16) からわかるように, ICR系マウスを用いた吸入実験ではDEの吸入によって良性あるいは悪性腫瘍の発生率が統計的に有意に増加することはなかった。また, 普通脂肪食(4%)群と高脂肪食(16%)群の間にも発がん率に有意な差は認められなかった。統計的に有意差が認められた唯一のものはβ-カロチン添加群のairを吸わせて普通脂肪食(BF-β)摂取群と3mg/m³を吸わせ高脂肪食(HF-β)摂取群との間であった。このことは, 先に述べたフィンランドや米国で喫煙者について行われた疫学調査の結果⁹⁴⁻⁹⁶⁾と同様に, β-カロチン摂取は肺がんの発生を促進している可能性を示唆している。そこで, 全実験動物をβ-カロチン添加群とβ-カロチン無添加群に分け, χ²-testによって, 両群間に有意差があるかどうかを検定した。その結果, 表17に示すように, 悪性腫瘍の発生率では有意差は認められなかったが, 総腫瘍の発生率では有意差が認められ, やはり, β-カロチンはディーゼル排気暴露された場合にはマウスの腫瘍発生率を高める作

用があることが示された。

3.4.6 まとめ

(1) ディーゼル排気微粒子 (DEP) による発がんのメカニズムについて

DEPの気管内投与による発がん実験を行い, そのときの発がん率とDNAの活性酸素による損傷物である8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)の生成率との間の相関を調べた。両者間に高い相関性が認められ, DEP投与で肺内で生じた活性酸素が発がんのメカニズムの一つであることが示唆された。このメカニズムは, 肺胞マクロファージがDEPを貪食し, 多量の活性酸素を発生することによっても肺がんが発生することを説明するものである。

(2) ディーゼル排気 (DE) による発がん

本実験に用いたICR系マウスにDEP濃度として0.3mg/m³, 1mg/m³および3mg/m³のDEを1年間吸入させたが, 清浄空気を吸わせた対照群との間に有意差は認められなかった。唯一有意差が認められたのは16%高脂肪食とβ-カロチンを添加した餌を与えた3mg/m³群との間だけであった。

(3) ディーゼル排気 (DE), 高脂肪およびβ-カロチンの影響

本研究に用いたすべての動物をDE暴露の有無, 高脂肪食の有無あるいはβ-カロチンの有無に分けて, χ²検定により両者間に差があるかどうかを調べた。その結果, それぞれの間に有意差が認められたのはβ-カロ

チンの有無の場合だけであった。このことは、DE 暴露下ではβ-カロチンは発がんを抑制するのではなく、むしろ促進するように作用することを示しており、フィンランドや米国で喫煙者を対象として実施された疫学調査の結果⁹⁴⁻⁹⁶⁾を支持する結果となった。

3.5 ディーゼル排気 (DE) あるいはディーゼル排気微粒子 (DEP) によるその他の影響

3.5.1 ディーゼル排気 (DE) の生殖器系への影響²⁰⁾

1993 年と 1994 年に、スウェーデンの研究者が DEP 抽出物あるいは発がん物質として有名なニトロアレーンの類縁体がヒトの精子の運動能力を低下させるということを報告し^{99,100)}、世界に衝撃を与えた。近年、日本を含め世界的に青年の精子数が減少していることが報告され¹⁰¹⁾、その原因として最近話題の環境ホルモン (外因性内分泌攪乱物質) の影響が疑われている。

私達は、上記スウェーデンの試験管内で精子と DEP 抽出物を直接まぜる実験でなら精子の運動能力が低下することがあるとしても、吸入したディーゼル排気が精子にまで影響を及ぼすことはないだろうと思い、これを確認しておこうと考え、DEP 濃度として 0.3, 1.0 および 3 mg/m³ の DE を 1~10 ヶ月間マウスに吸わせ、精子の運動能力、精子数産生能力および精巣の形態的变化などを調べた。その結果は予想とは異なり、一日当たりの精子産生能力 (daily sperm production, DSP) が 6 ヶ月目で、図 51 に示すように、DE 濃度につれて対照群より各々 29%, 36% および 53% 低下して

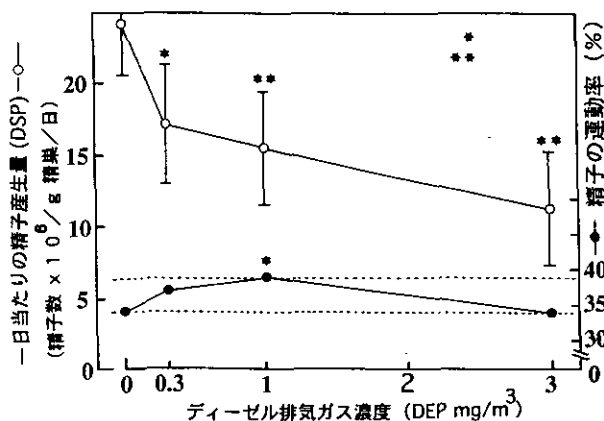


図51 マウスの精子産生能力に及ぼすディーゼル排気 (DE) 暴露の影響²⁰⁾
一日当たりの精子産生量 (○, DSP) は DE 暴露濃度に依存して低下。産生された精子の運動能力 (●) の低下現象は認められなかった。* : 清浄空気暴露 (Air) 群の値に比べて p<0.05 で有意, ** : Air 群に比べて p<0.01 で有意。

いた。これらの低下はいずれも対照群に比べて有意な相違であった。この精子産生能力の低下は 1 ヶ月間清浄空気に戻すと回復する傾向が見られたが、3 mg/m³ の群でなお 29% 低下していた。また、6 ヶ月間 DE を吸入させたマウスでは DSP について算出した最大無作用量は環境基準値以下であった。

なお、体重、精巣、精巣上体重量等に有意差はなかった。一方、精巣組織の光学顕微鏡および電子顕微鏡による観察では、DE 吸入マウスではライディッヒ細胞の形態に異常が認められた (図 52)。さらに、DE 吸入マウスでは、黄体形成ホルモン (LH) 受容体の mRNA 発現レベルも DE 濃度に依存して低下していたことから、男性ホルモンであるテストステロンの合成能力が低下していることが示唆された。男性ホルモンは精子の誕生、成熟に必須のホルモンであるので、この低下が原因で精子産生能 (DSP) が低下したものと考えられる。以上のことから、ディーゼル排気吸入により、ライディッヒ細胞の構造的、機能的低下によって精子形成能など生殖機能が影響を受けていることが示された。以上の結果は、東京理科大学・薬学部・武田健教授を中心とする五つの研究機関 (他に、結核研究所、帝京大学医・泌尿器科、栃木臨床病理研究所) との共同研究によるものである。

さらに、1998 年末にカナダの研究者¹⁰²⁾が DEP 抽出物が Ah 受容体に結合して、遺伝子の発現を亢進したり、女性ホルモン受容体 (エストロゲン・レセプター) に対する正常な性ホルモンの結合を拮抗阻害す

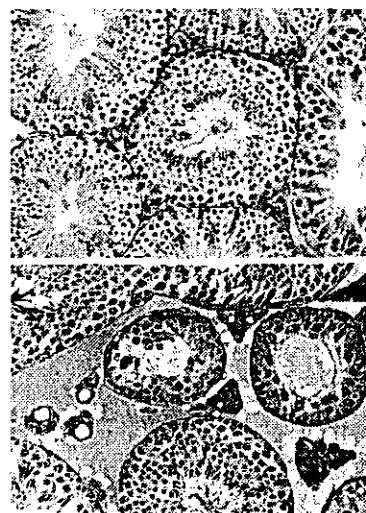


図52 ディーゼル排気 (DE) を 6 ヶ月間暴露した ICR 雄系マウスの精細管とライディッヒ細胞の変化 (下), 上は対照マウス

ることを報告した。また、早川ら¹⁰³⁾も DEP 抽出物が、女性ホルモンレセプターならびに男性ホルモンレセプターに対する正常な性ホルモンの結合を拮抗阻害することを報告した。これらの知見から、DEP は様々なメカニズムで生殖器系に悪影響を及ぼす可能性が考えられるので、今後より詳しい研究が必要と考えられる。

3.5.2 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 中のダイオキシン類の濃度について³¹⁾

(1) はじめに

近年、ディーゼル排気 (DE) 中にダイオキシン類が含まれていることが報告されて注目を集めている。たとえば、ノルウェーの Ohme ら⁹⁸⁾ はトンネル内の空气中ダイオキシン濃度を測定し、大型ディーゼル車は小型車の 10-20 倍のダイオキシンを排出していることを報告している。また、それらの結果から、ノルウェー国内の自動車からの年間総排出量は約 14g くらいと推定される。米国でも道路上では年間最大 16.1g 排出されていると報告されている¹⁰⁴⁾。

一方、日本国内においては環境庁が各地の大気中あるいはディーゼル排気中のダイオキシン濃度を測定し、報告している¹⁰⁵⁾。たとえば、1996 年度の測定では堺市車之町で 1.67 pg/m³、新宿内藤町の 1.65 pg/m³、川崎市川崎区町島町の 1.62 pg/m³ 等が最も高かったと報告されている。環境庁の調査ではこれらのダイオキシンの発生源を特定していないが、それらの地域にはゴミ焼却場などの特別なダイオキシン発生源はないことから、ディーゼル車に由来する可能性が考えられる。ディーゼル排気中のダイオキシンの塩基の供給源としては、Clunies-Ross らの研究報告⁹⁷⁾では軽油中に 1 ppm 前後の塩基の存在を指摘していることから、我国でも軽油中の塩基である可能性がある。

一方、Hiraoka¹⁰⁶⁾の 1991 年時点の報告によると、これまでの日本の総ダイオキシン発生量は年間約 3.5-8.4 kg と推定されている。これに対して、自動車由来のダイオキシン発生量は年間 0.07g くらいと推定している¹⁰⁶⁾。しかし、この値は上記ノルウェーや米国の値に比べると著しく少ない。このようなことから、日本においてもより詳しい研究が必要とされていた。そこで、私達はディーゼル排気微粒子 (DEP)、ガソリン排気微粒子 (GEP) あるいは高速道路のトンネル内電気集じん機

で集めた粒子中のダイオキシン濃度を測定し、東京都内あるいは日本全国の浮遊粒子 (SPM) 発生量などから、国内での自動車由来のダイオキシン総排出量を推定することを試みた (*今日では、各種の規制自動車により上記の値よりかなり低くなっている。自動車由来のダイオキシンの割合が増加している)。

(2) 試料の採取方法

ディーゼル排気微粒子 (DEP) は当研究所の排気量が 2740 cc の 4JB-1 型イソズ 4 気筒直噴型ディーゼルエンジン排気 (DE) 発生装置の希釈トンネル部分に溜まったものを集めて測定に供した。エンジンの運転は回転数 1500 rpm, 10 トルク (Kg·m) の条件で行った。また、ガソリンエンジンの排気管に付着した粒子 (GEP) と高速道路のトンネル内電気集じん機から集めた粒子 (SPM) 中のダイオキシン濃度も測定した。後者の SPM は国立環境研究所環境標準試料 No. 8 として各研究者等に配布されてきた標準品である。

(3) 各試料のクリーンアップ

上記 3 種の粒子試料はトルエン溶媒中ソックスレー抽出器で 18 時間抽出した。得られた抽出液を 0.5 ml に濃縮し、n-ヘキサンを加え n-ヘキサン溶液とした。それらに¹³C-2,3,7,8-PCDDs (ポリクロロジベンゾダイオキシン) と PCDFs (ポリクロロジベンゾフラン) の各 50 pg ずつを内部標準として添加した。この n-ヘキサン溶液は濃硫酸、水で洗浄後、無水硫酸ナトリウム (亡硝) で水分を十分に除いた。

この n-ヘキサン溶液を 5 ml に濃縮後、シリカゲルカラムにアプライした。このカラムを 120 ml の n-ヘキサンで洗い、PCDDs と PCDFs をカラムより溶出させ、これを濃縮後、再度アルミナカラムに移した。60 ml のジクロロメタン / n-ヘキサン (2/98, v/v) で PCB 類を溶出後、ジクロロメタン / n-ヘキサン (60/40, v/v) 120 ml で PCDDs と PCDFs を溶出した。この PCDDs と PCDFs は活性炭・シリカゲルのカラムにアプライし、残存する PCB 類をジクロロメタン / n-ヘキサン (25/75, v/v) の 50 ml で溶出させ、その後 100 ml のトルエンで PCDDs と PCDFs を溶出した。この最終溶出液をロータリーエバポレーターで 1 ml に濃縮後、N₂ 気流下で、乾固し、これを 50 μl のトルエンに再溶解して測定に供した。

(4) ダイオキシン類の測定条件

上記によってクリーンアップしたダイオキシン類の測定はGC/MS (JEOL JMS SX-102) の選択イオンモードで行った。クリーンアップ終了試料 2 μl を SP-2331 カラムあるいは PTE カラム付ヒューレット・パッカード 5890 II 型ガスクロマトグラフィーに注入した。4-7 塩素化同族体分析用の SP-2331 カラムで分析するときの GC/MS 操作条件はインジェクター温度 260℃ カラム温度は 20℃/分の条件で 100℃ から 180℃ まで昇温、その後 3℃/分で 260℃ まで昇温で行った。

8 塩素化同族体分析用の PTE カラム付 GC/MS の分析操作条件はインジェクター温度 270℃、カラム温度は 30℃/分の条件で 120℃ から 270℃ までの昇温条件で行った。

(5) DEP 中のダイオキシン類の測定結果と自動車排気由来年間総排出量の推定

ガソリンエンジン排気微粒子 (GEP) とディーゼルエンジン排気微粒子 (DEP) および高速道路のトンネル内電気集じん機から採取した SPM 中の PCDDs と PCDFs の総量と 2,3,7,8-TCDD (テトラクロロジベンゾダイオキシン) 換算値 (I-TEQ) を表 18 に示した。DEP 中の総量値は GEP の 4 倍であり、SPM の値は小型車由来の DEP の 30 倍高かった。

また、GEP、DEP およびトンネル内 SPM 中の PCDDs と PCDFs の同族体組成比を図 53 に示した。図中黒棒で示した 2,3,7,8-同族体比は DEP より GEP で高く、SPM では GEP よりさらに高かった。また、SPM は 7 あるいは 8 塩素化同族体の割合が高いことも特徴的であった。このような非揮発性同族体は SPM 中に蓄積されやすいことを示している。また、SPM 中の同族体比は小型自動車の同族体比と異なる組成、濃度

であることから、SPM 中のダイオキシンの多くの部分は大型車に由来する可能性が示唆された。なお、Oehme ら^{9b)}によれば、トンネル内でのダイオキシン類の測定結果と走行量等から推測したところ、重量車の単位走行距離当たりのダイオキシン排出量が軽量車の約 20 倍と試算されており、上記の可能性を支持している。

また、SPM 中の I-TEQs 濃度は 242pg/g であった³¹⁾。

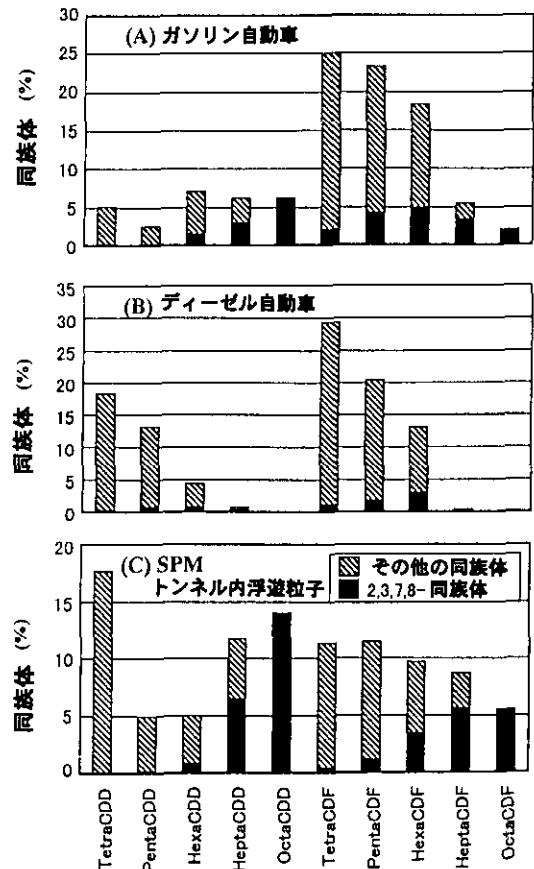


図53 各種の自動車排気粒子中の PCDDs と PCDFs 同族体の割合 (%)

A: ガソリンエンジン粒子, B: ディーゼルエンジン粒子, C: 高速道路トンネル内電気集じん機で集めた粒子 (国立環境研究所環境標準試料 No.8)

表18 各種の自動車排気粒子中の総ダイオキシン類濃度と毒性換算 (I-TEQ) 濃度

	ダイオキシン類濃度 (pg/g)						
	ガソリン排気微粒子 (GEP)			ディーゼル排気微粒子 (DEP)			SPM ^a
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 1	No. 2	No. 3	
総PCDDs/PCDFs (平均±SD)	161	294 (213.7±70.6)	187	642	1030 (865±199)	925	26000
I-TEQs (平均±SD)	3.73	5.33 (4.18±1.01)	3.46	10.6	7.13 (10.57±3.45)	14.0	242

a) 国立環境研究所の環境標準試料シリーズの自動車排気粒子 No. 8 で、高速道路のトンネル内の電気集じん機から集めた粒子である。

日本の都市部の大気中のSPM濃度は約 $40\mu\text{g}/\text{m}^3$ とされている。このことから、大気中のSPM由来I-TEQs濃度は都市大気中のSPMの組成と高速道路トンネル中のSPMの組成が同一と仮定すると、約 $0.01\text{pg}/\text{m}^3$ と見積もられる。これに対し、1994年の日本の都市大気中のI-TEQs濃度は $0.37\text{pg}/\text{m}^3$ であった。このことから、都市部大気中のPCDDsとPCDFs総量の約2.8%は自動車排気に由来することになる。しかしながら、PCDDsとPCDFsの相当量は揮発性でガス状でも存在していることが知られている。いくつかの報告^{98,104)}では約50%はガス状で存在しているので、自動車の寄与はもう少し多いと見積もられている。

1990年の統計によると、東京都の自動車台数(二輪車除く)は4.1百万台で、全国では60.1百万台であった。また、1994年の全国の自動車台数は67.3百万台であった。一方、東京都では、1990年の自動車(二輪車除く)からの年間排出粒子量を4230tと見積もっている。従って、1990年および1994年の全国での粒子排出量は、62000tと69400tと推定される。これらの値に、私達が測定したTEQ値を掛け合わせると、1990年の東京では年間1.0g、全国では15.0g、1994年の全国では16.8gのダイオキシン類が自動車から排出されていると見積もられる。このダイオキシンの値は先のHiraokaら¹⁰⁶⁾により報告された0.07gの約240倍に相当し、ほぼノルウェーの報告に匹敵する値であった。また、この値は国内の全ダイオキシン排出量の約0.3%に相当するもので、ゴミ焼却等と比べるとかなり低い値である。ただ、高速道路等が幾重にも走っているような高汚染地域での汚染レベルは無視しえないものと考えられるので、総合的な自動車排気ガス対策が望まれる。

3.5.3 ディーゼル排気微粒子(DEP)中の多環芳香族炭化水素類とその他の化学物質について

(1) はじめに

DEPは約千種類にも及ぶ様々な化学物質を含んでいる。それらの中にはベンゾ[a]ピレン(BaP)に代表される多環芳香族炭化水素(PAHs)やそれらのニトロ化物であるニトロアレーンのような突然変異原性や発がん性物質として知られているものあるいはその疑いがあるとされている物質が多い¹⁰⁸⁾。

一方近年、ダイオキシンをはじめとする様々な環境

ホルモン(外因性内分泌攪乱物質)が動物の生殖器官系に様々な異常を引き起こすことが知られ、公衆衛生学的観点から注目を集めている。そのダイオキシンの毒性はダイオキシンを受け止める「受容体」との結合によって発現すると考えられている¹⁰⁹⁾。すなわち、細胞膜を通過して細胞内に入ったダイオキシン等は細胞質内に浮遊しているAh受容体(多環芳香族炭化水素受容体)と結合し、その後Hsp-90やARNT、その他の補助因子の助けを借りて遺伝子(DNA)の情報の発現をコントロールすることが知られている。このDNAの発現によって、BaPのような多環芳香族炭化水素等を代謝し、真の発がん物質に変える酵素が誘導されたり、奇形を起こしたり、性ホルモンの合成に影響を及ぼすなど、様々な作用が発現することが知られている¹⁰⁹⁾。

Ah受容体はその名のとおりに、様々な多環芳香族炭化水素類と容易に結合し、上記と同様の作用を引き起こす可能性が考えられる。事実、1998年末にMeek¹⁰²⁾はDEP抽出物がAh受容体と結合し、DNAの情報発現を活性化させることをヒトの乳がん細胞等を用いて証明した。また、早川ら¹⁰³⁾は男性ホルモンや女性ホルモンの受容体への正常なホルモンの結合をDEP抽出物が拮抗して阻害することをはじめて明らかにした。この女性ホルモン受容体に対するDEPの拮抗阻害作用については上記Meek¹⁰²⁾も同様の結果を報告している。

このような報告に加えて、3.5.1項に述べたごとく、私達はDE暴露によってマウスの男性ホルモンの合成能力が低下し、精子数が減少することを認めた。このことは、ディーゼル排気が生殖器系に異常を引き起こしうることを示している。

このような事実から、DEPは発がん性やアレルギー疾患の発現等にとどまらず、環境ホルモンとしても働いている可能性が考えられる。そのため、本項では、DEP中の多環芳香族炭化水素類(PAHs)とニトロアレーン等の濃度を測定し、実際の都市大気中粉じん内の濃度との比較を試みた。

(2) ディーゼル排気微粒子(DEP)と一般大気中の粉じん(AAP)の捕集法

DEPはイスズ4JB1ディーゼルエンジン(2740cc、4気筒直噴式、1990年式)を中心とする国立環境研究所のディーゼル排気発生装置で、市販軽油(硫黄分0.05%以下)を用いて、回転数1500rpm、負荷(トル

ク) 10kg/m の条件下で運転し、先に記した方法⁶⁾でフィルター上に捕集した。一般大気中の粉じん (AAP) は、金沢市市街地幹線道路脇でハイボリュームエアースンプラーにより、10 μ m 以下の粉じんを2時間ごとに24時間にわたってフィルター上に捕集した。

(3) 捕集した DEP および大気中粉じん (AAP) の前処理法と分離定量法

フィルター上に捕集した両粒子は、基本的には図 54 に示す方法で前処理した。まず、各粒子に有機物抽出溶媒として汎用されているベンゼン-エタノール (3:1) を 40ml ずつ加えて、超音波抽出を2回行った。この抽出液を 5%NaOH, 20%H₂SO₄ および蒸留水で液々分配して精製した後、減圧乾固してその残渣をエタノールに溶解し、7%水硫化ナトリウム (NaSH) 溶液を加えて還元還流し、ニトロアレーンのニトロ基を化学発光を示すアミノアレーンに変換させた。その後、水酸化ナトリウムを加えてベンゼン抽出を2回繰り返した。この抽出液にアスコルビン酸含有エタノールを1滴添加して減圧乾固し、残渣をアスコルビン酸含有アセトニトリルに溶解し、Hayakawa ら^{110,111)}が開発したシステムに注入した。

なお、本抽出試料中には多環芳香族炭化水素類 (PAHs) も含まれているので、まず試料中のアミノアレーンと PAHs をミニ ODS カラム (SC) を用いて大別し、その後にアミノアレーンと PAHs のそれぞれの最適分析カラム-溶離液系に導入して同時に分離検出するシステムによって測定した¹¹²⁾。なお、アミノアレーンは化学発光検出器で検出し、PAHs は蛍光分光光度計で検出定量した。

(4) DEP および一般大気粉じん (AAP) 中の PAHs とニトロアレーン濃度¹¹³⁻¹¹⁵⁾

表 19 には、国立環境研究所のディーゼル排気暴露装置の動物暴露チャンバー内で、捕集日を変えて5回サンプリングした DEP 中の PAHs とニトロアレーンの濃度を示した。それぞれの PAHs はサンプリング時間の違いにより 1.7 倍から 2.1 倍の違いが認められた。また、ニトロアレーンも 1.5 倍から 2.5 倍の違いが認められた。これは、粒子濃度としては常に一定であったが、燃焼条件の微妙な違いで PAHs やニトロアレーンの生成が変化することがあることを示している。

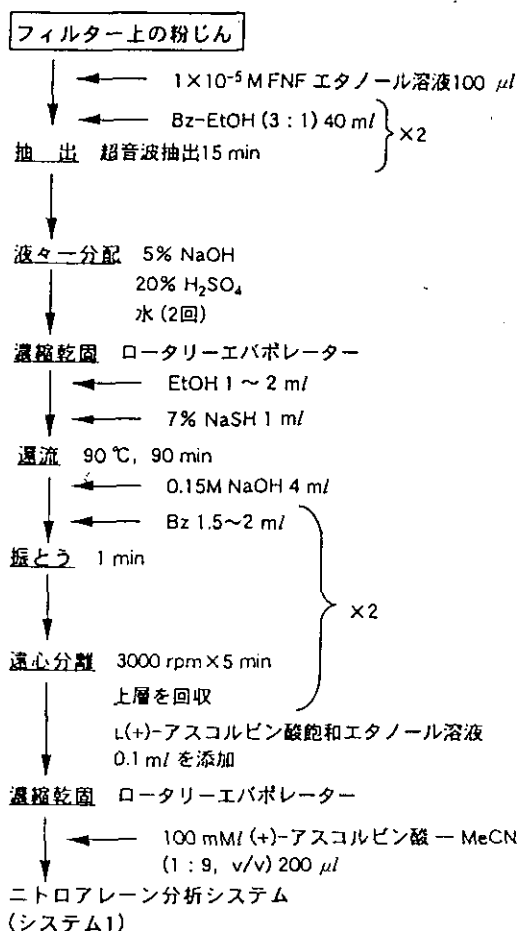


図54 自動車由来粒子中の多環芳香族炭化水素類測定のための前処理法

図 55 には上記 DEP と金沢市街の幹線道路脇でハイボリュームエアースンプラーにより集めた 10 μ m 以下の SPM (AAP) 中の PAHs とニトロアレーン濃度を比較して示した。図から明らかなように、国立環境研究所の装置から得られた DEP 中のピレン (PYR)、ベンゾ[a]アントラセン (BaA)、およびベンゾ[a]ピレン (BaP) は一般大気粉じん (AAP) から得られたものより濃度が低めであった。一方、1-ニトロピレン (1-NP)、1,3-ジニトロピレン (1,3-DNP)、1,6-ジニトロピレン (1,6-DNP) および 1,8-ジニトロピレン (1,8-DNP) 等は一般大気粉じん (AAP) 中の値より若干高めの傾向であった。

個々の物質の濃度についてみると上記のような傾向が認められたが、全体的にみると国立環境研究所の DEP の化学組成は一般大気環境中の PAHs やニトロアレーンの含量¹¹⁴⁾と類似していると言える。このことは、Ah 受容体のリガンドである多環芳香族炭化水素 (PAHs) は DEP あるいは一般大気環境中の粒子 (AAP) とともに類似していることを示している。

表19 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 中の多環芳香族炭化水素類とニトロアレーン濃度

化合物	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	平均±SD
FLT	100	120	160	100	170	130±33
PYR	36	40	60	35	60	46.2±12.7
BaA	16	18	27	17	32	22.0±7.1
CHR	42	49	70	46	78	57.0±16.0
BbF	21	24	36	23	37	28.2±7.7
BkF	5.2	6.4	8.7	6.2	10	7.3±2.0
BaP	1.6	1.9	3.0	1.4	2.3	2.0±0.6
DBahA	nd	nd	nd	nd	6.3	—
BghiP	nd	nd	nd	nd	7.5	—
lcdP	nd	nd	nd	nd	6.6	—
1-NP	130	150	190	140	200	162±31
1,3-DNP	0.32	0.36	0.45	0.36	0.49	0.40±0.07
1,6-DNP	0.19	0.19	0.27	0.20	0.49	0.27±0.13
1,8-DNP	0.38	0.33	0.40	0.30	0.71	0.42±0.16

単位はすべて pmol/mg・DEP である。nd=検出限界以下

FLT: フロランテン, PYR: ビレン, BaA: ベンツ(a)アントラセン, CHR: クリセン, BbF: ベンツ(b)フロランテン, BkF: ベンツ(k)フロランテン, BaP: ベンツ(a)ピレン, DBahA: ジベンツ(ah)アントラセン, BghiP: ベンツ(ghi)ピレン, lcdP: イソ(cd)ピレン, 1-NP: 1-ニトロピレン, 1,3-DNP: 1,3-ジニトロピレン, 1,6-DNP: 1,6-ジニトロピレン, 1,8-DNP: 1,8-ジニトロピレン

(本項の PAHs とニトロアレーン濃度および次項のアニオン濃度は金沢大学薬学部・早川和一教授, 村橋毅博士の好意により測定いただいた値である)。

また, 全粒子中に占める有機化合物の割合は粒子の特性を比較する上で重要な指標である。そこで, R/P社のテオム (TEOM) パティキュレート濃度計と R/P社のカーボン・パティキュレートモニターを用いて, 3日間にわたってチャンバー内粒子 (DEP) 濃度および DEP 中の有機炭素 (OC) と無機炭素 (EC) を計測した。その結果, DEP 濃度は私達の既存の測定値と同じであり, トータルカーボン濃度は粒子濃度の 80~85%であった。また, OC と EC の比率は 1:1.2 くらいで, 大巾に変動することはなく, このトータルカーボン中に占める OC は 45%に相当していた。一般大気環境中浮遊粒子 (SPM) の OC の比率はおよそ 40~50%といわれている。これらのことから, 私達のディーゼル排気暴露チャンバー内の DEP の OC の割合は一般大気中のそれと類似したものであった。(TEOM とカーボン・パティキュレートモニターによる測定は東京ダイレック KK・白井忠社長の好意によって行われたものである。)

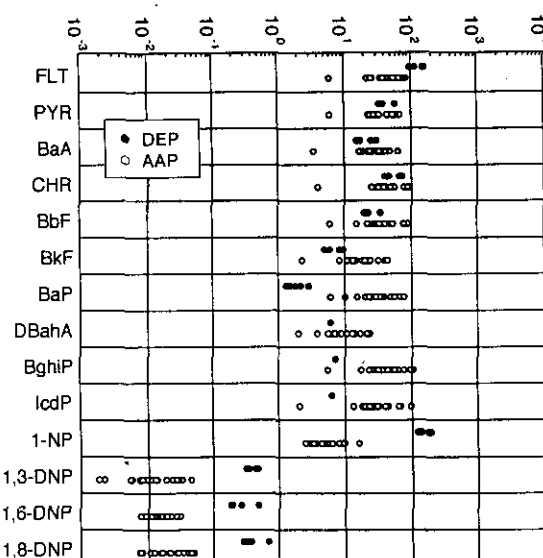


図55 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 中および一般大気粉じん (AAP) 中の多環芳香族炭化水素類とニトロアレーンの濃度

(5) DEP 中のアニオン濃度

国立環境研究所のディーゼル排気暴露チャンバー内から集めた DEP 中のアニオン分析は, 各 5 mm 角の捕集フィルターを蒸留水 2 ml で 30 分間超音波抽出し, 間接吸光度イオンクロマトグラフィーにて行った。

表 20 には DEP 中の Cl^- , NO_3^- および SO_4^{2-} 濃度を示した。動物暴露チャンバー内での捕集日をずらせて

表20 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 中のアニオン濃度

化合物	D-S1	D-S2	D-S3	D-S4	D-S5	平均±SD
Cl ⁻	0.09	0.03	0.08	nd	nd	0.07±0.03
NO ₃ ⁻	0.80	1.2	1.5	1.2	1.1	1.16±0.25
SO ₄ ²⁻	2.4	2.5	3.9	3.2	3.4	3.08±0.63

単位はすべて $\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{DEP}$ である。nd=検出下限以下

DEP を5回サンプリングした値を示している。ダイオキシン生成の原因にもなる塩素イオンは $1.06\sim 3.20\ \mu\text{g}/\text{g}$ 程度含まれている。硝酸イオンは $49.6\sim 93\ \mu\text{g}/\text{g}$ でサンプリング時間の違いで2倍ほどの違いがあり、硫酸イオンは $230\sim 374\ \mu\text{g}/\text{g}$ で、サンプリング時間の違いで1.6倍くらいの差があった。また、DEP中の硫酸イオンは硝酸イオンより2~3倍多い傾向であった。

(6) DEP中の金属類の濃度

表21には国立環境研究所のディーゼル排気暴露チャンバー内から集めたDEP中の重金属濃度を示した。最も多い金属はNa, Ca, K, Zn, Mg, Al等の軽金属で続いてFe, Cu, Cr, Ni, Mn, V, Co等の遷移金属が微量に存在していた。これらの遷移金属はスーパーオキシド (O_2^-), 過酸化水素 (H_2O_2) 等の活性酸素と反応して、最も活性の強いヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) を生成し、細胞や組織に重篤な傷害をもたらすことが既に示されている⁶⁾。(本測定は国立環境研究所・地域環境研究グループ・西川雅高氏が行った。)

3.5.4 経口トレランスおよび自己免疫疾患に対する

ディーゼル排気微粒子 (DEP) の影響

(1) はじめに

ディーゼル排気微粒子 (DEP) は、その毒性によって呼吸器系を中心として多くの組織や細胞に傷害を与える^{6,37)}が、DEPは免疫系に対してもアジュバントとして作用する⁷³⁻⁷⁹⁾。例えば、抗原に対する血清抗体の産生および末梢血リンパ組織のT細胞の増殖反応はDEPによって増強される。

抗原を径口的に投与することによって経口トレランス (oral tolerance, OT) が誘導されアレルギー反応が起こらない現象はよく知られており、本トレランス (寛容) は食物としてヒトとは異なる生物のタンパク質を摂取してもアレルギーにならない仕組みに重要な役割を果たしている。経口トレランス (寛容) の誘導

表21 ディーゼル排気微粒子 (DEP) 中の金属類の濃度 (ppm)

Na	2710	Fe	126	Mn	2.2
Ca	944	Cu	11.7	Pb	2
K	374	Cr	6.1	V	0.3
Zn	228	Ni	3.0*	Co	0.3
Mg	204	Ti	2.5*	Cd	0.2
Al	173	Sr	2.3		

*半定量値。

には腸管に由来する様々な物質が影響を及ぼし、これが食物アレルギー発症の一因と考えられている。

一方、自己免疫疾患は、自分自身の生体構成成分、すなわち自己抗原に対するトレランス (寛容) が破綻することによって発症する疾患である。そのトレランス (寛容) の破綻には遺伝的素因のみならず環境因子もまた重要な役割を果たしていると考えられている。本研究においては、DEPが外来性物質として免疫寛容 (OT) および自己免疫疾患に影響を及ぼしている可能性を考え、これら免疫系に対するDEPの影響を動物実験モデルを用いて検討した。

(2) 経口トレランスと自己免疫疾患の実験モデルの作製

実験動物は7~8週齢のDBA/1Jマウスを用いた。感作は抗原として0.1mgの鶏卵リゾチーム (hen egg lysozyme, HEL) を0.05 mlの生理食塩水に溶解し、等量のプロイントの完全アジュバント (complete Freund's adjuvant, CFA) に混和後、マウスの尾根部に皮下注射した (day 0)。免疫寛容 (OT) の誘導は10 mg HEL を0.25 ml生理食塩水に溶解し、HEL感作前5日間 (days -5, -4, -3, -2, -1) の間1日1回、経口用ゾンデ (胃の中へ薬液を入れるチューブ) を用いて投与した¹¹⁷⁾。対照としては生理食塩水を経口投与した。自己免疫疾患モデルは、実験的コラーゲン関節炎 (collagen-induced arthritis, CIA) を用いた。CIA誘導の

ため、0.025 mg のⅡ型コラーゲン (type II collagen, C II) を 0.05 ml の 0.01 N 酢酸に溶解し、等量の CFA に混和後、動物の尾根部皮下に注射した。21 日後、同様に追加免疫した。CIA の重症度は臨床的点数法によった¹¹⁶⁾。

DEP 投与は、免疫寛容 (OT) に対する DEP の効果を調べるため、DEP (0.01, 0.1 および 1 mg/ml) を 0.01 % の Tween 20 を含む 0.25 ml のリン酸緩衝液に懸濁し、それぞれの HEL 経口投与直前に経口的に投与した。CIA に対する DEP の効果は、Ⅱ型コラーゲン (C II) 免疫前 30 日から免疫後 20 日目まで 2 日ごとに、ペントバルビタール麻酔下に、0.05 ml の DEP (0.1, 0.3 および 1 mg/ml) を点鼻投与することによって検討した。

抗体価の測定は HEL および C II に対する IgG 抗体、IgG1 および IgG2a 抗体を ELISA 法によって測定した。遅延型過敏症 (DTH) は HEL に対する DTH をマウスの足の裏 (foot pad) のはれ具合を測定した¹¹⁷⁾。また、リンパ球増殖反応の測定は脾臓および鼠径部リンパ節細胞の HEL および C II に対する増殖反応を *in vitro* で測定した¹¹⁷⁾。サイトカインの測定は上記の細胞による IFN- γ および IL-4 産生をサンドウッチ・ELISA 法によって測定した。

(3) 経口免疫 (OT) に対する DEP の効果^{32,33)}

1) 鶏卵リゾチーム (HEL) 経口投与マウスにおける HEL 特異的抗体産生に及ぼす DEP の効果

HEL を経口投与することによって、HEL 特異的 IgG 抗体産生は有意に抑制された (表 22)。この IgG のうち、Th1 タイプの CD4 陽性 T 細胞依存性である HEL 特異的 IgG2a 抗体産生の抑制は極めて著名であった。また、Th2 タイプの CD4 陽性 T 細胞依存性であ

る HEL 特異的 IgG1 抗体産生の抑制も有意であったが、その抑制の程度は IgG2a の場合と比較して弱かった。なお、DEP 投与によって、HEL 特異的 IgG2a 抗体産生抑制は阻害されたが部分的であった。一方、HEL 特異的 IgG1 抗体の産生抑制は、DEP によってほぼ完全に阻止された。このことは、本大気汚染物質 (DEP) が Th1 細胞依存性抗体よりも Th2 細胞依存性抗体によって媒介されるアレルギー反応誘導により強く関与している可能性を示唆している。

2) HEL 経口投与マウスにおける HEL 特異的遅延型過敏症 (DTH) に及ぼす DEP の効果

HEL に対する DTH は、HEL の経口投与によって著明に抑制されたが、本抑制は DEP 投与によって阻止された。このことは、遅延型過敏症反応には Th1 細胞が強く関与しており、したがって、このことは DEP が Th1 細胞によって媒介されるアレルギー反応の誘導にも関与し得る可能性を示唆している。

3) 鶏卵リゾチーム (HEL) 経口投与マウスにおけるリンパ球増殖反応に及ぼす DEP の効果

HEL の経口投与によって、リンパ節細胞の抗原特異的増殖反応は強く抑制された。この細胞増殖抑制は、DEP によって有意に阻害された。このことは、DEP が T 細胞増殖反応の促進に関与していることを示唆している。

4) HEL 経口投与マウスにおける IFN- γ および IL-4 産生へ DEP の効果

HEL 経口投与動物におけるリンパ節細胞による IFN- γ 産生は著明に減少した。一方、IL-4 産生も本抗原の経口投与によって有意に抑制されたが、その程度は IFN- γ の場合と比較して弱かった。DEP によって、IFN- γ の抑制は部分的に解除された。IL-4 産生抑制は DEP によって、ほぼ完全に回復した。このこと

表 22 ディーゼル排気微粒子 (DEP) による経口免疫寛容 (OT) の誘導阻害

処置	HEL 特異的 IgG 抗体価 (A_{405})	HEL 特異的 IgG1 抗体価 (A_{405})	HEL 特異的 IgG2a 抗体価 (A_{405})	足のはれくあい (遅延型過敏症) ($\times 0.01\text{mm}$)	増殖 ($\times 1000\text{cpm}$)	IFN- γ (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)
0.9% NaCl/PBS	0.71 \pm 0.06	0.60 \pm 0.07	0.79 \pm 0.08	72 \pm 6.4	68.4 \pm 7.0	4892 \pm 524	346 \pm 28
HEL/PBS	0.20 \pm 0.02*	0.23 \pm 0.03*	0.05 \pm 0.04*	18 \pm 2.2*	9.3 \pm 1.1*	328 \pm 47*	186 \pm 20*
HEL/0.01mg DEP	0.25 \pm 0.03	0.31 \pm 0.03	0.08 \pm 0.07	20 \pm 2.3	12.7 \pm 1.4	ND	ND
HEL/0.1mg DEP	0.29 \pm 0.04	0.49 \pm 0.05**	0.26 \pm 0.03**	37 \pm 3.9**	32.6 \pm 3.7**	ND	ND
HEL/1mg DEP	0.38 \pm 0.05**	0.56 \pm 0.04**	0.33 \pm 0.04**	42 \pm 3.8**	38.9 \pm 4.5**	1835 \pm 204**	312 \pm 29**

HEL: 鶏卵リゾチーム, PBS: リン酸緩衝生理食塩水, A_{405} : 405nm での吸光度を示す。
ND: 未測定 * $p < 0.05$: 0.9% NaCl/PBS に対して, ** $p < 0.05$: HEL/PBS に対して

は、DEPがTh1サイトカイン産生よりもTh2サイトカイン産生に対してより強い促進効果を有している可能性を示唆している。

(4) コラーゲン関節炎 (CIA) に対する DEP の効果^{33,34)}

1) コラーゲン誘発性関節炎 (CIA) の重症度に対する DEP の効果

Ⅱ型コラーゲン (CⅡ) 免疫後 40 日目にみられたマウスの関節炎は DEP 投与によって増強された (表 23)。このことは、DEP がヒトの関節リウマチなどの自己免疫疾患に影響を与える可能性を示唆しているものであり、今後さらに詳しい動物実験を積み重ねる必要がある問題と考えられる。

2) CⅡ 特異的抗体産生に及ぼす DEP の効果

CⅡに対する抗体 IgG, IgG1, および IgG2a 産生は DEP によって増強されたが、CⅡ特異的 IgG1 抗体産生量は、CⅡ特異的 IgG2a 抗体産生量と比較し顕著であった。このことは、DEP による本自己免疫性関節炎の増強は発症抗原に対する特異的抗体の産生が促進された結果であることを示唆している。

3) リンパ球増殖反応に及ぼす DEP の効果

DEP 投与動物における脾臓細胞の CⅡに対する増殖反応は、対照群 (PBS) に比べ、有意に大きかった。このことは、DEP による本自己免疫性関節炎および発症抗原に対する抗体産生の増強は T 細胞増殖反応の促進の結果であることを示唆している。

4) サイトカイン産生に対する DEP の効果

PBS 処理動物においては、著明な IL-4 産生は、IFN- γ 産生と比較し低かったが、DEP によって著しく増加した。その増加の程度は、DEP による IFN- γ 産生増加の割合よりも大きかった。このことは、DEP による本自己免疫性関節炎、発症抗原および T 細胞増殖

反応の増強は、程度の差はあるものの Th1 型および Th2 型サイトカイン産生の促進の結果であることを示唆している。

(5) 考察

HEL 特異的 IgG1 抗体産生および IL-4 産生は HEL の経口投与によって有意に抑制された。しかし、本法によるこれら Th2 型リンパ球反応の抑制は DEP によってほぼ完全に阻止されたことから、DEP は Th2 型リンパ球細胞の経口トランス (経口免疫寛容) の誘導を強く阻害するものと思われる。一方、Th1 細胞依存性である HEL 特異的 IgG2a 抗体産生、遅延型過敏症および IFN- γ 産生は HEL の経口投与によって著明に抑制されたが、これらの抑制は DEP によって部分的に解除された。したがって、Th2 反応の経口トランス (経口寛容) の誘導阻止の場合よりも弱いとはいえ、DEP は、Th1 反応による経口トランス (異種動物のタンパク質を食べてもアレルギー反応を起こさないこと) の誘導に対して阻止的に働き、アレルギー反応を起こすようにするものと思われる。HEL 特異的 IgG 抗体および HEL に対するリンパ球の増殖反応は、HEL の経口投与によって抑制されたが、これらの抑制は DEP によって阻止された。以上の結果から、DEP は経口トランス、すなわち異種動物のタンパク質を食べてもアレルギー反応を起こさない現象の誘導を阻害する、すなわち食物アレルギーの発症に関与する可能性があると考えられる。

長期間にわたる DEP 投与によってコラーゲン関節炎の重症度が増強されたことから、DEP は自己免疫疾患に対し、促進的に働くと思われる。DEP の自己免疫疾患に対する影響については、これまで全く検討されていなかった。DEP によるコラーゲン関節炎の促進のメカニズムとしては、すでに報告されているように、

表 23 デーゼル排気微粒子 (DEP) によるコラーゲン誘発性関節炎 (CIA) の増強

DEP (mg/ml)	平均スコア	CⅡ特異的 IgG 抗体価 (A ₄₀₅)	CⅡ特異的 IgG1 抗体価 (A ₄₀₅)	CⅡ特異的 IgG2a 抗体価 (A ₄₀₅)	増殖能 (×1000cpm)	IFN- γ (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)
0(PBS)	3.2±0.58	0.62±0.07	0.36±0.04	0.53±0.07	34.8±3.3	3163±385	186±22
0.1	3.8±0.63	0.70±0.08	0.48±0.04	0.55±0.05	38.4±4.2	3379±408	244±30
0.3	5.8±0.60*	0.89±0.09	1.24±0.08*	0.73±0.08	52.4±4.7*	4212±446	577±56*
1	6.7±0.82*	1.04±0.08*	1.63±0.12*	0.88±0.07*	78.2±6.3*	4920±438*	738±62*

CⅡ：Ⅱ型コラーゲン、PBS：リン酸緩衝生理食塩水、A₄₀₅、405nm での吸光度を示す。*p<0.05：PBS に対して

DEPの免疫応答に対するアジュバンド効果によるものと推測される。実際に、Ⅱ型コラーゲン(CⅡ)特異的IgG, IgG1, IgG2a抗体産生およびCⅡに対するリンパ球の増殖反応はDEPによって増強された。

また、対照動物におけるCⅡ特異的IgG2a抗体産生はCⅡ特異的IgG1抗体産生よりも大きかったが、DEP投与によって、CⅡ特異的IgG1抗体産生は、CⅡ特異的IgG2a抗体産生の場合と比較し、著明に増強された。したがって、DEPはTh1型リンパ球の反応よりもTh2型リンパ球の反応に対し、より強いアジュバンド効果を示すと思われる。このことは、DEPはTh1サイトカインであるIFN- γ よりもTh2型サイトカインであるIL-4をより強く産生したことからもサポートされる。

ディーゼル排気(DE)暴露後、吸入されたDEPの一部は燕下作用によって消化器系に入ることが知られている。この燕下作用等の結果、DEPによって経口トレランスの誘導が阻止されることが判明した。このことから、DEPは食物アレルギーを引き起こす可能性があることが示唆される。また、DEP投与によってコラーゲン関節炎が増強されたことから、DEPによって慢性関節リウマチなどの自己免疫疾患が増悪される可能性も考えられる。これらDEPの作用メカニズムとして、Th1型およびTh2型、特にTh2型リンパ球細胞に依存した抗体産生およびTh1型ならびにTh2型サイトカイン分泌がDEPによって促進されることが示された。(本3.5.4項は佐賀医科大学・微生物学教室講師吉野伸博士との共同研究によるものである。)

3.5.5 まとめ

(1) DEP濃度として0.3, 1.0および3mg/m³のディーゼル排気(DE)を毎日12時間ずつ6ヵ月間吸入させたマウスの1日当たりの精子産生能力(DSP)は対照群よりそれぞれ29%, 36%および53%低下した。この低下はDE吸入により精巣で男性ホルモンを作るライデヒ細胞が損傷を受けることによって起こったものと考えられる。

(2) 国立環境研究所の小型エンジン付ディーゼル排気暴露装置内で発生したDEP, ガソリン自動車の排気管から集めたガソリン排気微粒子(GDP)およびトンネル内電気集じん器から集めた浮遊粒子状物質(SPM)中のダイオキシン類の濃度を測定した。SPM中の濃度(I-TEQ)が242pg/gで最も高く、その多くの部分は

大型ディーゼルエンジン車に由来する可能性が示唆された。DEPとGEPはそれぞれ4pg/gと10pg/g程度であった。これから、自動車排気に由来する国内のダイオキシン類の年間総排出量は約17gと試算された。

(3) DEP中にはベンゾ(a)ピレン(BaP)やニトロアレーンなど発がん物質として知られている多環芳香族炭化水素類(PAHs)が含まれている。これらの物質は最近になって環境ホルモンとしても作用することが知られてきたので、私達の研究に用いたDEP中のPAHs濃度と一般大気中の浮遊粒子(AAP)中のPAHs濃度を測定し、比較した。その結果、個別成分において濃度に若干の違いがあるものの、全体的にはDEPとAAPは非常に類似した組成、濃度を示していた。また、DEP中の有機物(SOF)含量もカーボンモニターで測定し一般大気中粒子(AAP)の値と類似していた。さらに、DEP中のアニオン濃度と重金属濃度も測定した。

(4) DEPが食物アレルギーを起こさない仕組みである免疫寛容を阻害したり、関節炎のような自己免疫疾患をも引き起こす可能性を示す基礎データを得た。特に、DEPはTh2リンパ球の活性化とともに、Th1リンパ球の活性も増強し、アレルギー反応のみならず、自己免疫疾患をも誘導しうる可能性が示唆された。

3.6 浮遊粒子状物質(SPM)および二酸化窒素(NO₂)の個人暴露量の推定に関する研究³⁵⁾

3.6.1 はじめに

大都市部においてはNO₂とSPMが大気汚染の主要な部分を占めている。中でもSPM汚染が深刻でその多くの部分を占めているディーゼル排気微粒子(DEP)がヒトの健康にとって極めて有害であることはすでに述べた。したがって、大都市部の住民はどのくらいのNO₂やSPMを吸入しているのかを知ることは都市住民の健康影響を考えるうえで極めて重要である。

本研究の目的は、SPMとNO₂の測定結果より、①それら汚染物質の濃度の道路端からの距離減衰を知ること、②外気濃度が室内濃度に及ぼす割合を評価すること、ならびに③外気濃度あるいは室内濃度の個人暴露濃度に及ぼす寄与率を推定することにある。

なお、本項の研究は、先の特別研究の後半の1990年から本特別研究の前半に当たる1995年までの6年間にわたって、大阪市内の沿道周辺住宅での室内外のSPM

DEPの免疫応答に対するアジュバンド効果によるものと推測される。実際に、Ⅱ型コラーゲン(CⅡ)特異的IgG、IgG1、IgG2a抗体産生およびCⅡに対するリンパ球の増殖反応はDEPによって増強された。

また、対照動物におけるCⅡ特異的IgG2a抗体産生はCⅡ特異的IgG1抗体産生よりも大きかったが、DEP投与によって、CⅡ特異的IgG1抗体産生は、CⅡ特異的IgG2a抗体産生の場合と比較し、著明に増強された。したがって、DEPはTh1型リンパ球の反応よりもTh2型リンパ球の反応に対し、より強いアジュバンド効果を示すと思われる。このことは、DEPはTh1サイトカインであるIFN- γ よりもTh2型サイトカインであるIL-4をより強く産生したことからもサポートされる。

ディーゼル排気(DE)暴露後、吸入されたDEPの一部は燕下作用によって消化器系に入ることが知られている。この燕下作用等の結果、DEPによって経口トレランスの誘導が阻止されることが判明した。このことから、DEPは食物アレルギーを引き起こす可能性があることが示唆される。また、DEP投与によってコラーゲン関節炎が増強されたことから、DEPによって慢性関節リウマチなどの自己免疫疾患が増悪される可能性も考えられる。これらDEPの作用メカニズムとして、Th1型およびTh2型、特にTh2型リンパ球細胞に依存した抗体産生およびTh1型ならびにTh2型サイトカイン分泌がDEPによって促進されることが示された。(本3.5.4項は佐賀医科大学・微生物学教室講師吉野伸博士との共同研究によるものである。)

3.5.5 まとめ

(1) DEP濃度として0.3、1.0および3mg/m³のディーゼル排気(DE)を毎日12時間ずつ6ヵ月間吸入させたマウスの1日当たりの精子産生能力(DSP)は対照群よりそれぞれ29%、36%および53%低下した。この低下はDE吸入により精巣で男性ホルモンを作るライデヒ細胞が損傷を受けることによって起こったものと考えられる。

(2) 国立環境研究所の小型エンジン付ディーゼル排気暴露装置内で発生したDEP、ガソリン自動車の排気管から集めたガソリン排気微粒子(GDP)およびトンネル内電気集じん器から集めた浮遊粒子状物質(SPM)中のダイオキシン類の濃度を測定した。SPM中の濃度(I-TEQ)が242pg/gで最も高く、その多くの部分は

大型ディーゼルエンジン車に由来する可能性が示唆された。DEPとGEPはそれぞれ4pg/gと10pg/g程度であった。これから、自動車排気に由来する国内のダイオキシン類の年間総排出量は約17gと試算された。

(3) DEP中にはベンゾ(a)ピレン(BaP)やニトロアレーンなど発がん物質として知られている多環芳香族炭化水素類(PAHs)が含まれている。これらの物質は最近になって環境ホルモンとしても作用することが知られてきたので、私達の研究に用いたDEP中のPAHs濃度と一般大気中の浮遊粒子(AAP)中のPAHs濃度を測定し、比較した。その結果、個別成分において濃度に若干の違いがあるものの、全体的にはDEPとAAPは非常に類似した組成、濃度を示していた。また、DEP中の有機物(SOF)含量もカーボンモニターで測定し一般大気中粒子(AAP)の値と類似していた。さらに、DEP中のアニオン濃度と重金属濃度も測定した。

(4) DEPが食物アレルギーを起こさない仕組みである免疫寛容を阻害したり、関節炎のような自己免疫疾患をも引き起こす可能性を示す基礎データを得た。特に、DEPはTh2リンパ球の活性化とともに、Th1リンパ球の活性も増強し、アレルギー反応のみならず、自己免疫疾患をも誘導しうる可能性が示唆された。

3.6 浮遊粒子状物質(SPM)および二酸化窒素(NO₂)の個人暴露量の推定に関する研究³⁵⁾

3.6.1 はじめに

大都市部においてはNO₂とSPMが大気汚染の主要な部分を占めている。中でもSPM汚染が深刻でその多くの部分を占めているディーゼル排気微粒子(DEP)がヒトの健康にとって極めて有害であることはすでに述べた。したがって、大都市部の住民はどのくらいのNO₂やSPMを吸入しているのかを知ることは都市住民の健康影響を考えるうえで極めて重要である。

本研究の目的は、SPMとNO₂の測定結果より、①それら汚染物質の濃度の道路端からの距離減衰を知ること、②外気濃度が室内濃度に及ぼす割合を評価すること、ならびに③外気濃度あるいは室内濃度の個人暴露濃度に及ぼす寄与率を推定することにある。

なお、本項の研究は、先の特別研究の後半の1990年から本特別研究の前半に当たる1995年までの6年間にわたって、大阪市内の沿道周辺住宅での室内外のSPM

とNO₂濃度を測定した結果であり、国立環境研究所と大阪市立環境科学研究所との共同によってなされたものである³⁵⁾。

3.6.2 調査等の方法について

(1) 調査期間および調査場所

本調査では、表24に示すごとく、1990年から1995年までの毎年11月に5～7日間(1995年のみ10月)、大阪市内K、A、I地区の3カ所において2回ずつ、家屋内外のSPM、ならびにNO₂濃度とそれら地域での個人暴露量を測定した。11月はまだ暖房が使われていない時期であるので、この時期に調査を行った。なお、1992年の調査では一部の住宅では暖房がなされていた。SPMには暖房の影響はあまりないが、NO₂は暖房の影響が大きい^{118,119)}。そのため、外気と居間の濃度との間の相関解析からはこの年のデータは除いた。また、K、A、Iのいずれの地域の沿道周辺にも粉塵を発生する顕著な固定発生源はない。なお、本調査は自動車の影響をみるのが目的であるので、調査住宅は原則として喫煙者がいる家は除き、来客等喫煙者があった場合もデータから除いた。調査住宅の構造はほとんどが木造2階建ての一戸建であった。

(2) 調査項目

調査項目はSPMとNO₂であった。SPMの測定は国立環境研究所で開発した2μm以下、2～10μmおよび10μm以上の3段分級式のSPMサンプラーを用いた。測定は外気(軒下)、居間および個人暴露濃度について行い、居間と外気の測定には空気流量2.5 l/minのサンプラーを用い、個人暴露濃度の測定は空気流量0.5 l/minの小型サンプラーを終日携帯してもらって行った。1回の測定時間は1日ないし2日間であった。なお、今回の個人暴露濃度の測定対象者は主に主婦であったが、調査期間中の半分から2/3の期間にとどまった。NO₂の測定は東洋アドバンテック社製NO₂バッジで行い、その他はSPMの測定に準じた。

また、住宅の構造、間取り、換気の頻度、燃焼器具の使用などは個別にアンケート調査により行い、個人暴露濃度の測定期間中の測定対象者の各部屋での在室時間の調査も行った。主に主婦を対象とした調査であったので、寝室にいる合計の時間が8時間(33.4%)で最も長く、居間、台所、寝室にいる時間は6年間平均で1日当たり19.1時間(79.4%)であり、外にいる時間は1時間程度と少なかった。

表24 沿道周辺住宅における空気汚染調査の概要

	1990年	1991年	1992年	1993年	1994年	1995年
地区	K地区	A地区	I地区	I地区	A地区	K地区
幹線道路	国道A号線	府道B線	府道C線	府道C線	府道B線	国道A号線
道路交通量(7:00~19:00)	約30,000台	約40,000台	約40,000台	約40,000台	約40,000台	約40,000台
調査時期	11月13~17日 (火)~(土)	11月12~16日 (火)~(土)	11月10~16日 (火)~(月)	11月9~15日 (火)~(月)	11月5~11日 (火)~(月)	10月17~21日 (火)~(土)
調査件数	東側10軒	東側5軒 西側4軒	東側4軒 西側5軒	東側4軒 西側5軒	東側4軒 西側4軒	東側8軒
調査家屋備考	喫煙住宅含む		8階の住宅含む 暖房住宅含む	8階の住宅含む	喫煙住宅含む	喫煙住宅含む
SPM測定						
居間、外気	2日間を2回	1日間を4回	2日間を3回	2日間を3回	2日間を3回	1日間を4回
個人暴露	2日間を1回	2日間を1回	2日間を2回	2日間を2回	2日間を2回	1日間を2回
NO ₂ 測定						
居間、台所、寝室、外気	1日間を4回	1日間を4回	2日間を3回	2日間を3回	2日間を3回	1日間を4回
個人暴露	1日間を2回	1日間を4回	2日間を2回	2日間を3回	2日間を3回	1日間を2回
HCHO測定						
居間、寝室、外気					2日間を1回	1, 2日間を1回
個人暴露						1, 2日間を1回
測定備考	寝室測定せず		昼夜別にサンプリング	昼夜別にサンプリング	昼夜別にサンプリング	昼夜別にサンプリング

3.6.3 SPM 濃度について

(1) 道路からの距離減衰

1990年から1995年の全測定期間中の $10\mu\text{m}$ 以下の総SPMの道路端(路肩)からの距離減衰を図56に示した。なお、 $2\mu\text{m}$ 以下のSPMの距離減衰も測定したが、総SPMと類似の変化を示していた。これら道路からの距離別にランク分けしたSPMと NO_2 の平均濃度を表25に示した。SPMについてみると、道路から5mと55~140mの間では約 $10\mu\text{g}/\text{m}^3$ の違いで15~16%の減衰率であった。 $2\mu\text{m}$ 以下の粒子では $7.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ の違いで18%の減衰率となり統計学的に有意な減衰を示していた。なお、本調査の中で、1991年だけは半減に近い減衰率であった。大気汚染は風速、風向、建物の配置や高さ、天候などの影響を受けやすいので、このような減衰率の場合も起こりうるものと考えられる。

また、昼と夜のSPMの距離別濃度も調べた。総SPM、 $2\mu\text{m}$ 以下および $2\sim 10\mu\text{m}$ のSPMとも夜よりも昼間の濃度が高く、距離減衰をみると、5mと55~140mの間の濃度差は比較的大きく、また昼の方が夜より距離減衰が明確であった。

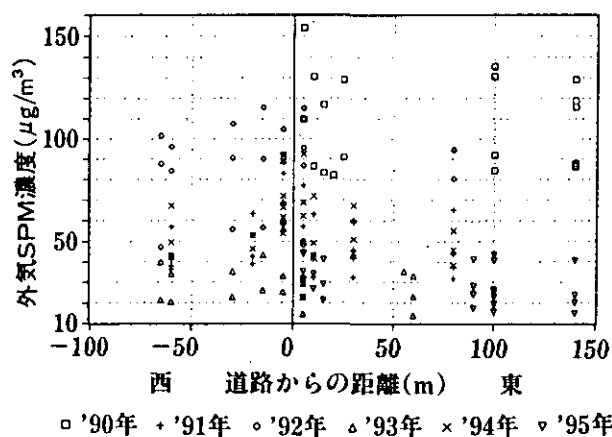


図56 総浮遊粒子状物質 (SPM) 濃度の道路端からの距離減衰

(2) 外気濃度と居間濃度との間の相関

外気濃度と居間濃度の関係を総SPMについては図57に、 $2\mu\text{m}$ 以下のSPMは図58に示した。また、それらの回帰式から求められた相関係数(r)はそれぞれ $r=0.882$ と $r=0.870$ で高い値であった。このことは、外気の濃度が高いところは、居間の濃度も高くなることを示している。なお、 $2\sim 10\mu\text{m}$ のSPMの場合は $r=0.782$ で若干低い値であった。当然ながら、この解析においても、喫煙のあった家や屋外で工事が行われていたとき等のデータは除いた。

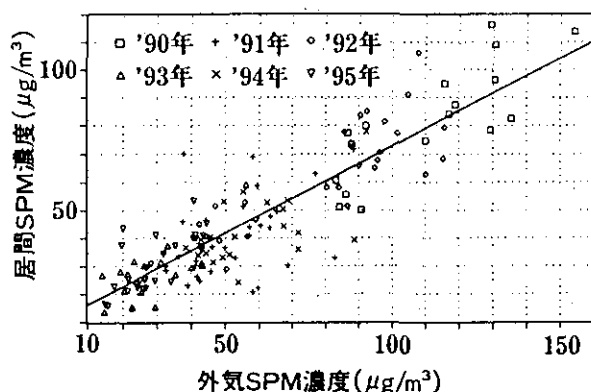


図57 外気と居間の総浮遊粒子状物質 (SPM) 濃度の相関

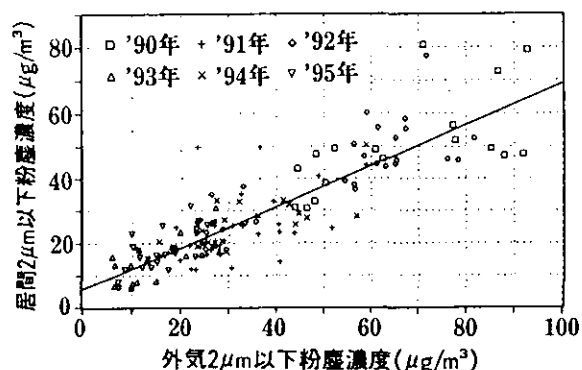


図58 外気と居間の $2\mu\text{m}$ 以下の浮遊粒子状物質 (PM2) 濃度の相関

表25 道路からの距離別平均SPM、 NO_2 濃度

	道路からの距離 (m)			
	5	10~15	20~30	55~140
SPM ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	63.2 ± 30.0 (44)	55.7 ± 31.5 (24)	57.4 ± 24.0 (26)	53.5 ± 33.0 (57)
2 μm 以下	$38.6 \pm 20.4^*$	34.0 ± 21.9	34.0 ± 17.0	$31.5 \pm 21.6^*$
2~10 μm	24.6 ± 10.2	21.6 ± 10.8	23.4 ± 8.0	22.0 ± 12.4
NO_2 (ppb)	39.9 ± 7.4 (54)***	37.9 ± 8.7 (28)	36.2 ± 6.2 (32)	34.2 ± 8.3 (68)***

() 内はデータ数 '90~'95年調査より

* $p < 0.1$, *** $p < 0.001$

(3) 外気濃度、居間濃度と個人暴露濃度との間の相関
 外気濃度と個人暴露濃度との間の相関を総SPMについては図59に、 $2\mu\text{m}$ 以下のSPMについては図60に示した。また、それらの回帰式から求めた相関係数(r)はそれぞれ0.670と0.752で高い値であった。このことも、外気濃度が高いところに住んでいる人ほど、高濃度のSPMを吸入していることを示している。なお図上で、外気濃度 $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ の所から個人暴露濃度を外挿すると、両図ともほぼ $60\mu\text{g}/\text{m}^3$ となり、個人暴露濃度は外気濃度の約60%くらいであることが示唆された。

居間の濃度と個人暴露濃度との間の相関も総SPMについては図61に、 $2\mu\text{m}$ 以下のSPMは図62に示した。それらの回帰式から求められた相関係数(r)はそれぞれ0.717と0.791となり、ともに高い相関性があることが認められた。さらに、図63と図64の居間濃度から個人暴露濃度を外挿すると各々約80%に相当することが示された。

また、表26には様々な粒径の粒子が外気対居間、外

気対個人暴露量、居間対個人暴露量に関してどの程度の相関を持つかを示した。このデータによると、外気と居間の間で相関が高いのは $2\text{--}10\mu\text{m}$ 、 $2\mu\text{m}$ 以下及び総SPMであった。一方、外気あるいは居間の濃度と個人暴露量との間で相関が高かったのは $2\mu\text{m}$ 以下の粒子が総SPMであることが判明した。

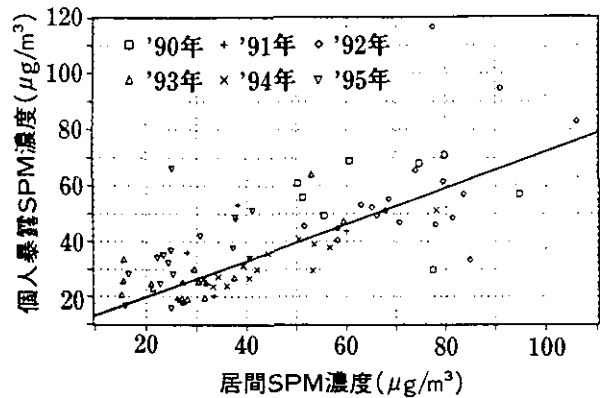


図61 居間と個人暴露の総浮遊粒子状物質 (SPM) 濃度の相関

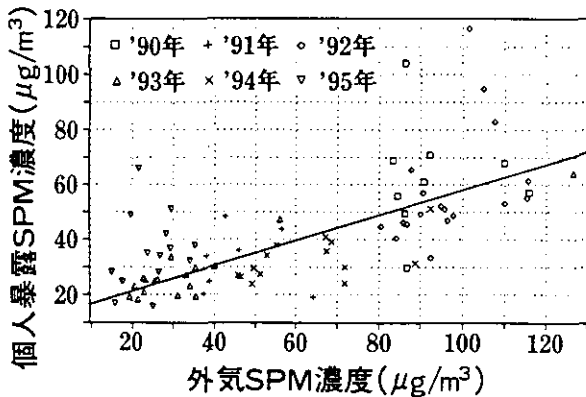


図59 外気と個人暴露の総浮遊粒子状物質 (SPM) 濃度の相関

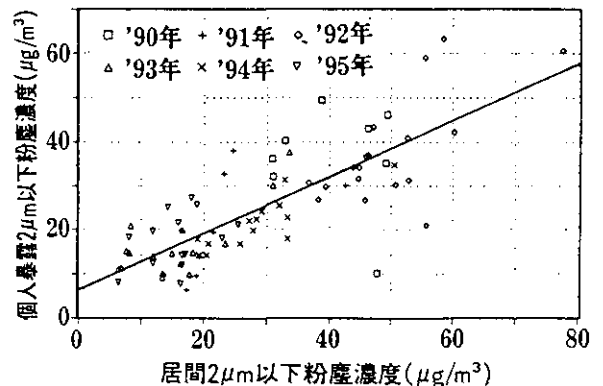


図62 居間と個人暴露の $2\mu\text{m}$ 以下の浮遊粒子状物質 (PM2) 濃度の相関

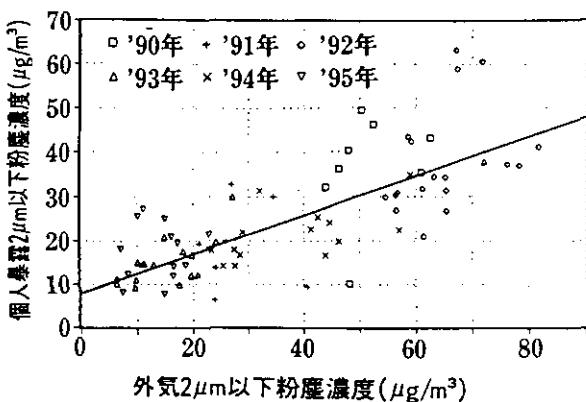


図60 外気と個人暴露の $2\mu\text{m}$ 以下の浮遊粒子状物質 (PM2) 濃度の相関

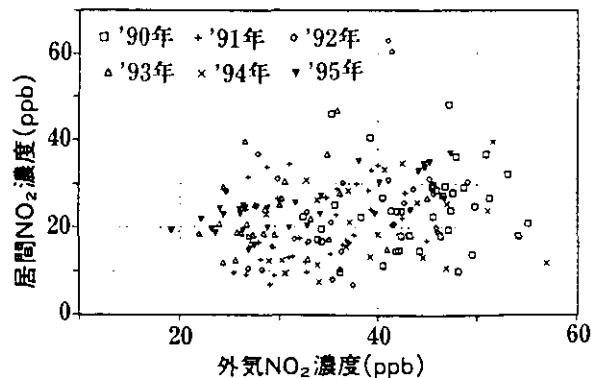


図63 外気と居間の NO_2 濃度の相関

3.6.4 NO₂濃度について

(1) 道路からの距離減衰

NO₂濃度の距離減衰は、図56に示した全SPMや2μm以下のSPMの減衰率と類似していた。しかし、当然のことながら測定年、測定地区および測定時間の違いによって差があった。距離別にランク分けしたNO₂の平均濃度は前記表25の下端に示したごとく、5m、10~15m、20~30mおよび55~140mの値はそれぞれ39.9±7.4ppb、37.9±8.7ppb、36.2±6.2ppbおよび34.2±8.3ppbであった。なお、5m地点から55~140m地点の距離減衰率は約15%で、両地点の値には有意な違い(P<0.001)が認められた。

(2) 外気濃度と居間濃度との間の相関

外気濃度と居間濃度との間の相関を図63に示した。外気と居間のNO₂濃度の間にはほとんど相関は認められない。測定データ(n=182)から求められた相関係数(r)は0.263で極めて低い相関性であった。なお、開放型の暖房器具が使用された住宅のデータは除いた。

さらに、外気濃度と台所濃度の相関(r=0.233, n=183)、および外気濃度と寝室濃度との間の相関(r=0.090, n=143)も居間濃度と同様にともに低かった。

一方、居間と台所のNO₂濃度の間には高い相関性が認められ、両者が近接しているほどその相関性は高くなる傾向が認められた。これらのことから、寒冷期に近づくほど居間のNO₂濃度は台所のNO₂に由来することが示唆される。しかし、10月に調査を行った95年のデータは外気濃度と居間濃度との間には高い相関(r=0.731, n=32)が認められた(図63中の黒逆三角形)。これは、10月は11月より外気温が高く、窓を開ける頻度が高かったことによると考えられる。

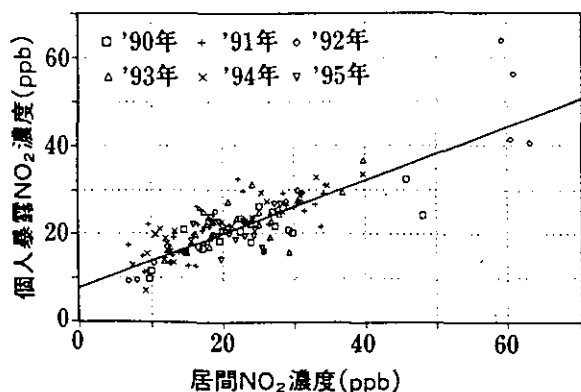


図64 居間と個人暴露のNO₂濃度の相関

(3) 外気濃度、居間濃度と個人暴露濃度との間の相関
NO₂の場合、外気濃度と個人暴露濃度との間の相関(r=0.248, n=134)は極めて低いが、居間濃度と個人暴露濃度との間の相関(r=0.882, n=113)は図64に示すごとく、極めて高いことが特徴的であった。台所濃度と個人暴露濃度との間の相関は上記居間濃度と個人暴露濃度との間の相関性との中間的な相関性を示していた。これらの結果から、NO₂の個人暴露は居間>寝室>台所>外気の順と考えられる。しかし、これはあくまでも、窓をあまり開けない11月の調査(一部10月調査も含まれる)であることを忘れてはならない。

3.6.5 SPM濃度とNO₂濃度との間の相関

外気の総SPM濃度、2μm以下のSPM濃度とNO₂との間の相関を各々図65と図66に示した。また、各々の相関係数はr=0.770(n=155)とr=0.764(n=155)であり、外気のSPM濃度とNO₂濃度との間には高い相関性が認められた。また、2~10μmのSPM濃度とNO₂濃度との間の相関係数(r)は0.722(n=155)となり、いずれの場合も相関性は高く、外気中のSPMについては、いずれも発生源としては自動車の寄与が大きいことが示唆された。

一方、居間のSPMとNO₂濃度との間の相関性はあまり高くなかった。10μm以下の総SPMとNO₂の相関係数(r)は0.336(n=149)で、2μm以下のSPMとNO₂ではr=0.333(n=149)、2~10μmのSPMとNO₂ではr=0.295(n=149)であった。これは、居間のNO₂濃度は台所の燃焼器具の影響を受けるのに対して、SPMは喫煙のない住宅では外気以外に特別な発生

表26 大気中浮遊粒子状物質(SPM)の各粒子サイズごとの屋外濃度、居間濃度および個人暴露量間の相関

SPM 粒径	屋外濃度 対 居間濃度	屋外濃度 対 個人暴露量	居間濃度 対 個人暴露量
10μm (a) 以上	0.15	0.05	0.18
2-10μm (b)	0.800*	0.343*	0.375*
2μm (c) 以下	0.892*	0.741*	0.806*
総SPM (b+c)	0.884*	0.672*	0.727*
全粒子 (a+b+c)	0.679*	0.307*	0.350*

a) 表の中の数字は相関係数(r)を示す。相関係数は1に近いほど両者間の相関性が高いことを意味する。

b) *は群間の有意差を示す。

源がないことによると考えられる。さらに、SPMは特に $2\mu\text{m}$ 以下のSPMは冬期間に窓を閉めきっていても外気の70%位は室内に入ってくる事が明らかとなった。

また、SPMと NO_2 の各個人暴露濃度との間にもほとんど相関性は認められなかった。 $10\mu\text{m}$ 以上のSPMと NO_2 の間では $r=0.053$ ($n=82$)、 $2\mu\text{m}$ 以下のSPMでは $r=0.022$ ($n=82$)、 $2\sim 10\mu\text{m}$ の粒子でと NO_2 では $r=0.035$ ($n=82$)であり、いずれの粒子の場合も屋内で NO_2 との間の相関は極めて低かった。

これらの結果は、SPMは外気濃度、居間濃度および個人暴露濃度の3者の間には高い相関性が認められたのに対して、 NO_2 は居間濃度と個人暴露濃度との間には高い相関性があるが、外気濃度と居間濃度との間に相関性はなかったことによると考えられる。

3.6.6 計算による個人暴露濃度と実測による個人暴露濃度との間の相関

(1) SPM濃度との相関

SPMの計算による個人暴露濃度の算出は、室内の

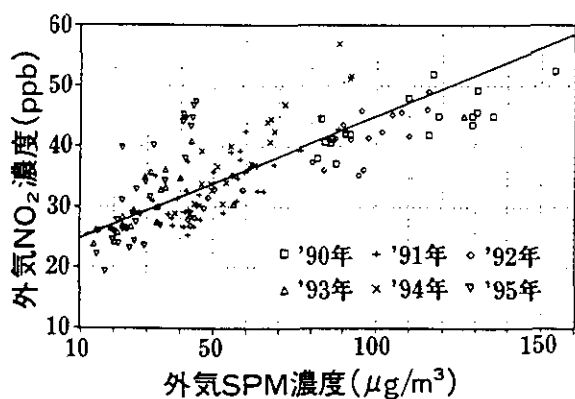


図65 外気における総SPM濃度と NO_2 濃度の関係

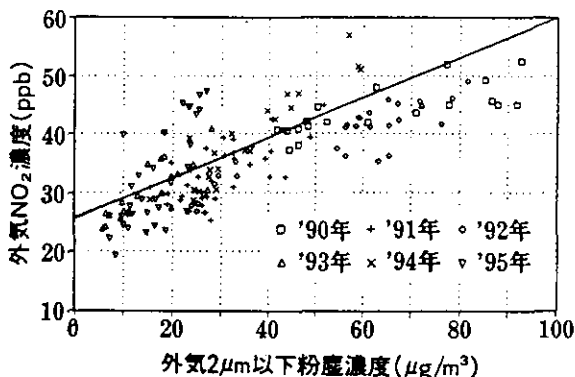


図66 外気における $2\mu\text{m}$ 以下粉塵濃度と NO_2 濃度の関係

SPM濃度を居間でしか測定していないこと、室内には特にSPM発生源はないことなどから、台所も寝室も居間と同じ濃度として計算した。また、近所への外出時の吸入濃度は外気濃度と同じとして、各場所での滞在時間、在室時間とそれぞれの場所のSPM実測濃度とから計算して個人暴露濃度を求め、実測した個人暴露濃度との間の相関を図67に示した。なお、遠出した場合や家の中の他の場所にいたときのデータは除いた。SPMでは、個人暴露濃度と居間の濃度との間の相関性が高く、データは省略したが、家の中の在室時間が長いので、相関性が高くなったと考えられる。

(2) NO_2 濃度との間の相関

NO_2 についても、SPMと同様に計算による個人暴露濃度を求め、実測による個人暴露濃度との間の相関を求めた。このときの相関係数(r)は 0.816 ($n=41$)となり、 0.01% の危険率で有意な相関性が認められた。これは、 NO_2 も個人暴露濃度と居間濃度との間の相関が高いうえに、家の中の在室時間が長いことによると考えられる。

以上のように、各場所での滞在時間とそれぞれの場所の NO_2 濃度とから個人暴露量を計算することが可能であり、かつその値は実測個人暴露量との間に高い相関性があることが認められた。なお、近所といえども外出先の濃度が軒下で測定した外気濃度と同じとはかぎらないこと、居間濃度も暴露されているときの平均濃度ではなく全時間の平均でしかないことなど、個人暴露量の計算には限界があることも忘れてはならないと思われる。

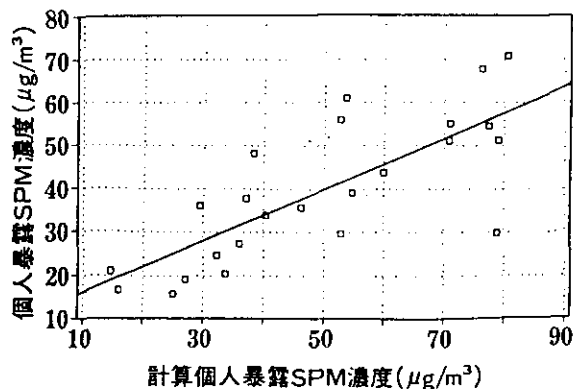


図67 計算個人暴露SPM濃度と個人暴露SPM濃度の関係

3.6.7 まとめ

6年間にわたって沿道周辺住宅の室内外でSPMとNO₂濃度等の測定を行い、それらの結果より、次の結論を得た。

(1) SPM, NO₂ともに道路からの距離減衰が認められ、道路から5mと55~140mとでは全平均でSPMでは15~18%, NO₂では約15%であった。

(2) 外気濃度と室内濃度との相関は、SPMでは高く、NO₂では低かった。また、居間のSPM濃度は外気濃度のおおよそ60%に相当していた。NO₂は居間濃度と台所濃度の相関が高いことから、外気よりも燃焼器具が使用される台所の影響を受けやすいことが示唆された。

(3) 個人暴露濃度と外気濃度、室内濃度との相関については、SPMは外気濃度、居間濃度とも高い相関が認められ、個人暴露濃度は居間濃度のおおよそ70~80%に相当していた。また、外気と居間の間で相関が高いのは2~10 μ m, 2 μ m以下及びその両者を合計した総SPMであった。一方、外気あるいは居間の濃度と個人暴露量との間で相関が高いのは2 μ m以下の粒子か10 μ m以下の総SPMであることが判明した。

さらに、NO₂の個人暴露量は居間濃度との相関は高かったが、外気との相関は低かった。もともとSPMは外気と居間濃度との間に相関が認められるので、個人暴露濃度は、居間などの室内濃度の影響が大きいと考えられる。

(4) 各測定場所でのSPMとNO₂濃度の相関をみると、外気では高い相関が認められ、それらが同一の発生源(自動車)に由来することが示唆された。居間濃度と個人暴露濃度についてはSPMとNO₂濃度の間に相関が認められなかった。その理由として、NO₂が燃焼器具を使用する台所の影響を強く受けるためと考えられる。

(5) 計算による個人暴露濃度と実測した個人暴露濃度との間には、SPM, NO₂とも高い相関が得られた。このことは、在室時間が長い居間、寝室などの濃度が個人暴露濃度と高い相関関係にあることから妥当と考えられる。

(6) これらの結果から、外気の個人暴露はSPMについては高い相関があるが、NO₂にはないことから、外気の影響を論じるためにはSPMの測定が、中でも2 μ m以下の粒径のSPM濃度の測定が重要であること

が示唆された。

3.7 おわりに

以上、私たちの研究チームと共同研究者らによって明らかにされた知見を中心に、ディーゼル排気(DE)が健康に及ぼす影響について報告した。ディーゼル排気(DE)は知れば知るほど健康影響が広く強い物質であることが次々と明らかになっている。私たちは、精子に及ぼす影響を含むこれらの知見を前にして、「まだ確かなことではない」という理由で対策を放置してきた過去の重い歴史をかみしめてみる必要がある。特に、生殖器系に及ぼす影響は地球規模の環境問題と同様に、科学的に明らかになったときにはもはや取り返しがつかない問題である。そうした問題ばかりでなく、大都市部で現実に見られる健康被害についてもディーゼル排気の影響を真剣に考える必要があるのではないだろうか。本報告書が環境対策を考えるための一助になればこれに過ぎる幸はない。

謝辞

最後に、本特別研究は、これまでご協力いただいた客員研究員、他所所内外の多くの方々に加えて、歴代所長、副所長、研究企画官および地域環境研究グループ統括研究官、環境健康部長、その他管理部門の方々、動物施設専門官、アニマルケアKK、日興酸素KK、小糸工業KK等の担当者をはじめとする多くの方々の協力、励ましによって可能であった。特に、実際に大気影響評価研究チームの市瀬孝道博士をはじめとする各メンバー、研究所内の準構成員あるいは筑波大学大学院環境科学科をはじめとする各大学院生、学部学生等共同研究員の方々の協力は何者にも代え難いものであった。このことを記し、関係各位のご協力、ご支援に心から感謝の意を表する次第である。

参考文献

- 1) 宮本正明編(1987):アレルギー性疾患は増えているか、調査結果と要因:国際医学出版
- 2) 寺道由晃, 古庄巻史編(1987):喘息はなぜ増えているのか, 国際医学出版
- 3) 伊藤幸治(1995):環境問題としてのアレルギー, 日本放送出版協会, 東京.
- 4) Barnes, P. J. (1994): Air pollution and asthma.

3.6.7 まとめ

6年間にわたって沿道周辺住宅の室内外でSPMとNO₂濃度等の測定を行い、それらの結果より、次の結論を得た。

(1) SPM, NO₂ともに道路からの距離減衰が認められ、道路から5mと55~140mとでは全平均でSPMでは15~18%, NO₂では約15%であった。

(2) 外気濃度と室内濃度との相関は、SPMでは高く、NO₂では低かった。また、居間のSPM濃度は外気濃度のおおよそ60%に相当していた。NO₂は居間濃度と台所濃度の相関が高いことから、外気よりも燃焼器具が使用される台所の影響を受けやすいことが示唆された。

(3) 個人暴露濃度と外気濃度、室内濃度との相関については、SPMは外気濃度、居間濃度とも高い相関が認められ、個人暴露濃度は居間濃度のおおよそ70~80%に相当していた。また、外気と居間の間で相関が高いのは2~10 μ m, 2 μ m以下及びその両者を合計した総SPMであった。一方、外気あるいは居間の濃度と個人暴露量との間で相関が高いのは2 μ m以下の粒子か10 μ m以下の総SPMであることが判明した。

さらに、NO₂の個人暴露量は居間濃度との相関は高かったが、外気との相関は低かった。もともとSPMは外気と居間濃度との間に相関が認められるので、個人暴露濃度は、居間などの室内濃度の影響が大きいと考えられる。

(4) 各測定場所でのSPMとNO₂濃度の相関をみると、外気では高い相関が認められ、それらが同一の発生源(自動車)に由来することが示唆された。居間濃度と個人暴露濃度についてはSPMとNO₂濃度の間に相関が認められなかった。その理由として、NO₂が燃焼器具を使用する台所の影響を強く受けるためと考えられる。

(5) 計算による個人暴露濃度と実測した個人暴露濃度との間には、SPM, NO₂とも高い相関が得られた。このことは、在室時間が長い居間、寝室などの濃度が個人暴露濃度と高い相関関係にあることから妥当と考えられる。

(6) これらの結果から、外気の個人暴露はSPMについては高い相関があるが、NO₂にはないことから、外気の影響を論じるためにはSPMの測定が、中でも2 μ m以下の粒径のSPM濃度の測定が重要であること

が示唆された。

3.7 おわりに

以上、私たちの研究チームと共同研究者らによって明らかにされた知見を中心に、ディーゼル排気(DE)が健康に及ぼす影響について報告した。ディーゼル排気(DE)は知れば知るほど健康影響が広く強い物質であることが次々と明らかになっている。私たちは、精子に及ぼす影響を含むこれらの知見を前にして、「まだ確かなことではない」という理由で対策を放置してきた過去の重い歴史をかみしめてみる必要がある。特に、生殖器系に及ぼす影響は地球規模の環境問題と同様に、科学的に明らかになったときにはもはや取り返しがつかない問題である。そうした問題ばかりでなく、大都市部で現実に見られる健康被害についてもディーゼル排気の影響を真剣に考える必要があるのではないだろうか。本報告書が環境対策を考えるための一助になればこれに過ぎる幸はない。

謝辞

最後に、本特別研究は、これまでご協力いただいた客員研究員、その他所内外の多くの方々に加えて、歴代所長、副所長、研究企画官および地域環境研究グループ統括研究官、環境健康部長、その他管理部門の方々、動物施設専門官、アニマルケアKK、日興酸素KK、小糸工業KK等の担当者をはじめとする多くの方々の協力、励ましによって可能であった。特に、実際に大気影響評価研究チームの市瀬孝道博士をはじめとする各メンバー、研究所内の準構成員あるいは筑波大学大学院環境科学科をはじめとする各大学院生、学部学生等共同研究員の方々の協力は何者にも代え難いものであった。このことを記し、関係各位のご協力、ご支援に心から感謝の意を表する次第である。

参考文献

- 1) 宮本正明編(1987):アレルギー性疾患は増えているか、調査結果と要因:国際医学出版
- 2) 寺道由晃, 古庄巻史編(1987):喘息はなぜ増えているのか, 国際医学出版
- 3) 伊藤幸治(1995):環境問題としてのアレルギー, 日本放送出版協会, 東京.
- 4) Barnes, P. J. (1994): Air pollution and asthma.

- Postgrad. Med. J., 70: 319-325.
- 5) Wardlaw, A. J. (1993): The role of air pollution in asthma. *Clin. Exp. Allergy*, 23: 81-96.
 - 6) Sagai, M., Saito, H., Ichinose, T., Kodama, M., Mori, Y. (1993): Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mice. *Free Radical. Biol. Med.*, 14: 37-47.
 - 7) Ichinose, T., Furuyama, A., Sagai, M. (1995): Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). II. Acute toxicity of DEP introduced into lung by intratracheal instillation. *Toxicology*, 99: 153-167.
 - 8) Sagai, M., Furuyama, A., Ichinose, T. (1996): Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). III. Pathogenesis of asthma like symptoms in mice. *Free Radical Biol. Med.*, 21: 199-209.
 - 9) 嵯峨井勝編集 (1994) : 国立環境研究所・特別研究報告書, SR-14-'94 pp.3-10.
 - 10) 嵯峨井勝, 高野裕久, 市瀬孝道. (1996) : ディーゼル排気微粒子 (DEP) による呼吸器疾患 ~気管支喘息, アレルギー性鼻炎と肺がんについて~ 呼吸, 15: 474-481.
 - 11) Takano, H., Yoshikawa, T., Ichinose, T., Miyabara, Y. & Sagai, M. (1997): Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness via Th2 cytokine expression and specific IgG1 production in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 156: 36-42.
 - 12) Takano, H., Miyabara, Y., Ichinose, T., Sagai, M. (1998): Diesel exhaust particles enhance airway responsiveness following allergen exposure in mice. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 20: 329-336.
 - 13) Miyabara, Y., Yanagisawa, R., Shimojo, N., Takano, H., Lim, H.B., Ichinose, T., Sagai, M. (1998): Murine strain difference in airway inflammation caused by diesel exhaust particles. *Europ. Respir. J.*, 11: 291-298.
 - 14) Ichinose, T., Takano, H., Miyabara, Y., Sagai, M. (1997): Strain differences of mice on allergic airway inflammation and immunoglobulin production by combination of antigen and diesel exhaust particles. *Toxicology*, 122: 183-192.
 - 15) Miyabara, Y., Takano, H., Ichinose, T., Lim, H.B., Sagai, M. (1998): Diesel exhaust enhances allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in mice. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 157: 1138-1144.
 - 16) Miyabara, Y., Ichinose, T., Takano, H., Sagai, M. (1998): Diesel exhaust inhalation enhances airway hyperresponsiveness in mice. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 116: 124-131.
 - 17) Miyabara, Y., Ichinose, T., Takano, H., Lim, H.B., Sagai, M. (1998): Effects of diesel exhaust on allergic airway inflammation in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 102: 805-812.
 - 18) Ichinose, T., Takano, H., Miyabara, Y., Sagai, M. (1998): Long term exposure to diesel exhaust enhances antigen-induced eosinophilic inflammation and epithelial damage in the airway. *Toxicol. Sci.*, 44: 70-79.
 - 19) Takano, H., Ichinose, T., Miyabara, Y., Shibuya, T., Lim, H.B., Yoshikawa, T., Sagai, M. (1998): Inhalation of diesel exhaust enhances allergen-induced eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 150: 328-337.
 - 20) Bayram, H., Devalia, J.L., Sapsford, R.J., Ohtoshi, T., Miyabara, Y., Sagai, M., Davies, R.J. (1998): The effect of diesel exhaust particles on cell function and release of inflammatory mediators from human bronchial epithelial cell in vitro. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 18: 441-448
 - 21) Bayram, H., Devalia, J.L., Khair, O.A., Abdelaziz, M.M., Sapsford, R.J., Sagai, M., Davies, R.J. (1998): Comparison of ciliary activity and inflammatory mediator release from bronchial epithelial cells of nonatopic nonasthmatic subjects and atopic asthmatic patients and the effect of diesel exhaust particles in vitro. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 102: 771-782.
 - 22) 宮原裕一, 嵯峨井勝 (1997) : 空中浮遊粒子の気道刺激性, アレルギー科, 4, 164-171.
 - 23) 石戸谷淳一, 高橋明洋, 小口直彦, 市瀬孝道, 嵯峨井勝. (1996) : ディーゼル排気 (DE) の生体影響. 3報. DE吸入による鼻過敏性について, 第37回大気環境学会年会講演要旨集, pp. 272.
 - 24) 高橋明洋, 石戸谷淳一, 小口直彦, 市瀬孝道, 嵯峨井勝 (1996) : ディーゼル排気 (DE) の生体影響. 2報. DE吸入によるマウス鼻粘膜の形態変化について, 第37回大気環境学会年会講演要旨集, pp.271.
 - 25) Kobayashi, T., Kato A., Maijima, T., Nakajima, T., Suzuki, T., Ikeue, T., Ito, M., Murakami, M. (1997) : Short term exposure to diesel exhaust induces

- nasal mucosal hyperresponsiveness to histamine in guinea pigs. *Fund. Appl. Toxicol.*, 38 166-172.
- 26) Kobayashi, T., Ikeue, T., Ikeda, A., (1998): Four-week exposure to diesel exhaust induces nasal mucosal hyperresponsiveness to histamine in guinea pigs. *Toxicol. Sci.*, 45, 106-112.
- 27) Ichinose, T., Yajima, Y., Takenoshita, S., Nagashima, M., Nagamachi, E., Sagai, M. (1997): Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in mice by diesel exhaust particles. *Carcinogenesis*, 18, 101-108.
- 28) Kumagai, Y., Arimoto, T., Shinyashiki, M., Shimojyo, N., Yoshikawa, T., & Sagai, M. (1996): Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particle components with NADPH cytochrome P-450 reductase and involvement of the bioactivation in the DNA damage. *Free Radical. Biol. Med.*, 22, 479-487.
- 29) Ichinose, T., Yamanushi, T., Seto, H., Sagai, M. (1997): Oxygen radicals in lung carcinogenesis accompanying phagocytosis of diesel exhaust particles. *Int'l. J. Oncol.*, 11, 571-575.
- 30) 吉田成一, 武田 健, 押尾 茂, 嵯峨井勝, 菅原 勇. (1998): ディーゼル排気の雄性生殖器への影響. 第24回環境トキシコロジーシンポジウム. 講演要旨集, pp. 19-20.
- Yoshida, S., Sagai, M., Oshio, S., Umeda, T., Sugauma, M., Ihara, T., Sugawara, I., Takeda, K. (1999): Exposure to diesel exhaust affects the male reproductive system of mice. *Int. J. Andrology* (in press).
- 31) Miyabara, Y., Hashimoto, S., Sagai, M., Morita, M. (1999): PCDDs and PCDFs in vehicle exhaust particles in Japan. *Chemosphere*. (in press).
- 32) Yoshino, S., Ohsawa, M., Sagai, M. (1998): Diesel exhaust particles block induction of oral tolerance in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 287, 679-683.
- 33) Yoshino, S., Sagai, M. (1999): Induction of systemic Th1 and Th2 immune responses by oral administration of soluble antigen with diesel exhaust particles. *Cellular Immunol.*, (in press).
- 34) Yoshino, S., Sagai, M. (1998): Enhancement of collagen induced arthritis in mice by diesel exhaust particles. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, (in press).
- 35) 宮崎竹二, 船坂邦弘, 藁科宗博, 瓦家敏男, 鶴保謙四郎, 黒田孝一, 田村憲治, 安藤 満 (1996): 沿道周辺住宅の室内空気汚染, 大阪市立環境科学研究所報告, 平成7年度, 第58集, pp.7-17.
- 36) 東京都環境科学研究所編: 自動車排ガスと大気汚染. 環境トピックシリーズ, No.8.
- 37) McClellan R.D. (1989): Health effects of exposure to diesel exhaust particles. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 27, 279-300.
- 38) 中央公害対策審議会環境保健部会, (1986): 「大気汚染と健康被害との関係の評価に関する専門委員会報告」 pp. 31-34.
- 39) 吉住邦雄, 渡辺竹春, 石井康一郎, 吉岡秀俊, 潮来野邦彦, 田村康夫, 菅 道彦, 吉野 昇 (1989): 東京都における浮遊粒子状物質へのリセプターモデルによる発生源寄与の評価, 東京都環境科学研究所年報, pp.3-10.
- 40) 東京都, (1996): 東京都浮遊粒子状物質削減計画, 一快適な大気環境をめざして~.
- 41) 吉田克己. (1993): 9. 公害とアレルギー, アレルギー・産業環境からのアプローチ (田中健一編), 金芳堂, pp.100-107.
- Imai, M., & Oshima, H. & Yoshida, K. (1967): On the allergic property of Yokkaichi asthma. *Mie Med. J.*, 16, 89-96.
- 42) 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, 250-257.
- 43) 河合健ら (1984): 気管支喘息と大気汚染の研究—いわゆる川崎喘息の臨床的特徴—, 日本胸部疾患学会誌, 22, 175-181.
- 44) 田中隆信ら (1984): 学童の呼吸器症状有病率と受動喫煙—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.
- 45) Wade, J.F., Newman, L.S. (1993): Diesel asthma, Reactive airways diseases following over exposure to locomotive exhaust. *J. Occup. Med.*, 35, 149-154.
- 46) 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.
- 47) Peterson, B., et al. (1996): Global increases in allergic respiratory diseases: the possible role of diesel exhaust particles. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 77, 263-268 (quiz 269-270).
- 48) Edwards, J., Walters, S., Griffiths, P.K. (1994): Hospital admissions for asthma in pre-school children: relationship to major roads in Birmingham, United Kingdom. *Arch. Environ. Health*, 49, 223-227.
- 49) Brunekreef, B., Janssen, N.A.H., de Hartog, J.,

- Harssema, H., Knape, M., van Vliet, P., (1997): Air pollution from truck traffic and lung function in children living near motorways. *Epidemiol.*, 8, 298-303.
- 50) Oosterlee, A., Drijver, M., Le Bret, E., Brunkreef, B. (1996): Chronic respiratory symptoms of children and adults living along streets with high traffic density. *Occup. Environ. Med.*, 53, 241-247.
- 51) Takeyoshi, M., Inoue, T. (1992): H-2 haplotype and sex-related differences in IgG responses to ovalbumin in mice. *Exp. Anim.*, 41., 315-319.
- 52) Kaneko, M., Swanson, M.C., Glicch, G.J., Kita, H. (1995): Allergen specific IgG1 and IgG3 through FcγRII induce eosinophil degranulation. *J. Clin. Invest.*, 95, 2813-2821.
- 53) Hirata, A., Motojima, S., Fukuda, T., Makino, S. (1996): Damage to respiratory epithelium by guinea-pig eosinophils stimulated with IgG-coated sepharose beads. *Clin. Exp. Allergy*, 26: 848-858.
- 54) 木村郁郎 (1995) : 臨床アレルギー研究の展開と細胞反応—成人喘息の再認識—. *アレルギー*, 44 : 1193-1199.
- 55) Ito, K., Kudo, K., Okudaira, H., et al. (1986): IgG1 antibodies to house dust mite (*Dermatophagoides farinae*) and late asthmatic response. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 81, 69-74.
- 56) Kita, H., Kato, M., Gleich, G.J., Abraham, R.T. (1994): Tyrosine phosphorylation and inositol phosphate production: are early events in human eosinophil activation stimulated by immobilized secretory IgA and IgG?. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 94, 1272-81.
- 57) Gouni, A.S., Lamkhioud, B., Ochiai, K., Tanaka, Y., Delaporte, E., Capron, A., Capron, M. (1994): High-affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defense against parasites. *Nature*, 367, 183-186.
- 58) 森 昌夫, 伊藤幸治 (1993) : サイトカイン—IL-3, 4, 5, 10, GM-CSF—. *アレルギー性炎症 (牧野莊平監修)*, メディカルレビュー社, 東京, pp.43-58.
- 59) Hamelman, E., Vella, A.T., Oshiba, A., Kappler, J.W., Marrack, P., Gelfand, E.W., (1997): Allergic airway sensitization induces T cell activation but not airway hyperresponsiveness in B cell-deficient mice. *Pro. Nat'l. Acad. Sci. USA.*, 94, 1350-1355.
- 60) Iijima, H., Ishii, M., Yamauchi, K., et al (1987): Bronchoalveolar lavage and histologic characterization of late asthmatic response in guinea pigs. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136: 922-929.
- 61) Anderson, P. (1981): Antigen-induced bronchial anaphylaxis in actively sensitized guinea pigs. The effect of booster injection and cyclophosphamide treatment. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 64, 249-258.
- 62) 大瀬寛高, 野村明広, 亀山昌明, 二宮浩樹, 早乙女幹朗, 遠藤健夫, 濱田雅史, 渡辺 東, 内田義之, 長谷川鎮雄 (1992) : エンドセリン-1の気道収縮作用に対するエンケファリナーゼ阻害剤の影響. *日胸疾会誌*, 30 (6) : 1063-1071.
- 63) 大瀬寛高, 野村明広, 遠藤健夫, 野口佳子, 早乙女幹朗, 二宮浩樹, 濱田雅史, 渡辺 東, 杜 盾, 橋本健一, 内田義之, 長谷川鎮雄 (1993) : アレルギー, 42(1) : 48-56
- 64) Uchida, Y., Jun, T., Ninomiya, H., Hasegawa, S., Nomura, A., Sakamoto, T., Sardesai, M.S., Hirata, F. (1996): Involvement of endothelins in immediate and late asthmatic responses of guinea pigs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 277: 1622-1629
- 65) Weibel, E.R. (1979): Stereological method. In, *Practical method for biological morphometry*. Academic Press, NY, pp.140-142
- 66) Aminoff, D. (1961): Methods for quantitative estimation of N-acetylneuraminic acid and their application to hydrolysates of sialomucoids. *Biochem. J.*, 81, 384-392.
- 67) Hammond, K.S., Papermaster, D.S. (1976): Fluorometric assay of sialic acid in the picomole range. A modification of the thiobarbituric acid assay. *Anal. Biochem.*, 74, 292-297.
- 68) Yager, D., Shore, S., Drazen, J.M. (1991): Airway luminal liquid. Sources and roles as an amplifier of bronchoconstriction. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 143, S52.
- 69) Takishima, T., Shimura, S. (1994): *Airway Secretion*, Marcel Dekker Inc., New York, pp.523.
- 70) Roger, D.F. (1994): Airway goblet cells: Responsive and adaptable front-line defenders. *Eur. Respir. J.*, 7, 1690-1706.
- 71) 小泉一弘 (1989) : アレルギー性鼻炎, スギ花粉症と自動車排出物, アレルギー性疾患はふえているか (宮本正明編). 国際医学出版, pp.30-33.
- 72) 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, 892-000.
- 73) Muranaka, M., Suzuki, S., Koizumi, K., et al.

- (1986): Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 77, 616-623.
- 74) Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., et al. (1987): Diesel exhaust particulates inoculated by the intranasal route have adjuvant activity for IgE production in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 79, 639-645.
- 75) Takafuji, S., Suzuki, S., Koizumi, K., et al. (1989): Enhancing effect of suspended particulate matter on IgE antibody production in mice. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 90.
- 76) Diaz-Sanchez, D., Dotson, A., Takenaka, H., et al. (1994): Diesel exhaust particles induce local IgE production in vivo and alter the pattern of IgE messenger RNA isoforms. *J. Clin. Invest.*, 94, 1417-1425.
- 77) Takenaka, H., Zhang, K., Diaz-Sanchez, D., et al. (1995): Enhanced human IgE production results from exposure to the aromatic hydrocarbons from diesel exhaust: direct effects on B-cell IgE production. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 95, 103-115.
- 78) Suzuki, T., Kanoh, T., Kanbayashi, M., et al. (1993): The adjuvant activity of pyrene in diesel exhaust on IgE antibody production in mice. *Jpn. J. Allergology*, 42, 963.
- 79) Diaz-Sanchez, D., Tsieng, A., Casillas, A., et al. (1996): Enhanced cytokine production in human beings alter in vivo challenge with diesel exhaust particles. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 98, 114-123.
- 80) 齊藤博子, 朝倉光司, 形浦昭克 (1994): ラット鼻アレルギーモデルに対する抗細胞接着分子抗体投与の試み. *アレルギー*, 43, 579-584.
- 81) Asakura, K., Saito, H., Watanabe, M., Ogasawara, H., Matsui, T., Kataura, A. (1998): Effect of anti-IL-5 monoclonal antibody on the murine model of nasal allergy. *Int'l. Arch. Allergy Immunol.*, 116, 49-52.
- 82) Di Lorenzo, G., Mansueto, P., Melluso, M., Candore, G., Colombo, A., Pellitteri, M.E., Drango, A., Potestio, M., Caruso, C. (1997): Allergic rhinitis to grass pollen: measurement of inflammatory mediators of mast cell and eosinophiles in native nasal fluid lavage and in serum out of and during pollen season. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 100, 832-837.
- 83) 今野昭義 (1996): DEP が鼻粘膜過敏症および上皮透過性に与える影響. 鼻過敏症 (日本耳鼻咽喉科学会宿題報告), 391-399.
- 84) Steerenberg, P.A., Zonnenberg, J.A., Dormans, J.A., Joon, P.N., Wouters, I.M., Van Bree, L., Scheepers, P.T., Van Loveren, H. (1998): Diesel exhaust particles induced release of interleukin 6 and 8 by (primed) human bronchial epithelial cells (BEAS 2B) in vitro. *Exp. Lung Res.*, 24, 85-100.
- 85) Kobayashi, T., Ito, T. (1995): Diesel exhaust particulates induce nasal mucosal hyperresponsiveness to inhaled histamine aerosol. *Fund. Appl. Toxicol.* 27, 195-202.
- 86) Ishinishi, N., Koizumi, A., McClellan, R.O., Stober, W. (1986): Carcinogenic and mutagenic effects of diesel engine exhaust. In, *Developments in toxicology and environmental science*, Vol. 13. Amsterdam; Elsevier Science.
- 87) Mauderly, J.L., Snipers, M.B., et al. (1994): Pulmonary toxicity of inhaled diesel exhaust and carbon black in chronically exposed rats. Part I. Neoplastic lung lesions. *Health Effects Inst. Res. Report*, No. 68.
- 88) Dungworth, D.L., Mohr, U., Heinrich, U., Ernst, H., Kittel, B. (1994): Pathologic effects of inhaled particle in rat lung: Associations between inflammatory and neoplastic processes. In, *Toxic and Carcinogenic Effects of Solid Particles in the Respiratory Tract*. (ed. Mohr, U., Dungworth, D.L., Mauderly, J.L., Oberdorster, G.). ILSI Press, Washington, D.C., pp. 75-98.
- 89) Gallagher, J., Heinrich, U., George, M., Hender, L., Phillips, D.H., Lewtas, J. (1994): Formation of DNA adducts in rat lung following chronic inhalation of diesel emissions, carbon black and titanium dioxide particles. *Carcinogenesis*, 15, 1291-1299.
- 90) 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.
- 91) 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.
- 92) Valberg, P.A., Watson, Y. (1996): Analysis of diesel-exhaust unit-risk estimates derived from animal bioassays. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.*

- 24, 30-44.
- 93) Rousseau, E.J., Davison, A.J., & Dunn, B. (1992): Protection by β -carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: Implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. *Free Radical Biol. Med.*, 13, 407-433.
- 94) The Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group (1994): The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *New Eng. J. Med.*, 330, 1029-1035.
- 95) Omenn, G.S., Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J.P., et al. (1996): Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *New Eng. J. Med.*, 334, 1150-1155.
- 96) Hennekens, C.H., Buring, J.E., Manson, J.E., et al. (1996): Lack of effect of long term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *New Eng. J. Med.*, 334, 1145-1149.
- 97) Clunies-Ross, C., Stanmore, B.R., Millar, G.J. (1996): Dioxins in diesel exhaust, *Nature*, 381, 379.
- 98) Oehme, M., Larssen, S., Brevik, E.M. (1991): Emissions factors of PCDD and PCDF for road vehicles obtained by tunnel experiment. *Chemosphere*, 23, 1699-1708.
- 99) Fredricson, B., Moller, L., Pousette, A., Westerholm, R. (1993): Human sperm motility is affected by plasticizers and diesel particle extracts. *Pharmacol. Toxicol.*, 72, 128-133.
- 100) Leijonhufvud, P.K.G., Pousette, A., Moller, L., Fredricson, B. (1994): Derivatives of 2-nitrofluorene causes changes of human sperm motility. *Pharmacol. Toxicol.*, 75, 310-314.
- 101) Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N., Skakkebaek, N. (1992): Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Br. Med. J.*, 305, 609-613.
- 102) Meek, M. (1998): Ah receptor and estrogen receptor-dependent modulation of gene expression by extracts of diesel exhaust particles. *Environ. Res.*, 79, 114-121.
- 103) 早川和一, 石井克明, 中浜慶子, 正宗行人, 木津良一. (1998): ディーゼル排ガス粉じん及び重油のエストロジェン様作用. 第1回日本内分泌かく乱物質学会講演要旨, pp. 81. (京都).
- 104) Gullet, B., Ryan, J.V. (1997): On road sampling of diesel engine emissions of polychlorinated dibenzo-p-dioxin and polychlorinated dibenzofuran. *Organohalogen Compounds*, 32, 451-455.
- 105) 環境庁 (1997):
- 106) Hiraoka, M. (1991): Abstract of the Kyoto conference on dioxin problem of MSW incineration. pp. 1-9.
- 107) Lim, H.B., Ichinose, T., Miyabara, Y., Takano, H., Kumagai, Y., Shimojyo, N., Devalia, J.L., & Sagai, M. (1998): Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice. *Free Radical Biol. Med.*, 25, 635-644.
- 108) 常盤 寛. (1992): 芳香族炭化水素ニトロ誘導体の変異原性, 発がん性とその危険度. *大気汚染学会誌*, 27, 73-84.
- 109) 藤井義明. (1998): ダイオキシンとAhレセプター, *ファルマシア*, 34, 431-435.
- 110) Hayakawa, K., Kitamura, R., Butoh, M., Imaizumi, N., Miyazaki, M. (1991): Determination of diamino- and aminopyrene by high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Anal. Sci.*, 7, 573-577.
- 111) Hayakawa, K., Butoh, M., Miyazaki, M. (1992): Determination of dinitro- and nitropyrene in emission particulates from diesel and gasoline engine vehicles by liquid chromatography with chemiluminescence detection after precolumn reduction. *Anal. Chim. Acta*, 266, 251-256.
- 112) 村橋 毅, 早川和一, 岩本郁子, 宮崎元一. (1994): 蛍光/化学発光検出高速液体クロマトグラフィーによる大気粉じん中の多環芳香族炭化水素及びそのニトロ誘導体の同時分析. *分析化学*, 43, 1017-1019.
- 113) Hayakawa, K., Butoh, M., Hirabayashi, Y., Miyazaki, M. (1994): Determination of 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene and 1-nitropyrene in vehicle exhaust particulates. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 40, 20-25.
- 114) Murahashi, T., Miyazaki, M., Kakizawa, R., Yamagishi, Y., Kitamura, M., Hayakawa, K. (1995): Diurnal concentrations of 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrenes, 1-nitropyrene and benzo [a] pyrene in air in downtown Kanazawa and the contribution of diesel-engined vehicles. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 41, 328-333.

- 115) Murahashi, T., Hayakawa, K. (1997): A sensitive method for the determination of 6-nitrochrysene, 2-nitrofluoranthene and 1-, 2- and 4-nitropyrenes in airborne particulates using high performance liquid chromatography with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta*, 343, 251-257.
- 116) Yoshino, S., Ohsawa, M. (1997): Effect of a monoclonal antibody against interleukin-4 on the induction of oral tolerance in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 336, 203-209.
- 117) Yoshino, S., Cleland, L.G. (1992): Depletion of α/β T cells by a monoclonal antibody against the α/β T cell receptor suppresses established adjuvant arthritis but not established collagen-induced arthritis in rats. *J. Exp. Med.*, 175, 907-915.
- 118) 宮崎竹二. (1995) : 住宅内窒素酸化物濃度, 生活衛生, 39, 11-18.
- 119) 宮崎竹二, 船坂邦弘, 黒田孝一. (1995) : 住宅における石油ファンヒーターによる NOx 汚染, 第36回大気環境学会年会講演要旨集, 387.
- 120) Diaz-Sanchez, D., Saxson, A. (1998): Effect of topical fluticasone propionate on the mucosal allergic response induced by ragweed allergen and diesel exhaust particle challenge. *Clin. Immunol.*, 90, 313-322.
- 121) Alpar, H.O., Almeida, A.J., Brown, M.R. (1994): Microsphere absorption by nasal mucosa of the rat. *J. Drug Target.*, 2, 147-9.
- 122) Heritage, P.L., Brook, M.A., Underdown, B.J., McDermott, M.R. (1998): Intranasal immunization with polymes-grafted mucroparticles activates the nasal-associated lymphoid tissue and draining lymph nodes. *Immunol.*, 93, 249-256.

[資 料]

I 研究の組織

[A 研究担当者]

地域環境研究グループ

大気影響評価研究チーム	嵯峨井勝	(平成5～9年度)
	市瀬孝道	(平成5～9年度)
	熊谷嘉人	(平成5～6年度)
	高野裕久	(平成7～9年度)
科学技術特別研究員	宮原裕一	(平成8～9年度)
	H.B.Lim.	(平成8年度)

環境健康部

上席研究官	小林隆弘	(平成5～9年度)
生体機能研究室	藤巻秀和	(平成5～9年度)
	古山昭子	(平成5～9年度)
環境疫学研究室	田村憲治	(平成5～7年度)
	本田 靖	(平成5～9年度)

[B 客員研究員]

内田 義之	(筑波大学・臨床医学系・呼吸器内科)	(平成5～9年年度)
森 洋樹	(北海道医療大学・薬学部)	(平成5,8,9年度)
鈴木 和夫	(千葉大学・薬学部)	(平成5年度)
富田多嘉子	(静岡県立大学大学院・生活健康科学研究科)	(平成6年度～9年度)
下條 信弘	(筑波大学・社会医学系, 大学院・環境科学研究科(併))	(平成6年度～8年度)
内海 英雄	(九州大学・薬学部)	(平成7年度～9年度)
熊谷 嘉人	(筑波大学・社会医学系, 大学院・環境科学研究科(併))	(平成7年度)
三澤 美和	(星薬科大学・薬理学)	(平成7年度)
南 勝	(北海道医療大学・薬学部)	(平成8年度)
林 英幸	(北海道医療大学・薬学部)	(平成8年度～9年度)
松尾 光芳	(甲南大学・理学部)	(平成8年度～9年度)
世良 暢之	(福岡県保健環境研究所・病理細菌課)	(平成9年度)
常盤 寛	(九州女子大学・家政学部)	(平成9年度)
早川 和一	(金沢大学・薬学部)	(平成9年度)
武田 健	(東京理科大学・薬学部)	(平成9年度)

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
A 原著論文					
[平成5年度]					
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 Radical Biol. Med.	14	37-47	1993
嵯峨井勝, 河越昭子, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒 (DEP) のマウスの気管内投与による喘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	220-230	1993
児玉昌彦, 井上富貴子, 金子元久, 斉藤裕樹, 森 洋樹, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼルエンジン排気黒鉛粒子より生成するフリーラジカルとその反応性	磁気共鳴と医学	4	46-49	1993
[平成6年度]					
H. Fujimaki, O. Nohara, T. Ichinose, N. Watanabe, S. Saito	IL-4 production in mediastinal lymph node cells in mice intratracheally instilled with diesel exhaust particulates and antigen.	Toxicology.	92	261-268	1994
M. Sakakibara, M. Minami, T. Endo, M. Hirafuji, S. Murakami, Y. Mori, M. Sagai	Biological effects on diesel exhaust particles (DEP) on isolated cardiac muscle of guinea pigs.	Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.,	86	99-110	1994
[平成7年度]					
H. Fujimaki, K. Saneyoshi, O. Nohara, F. Shiraishi, T. Imai	Intranasal instillation of diesel exhaust particulates and antigen in mice modulated cytokine productions in cervical lymph node cells.	Int. Arch. Allergy Immunol.,	108	268-273	1995
T. Kobayashi, T. Ito	Diesel exhaust particulates induce nasalmucosal hyperresponsiveness to inhaled histamine aerosol.	Fund. Appl. Toxicol.	27	195-202	1995

発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
Y. Kumagai, J. Taira, M. Sagai	Apparent inhibition of superoxide dismutase activity in vitro by diesel exhaust particles.	Free Radical. Biol. Med.	18	365-371	1995
M. Nagashima, H. Kasai, J. Yokota, Y. Nagamachi, T. Ichinose, M. Sagai	Formation of an oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in mouse lung DNA after intratracheal instillation of diesel exhaust particles and effect of high dietary fat and β -carotene on this process.	Carcinogenesis	16	1441-1445	1995
T. Ichinose, A. Furuyama, M. Sagai	Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). II. Acute toxicity of DEP introduced into lung by intratracheal instillation.	Toxicology	99	153-167	1995
M. Ikeda, M. Shitashige, H. Yamasaki, M. Sagai, T. Tomita	Oxidative modification of low density lipoprotein by diesel exhaust particles.	Biol. Pharm. Bull.	18	866-871	1995
M. Ikeda, M. Suzuki, K. Watarai, M. Sagai, T. Tomita	Impairment of endothelium dependent relaxation by diesel exhaust particles in rat thoracic aorta.	Jpn. J. Pharmacol.	68	183-189	1995
M. Hirafuji, M. Sakakibara, T. Endo, S. Murakami, Y. Mori, M. Sagai, M. Minami	Biological effects of diesel exhaust particles (DEP) on tissues and cells isolated from respiratory tracts of guinea pigs.	Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.	90	221-233	1995
[平成8年度] Y. Mori, S. Murakami, T. Sagae, H. Hayashi, M. Sakata, M. Sagai, Y. Kumagai	Inhibition of catalase activity in vitro by diesel exhaust particles.	J. Toxicol. Environ. Health	47	125-134	1996

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
K. Tamura, M. Ando, M. Sagai, Y. Matsumoto	Estimation of levels of personal exposure to suspended particulate matter and nitrogen dioxide in Tokyo.	Environ. Sci.	4	37-51	1996
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるマウスでの喘息様病態とEDRFとしてのNOの役割について	日本胸部疾患学会誌	34	213-218	1996
E. Muto, T. Hayashi, K. Yamada, T. Esaki, M. Sagai, A. Iguchi	Endothelial-constitutive nitric oxide synthase exists in airways and diesel exhaust particles inhibit the effect of nitric oxide.	Life Sciences	59	1563-1570	1996
M. Sagai, A. Furuyama, T. Ichinose	Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). III. Pathogenesis of asthma-like symptoms in mice and oxygen radicals.	Free Radical. Biol. Med.	21	199-209	1996
Y. Kumagai, T. Arimoto, M. Shinyashiki, N. Shimojyo, Y. Nakai, T. Yoshikawa, M. Sagai	Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particle components with NADPH-cytochrome P-450 reductase and involvement of the bioactivation in the DNA damage.	Free Radical Biol. Med.	22	479-487	1996
[平成9年度] T. Ichinose, Y. Yajima, M. Nagashima, S. Takenoshita, Y. Nagamachi, M. Sagai	Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in mouse lung by diesel exhaust particles.	Carcinogenesis	18	185-192	1997
T. Ichinose, T. Yamanushi, H. Seto, M. Sagai	Oxygen radicals in lung carcinogenesis accompanying phagocytosis of diesel exhaust particles.	Int'l. J. Oncol.	11	571-575	1997
T. Ichinose, H. Takano, Y. Miyabara, R. Yanagisawa, M. Sagai	Murine strain differences in allergic airway inflammation and immunoglobulin production by combination of antigen and diesel exhaust particles.	Toxicology	122	183-192	1997

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
H. Takano, T. Yoshikawa, Y. Miyabara, K. Imaoka, T. Ichinose, M. Sagai	Diesel exhaust particles enhance antigen-induced airway inflammation and local cytokine expression in mice.	Am. J. Respir. Crit. Care Med.,	156	36-42	1997
T. Kobayashi, T. Ikeue, T. Ito, M. Murakami, A. Kato, K. Majjima, T. Nakajima, T. Suzuki	Short term exposure to diesel exhaust induces nasal mucosal hyperresponsiveness to histamine in guinea pigs.	Fund. Appl. Toxicol.	38	166-172	1997
H. Fujimaki, K. Saneyoshi, F. Shiraishi, T. Imai, T. Endo	Inhalation of diesel exhaust enhances antigen-specific IgE antibody production in mice.	Toxicology	116	227-233	1997
[平成10年度] Y. Miyabara, R. Yanagisawa, N. Shimojyo, H. Takano, H.B. Lim, T. Ichinose M. Sagai	Murine strain differences in airway inflammation caused by diesel exhaust particles.	Europ. Respir. J.	11	291-298	1998
Y. Miyabara, H. Takano, T. Ichinose, H.B. Lim, M. Sagai	Diesel exhaust enhances allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in mice.	Am. J. Respir. Crit. Care Med.	157	1138-1144	1998
Y. Miyabara, T. Ichinose, H. Takano, M. Sagai	Diesel exhaust inhalation enhances airway hyperresponsiveness in mice.	Int. Arch. Allergy Immunol.	116	124-131	1998
Y. Miyabara, T. Ichinose, H. Takano, H.B. Lim, M. Sagai	Effects of diesel exhaust on allergic airway inflammation in mice.	J. Allergy Clin. Immunol.	102	805-812	1998

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
T. Ichinose, H. Takano, Y. Miyabara, M. Sagai	Long-term exposure to diesel exhaust enhances antigen-induced eosinophilic inflammation and epithelial damage in the murine airway.	Toxicol. Sci.	44	70-79	1998
H. Takano, T. Ichinose, Y. Miyabara, T. Shibuya, H.B. Lim, T. Yoshikawa, M. Sagai	Inhalation of diesel exhaust enhances allergen-induced eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness in mice.	Toxicol. Appl. Pharmacol.	150	328-337	1998
H. Takano, T. Ichinose, Y. Miyabara, T. Yoshikawa, M. Sagai	Diesel exhaust particles enhances airway responsiveness following allergen exposure in mice.	Immunopharmacol. Immunotoxicol.	20	329-336	1998
H. Takano, H.B. Lim, Y. Miyabara, T. Ichinose, T. Yoshikawa, M. Sagai	Oral administration of L-arginine potentiates allergen-induced airway inflammation expression of interleukin-5 in mice.	J. Pharmacol. Exp. Therap.	286	767-771	1998
S. Yoshino, M. Ohsawa, M. Sagai	Diesel exhaust particles block induction of oral tolerance in mice.	J. Pharmacol. Exp. Therap.	287	679-683	1998
H.B. Lim, T. Ichinose, Y. Miyabara, H. Takano, Y. Kumagai, N. Shimojyo J.L. Devalia, M. Sagai	Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice.	Free Radical Biol. Med.	25	635-644	1998
T. Kobayashi, T. Ikeue, A. Ikeda	Four week exposure to diesel exhaust induces nasal mucosal hyperresponsiveness to histamine in guinea pigs.	Toxicol. Sci.	45	106-112	1998
高野裕久, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気, ディーゼル排気微粒子と気管支喘息	日本胸部疾患学会誌	35	166-169	1998

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
石井幸雄, 橋本健一, 飯島弘晃, 内田義之, 長谷川鎮雄, 嵯峨井勝	ディーゼル排気のもるもつ喘息モデルに及ぼす影響について	日本胸部疾患学会雑誌	35	170-175	1998
H. Bayram, J.L. Devalia, R.J. Sapsford, T. Ohtoshi, Y. Miyabara, M. Sagai, R.J. Davies	The effect of diesel exhaust particles on cell function and release of inflammatory mediators from human bronchial epithelial cells in vitro.	Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.	18	441-448	1998
H. Bayram, J.L. Devalia, O.A. Khoir, M.M. Abdelaziz, R.J. Sapsford, M. Sagai R.J. Davies	Comparison of ciliary activity and inflammatory mediator release from bronchial epithelial cells of nonatopic nonasthmatic subjects and atopic asthmatic patients and the effect of diesel exhaust particles in vitro.	J. Allergy Clin. Immunol.	102	771-782	1998
M. Ikeda, K. Watarai, M. Suzuki, T. Ito, H. Yamasaki, M. Sagai, T. Tomita	Mechanism of pathophysiological effects of diesel exhaust particles on endothelial cells.	Environ. Toxicol. Pharmacol.	6	117-123	1998
Y. Miyabara, S. Hashimoto, M. Sagai, M. Morita	PCDDS and PCDFs in vehicle exhaust particles in Japan.	Chemosphere	39	143-150	1999
S. Yoshida, M. Sagai, S. Oshio, T. Umeda, M. Suganuma, T. Ihara, I. Sugawara, K. Takeda	Exposure to diesel exhaust affects the male reproductive system of mice	Int. J. Andrology		in press	1999
S. Yoshino, M. Sagai	Induction of systemic Th1 and Th2 immune responses by oral administration of soluble antigen and diesel exhaust particles.	Cellular Immunol.	192	72-78	1999

発表者	題目	掲載誌	巻(号)	ページ	刊年
S. Yoshino, M. Sagai	Enhancement of collagen induced arthritis in mice by diesel exhaust particles.	J. Pharmacol. Exp. Therap.	290	524-529	1999
B 総説 [平成5年度] 嵯峨井勝	大気環境とフリーラジカル	「活性酸素・フリーラジカル」	19	423-430	1993
藤巻秀和, 白石不二雄, 野原 修	ディーゼル排気ガス粒子と花粉症	資源環境対策	29	1158-1162	1993
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺障害の病理・生化学的研究	資源環境対策	29	1139-1144	1993
嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による喘息様病態の発症について	Academia	165	26-32	1993
[平成6年度] 嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル自動車排気ガスによる気管支喘息ならびに肺がんの発症と活性酸素の役割	衛生化学	40	399-413	1994
[平成7年度] 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による喘息様病態の発症に関する実験的研究 (大気汚染学会学術賞受賞講演論文)	大気汚染学会誌	30	81-93	1995
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺がん発生と活性酸素の役割	日本環境変異原学会誌	16	275-285	1995
藤巻秀和	ディーゼル排気粒子とIL-4産生	喘息	169	68-76	1995
小林隆弘	スギ花粉症とディーゼル排気	Academia	169	68-76	1995
[平成8年度] 嵯峨井勝, 高野裕久, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による呼吸器疾患 ~気管支喘息アレルギー性鼻炎と肺がんについて~	呼吸	15-5	474-481	1996
小林隆弘	スギ花粉症と大気汚染	アレルギー科	1	238-246	1996
藤巻秀和	ディーゼル	アレルギー科	2	576-580	1996

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
[平成9年度] 高野裕久, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気による呼吸器障害の 分子機構	分子呼吸器病		71-73	1997
宮原裕一, 嵯峨井勝	空中浮遊微粒子の気道刺激性	アレルギー科	4	164-171	1997
嵯峨井勝	呼吸器疾患とフリーラジカル	フリーラジカルの臨床	12	34-39	1997
C その他 [平成5年度] M. Sagai, H. Saito, T. Ichinose, M. Kodama Y. Mori	Oxygen radicals produced from diesel exhaust particles and their pathology	Active oxygens, Lipid Peroxides, and An- tioxidants (ed. by K. Yagi) (Japan Scien- tific Societies Press, CRC Press)		161-171	1993
嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子と気道傷害～ 大気汚染と気管支喘息との因果関係 の考察のために～	保険医の臨床 (臨時増刊 号, 1993年4月1日発行)		1-15	1993
[平成6年度] 市瀬孝道, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によ る喘息様病態の発症について, フ リーラジカルの臨床 (近藤元治監修, 大柳善彦, 吉川敏一編集)	日本医学館	8	61-67	1994
嵯峨井勝	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	国立環境研究所特別研究 報告書	SR-14		1994
M. Sagai, A. Furuyama, T. Ichinose	Diesel exhaust particles (DEP) can cause asthmatic symptoms	Frontiers of Reactive Oxygen Species in Biology and Medicine. (ed. K. Asada), Ex- cerpta Medica		549-552	1994
T. Ichinose, Y. Kumagai, A. Furuyama, M. Sagai	Diesel exhaust particles induced pulmonary injury. I. Histo- pathological changes and protec- tion by polyethylene glycol con- jugated superoxide dismutase	Frontiers of Reactive Oxygen Species in Biology and Medicine. (ed. K. Asada), Ex- cerpta Medica		557-558	1994

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
Y. Kumagai, M. Shinyashiki, T. Ichinose, G.F. Sun, N. Shimojo, M. Sagai	Diesel exhaust particles (DEP)- induced pulmonary injury. II. In- hibition of mouse lung superoxide dismutases by intra tracheal administration of DEP.	Frontiers of Reactive Oxygen Species in Biology and Medicine. (ed. K. Asada), Ex- cerpta Medica		559-560	1994
M. Shinyashiki, Y. Kumagai, G.F. Sun, N. Shimojo, M. Sagai	A rapid simple method for purification of Cu, Zn-superoxide dismutase from bovine erythro- cytes.	Frontiers of Riactive Oxygen Species in Biolgy and Medicine. (ed. K. Asada), Ex- cerpta Medica		125-125	1994
H. Kasai, M. Nagashima, R. Shinoda, T. Ichinose, M. Sagai, Y.S. Lee, M.H. Chung, T. Besho, S. Nishimura	Formation of 8-hydroxyguanine in DNA by oxygen radicals and its repair.	Frontear of Reactive Oxygen Species in Biology and Medicine. (ed. K. Asada), Ex- cerpta Medica		545-547	1994
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による 肺癌の発生に及ぼす高脂肪食とβ- カロチンの影響	フリーラジカルの臨床	9	85-87	1995
[平成9年度] T. Ichinose, M. Sagai	Effects of high dietary fat and β- carotene on lung crcinogenesis in- duced by diesel exhaust particles.	Food Factor for Can- cer Prevention. (eds. by H. Ohigashi, T. Osawa, J. Terao, T. Yoshikawa), Springer- Verlag		519-522	1997
M. Sagai, H.B. Lim, M. Kohno, Y. Nakai, T. Arimoto, T. Yoshikawa, T. Ichinose	Involvement of superoxide and nitric oxide on asthma-like fea- tures induced by diesel exhaust particles in mice.	Pathophysiology of Lipid Peroxides and Related Free Radicals (ed. by K. Yagi), Japan Scientific Soc. Press. Karger.		43-55	1997
嵯峨井勝	呼吸器疾患とフリーラジカル～気管 支喘息様病態と活性酸素～	フリーラジカルの臨床 (近藤元治監修, 大柳義 彦, 吉川敏一編集) 日本 医学館	12	34-39	1998

2 口頭発表

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
[平成4年度] 斉藤裕樹, 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	博 多	1992.3
M. Sagai	Environmental stress and oxygen radicals: Cancer, immunosuppression, allergic reaction and nutrition	Int. IUBMB Conf. Biochem. Dis.	Nagoya	1992.6
M. Sagai, T. Ichinose	Enhancing effect of high fat diet on diesel exhaust particles (DEP) - induced lung tumorigenesis in mice	6th Int. Soc. Free Radical Res.	Torino	1992.6
M. Sagai, T. Ichinose	Experimental study on promotion effects of combination exposure of NO ₂ , O ₃ and H ₂ SO ₄ on lung tumor formation in rats	Int. Symp. Cancer: Sapporo Cancer Seminar.	Sapporo	1992.7
嵯峨井勝, 斉藤裕樹, 市瀬孝道, 児玉昌彦, 森 洋樹	ディーゼル排気黒煙粒子 (DEP) の活性酸素産生と喘息様病態の発現について	第18回環境トキシコロジーシンポジウム	東 京	1992.10
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およぼす影響	第42回日本アレルギー学会	仙 台	1992.10
田村憲治, 安藤 満	大都市沿道住民のSPM 長期的暴露評価	第51回日本公衆衛生学会	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剰分泌	第16回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会	名古屋	1992.11
池田雅彦, 鈴木基久, 下重美紀, 富田多嘉子, 江崎雅則, 嵯峨井勝	ディーゼル排気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1992年会	東 京	1992.12
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気粒子 (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傷害	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
市瀬孝道, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝, 斉藤裕樹, 森 洋樹, 児玉昌彦	ディーゼル排気粒子 (DEP) による動物の生体影響: 生化学的, 病理学的影響を中心に	第33回大気汚染学会	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

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年 月
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個人暴露濃度の推定	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
宮崎竹二, 山岡茂夫, 薬科宗博, 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
田村憲治, 松本 理, 安藤 満, 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 ₂ 濃度(4)一冬期における長期変動調査一	第33回大気汚染学会	大 阪	1992.12
[平成5年度] 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 Conference of Lung Injury & Repair: 特別講演	東 京	1993.2
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 Conf. Free Radicals	京 都	1993.2
三澤美和, 高野佐知子, 嵯峨井勝	気道の薬理学的研究(第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微粒子の影響	日本薬学会第113年会	大 阪	1993.3
林 英幸, 柳本抄美華, 森 洋樹, 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	日本薬学会第113年会	大 阪	1993.3
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気黒煙粒子(DEP)の気管支内粘液質産生と炎症発症に及ぼす影響	日本薬学会第113年会	大 阪	1993.3
伊藤 剛, 小林隆弘	ディーゼル排出粒子の血管透過性におよぼす影響	第66回日本薬理学会年会	横 浜	1993.3
藤巻秀和, 白石不二雄, 嵯峨井勝	ディーゼル排気粒子による免疫応答の亢進	日本衛生学会第63回大会	東 京	1993.4
小林隆弘	大気汚染物質による気道反応性の亢進	第43回日本アレルギー学会	横 浜	1993.10
藤巻秀和	大気汚染物質によるIgE抗体産生亢進の機序	第43回日本アレルギー学会	横 浜	1993.10

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年 月
藤巻秀和, 小林隆弘, 今井 透, 野原 修, 渡辺直熙, 齊藤三郎	ディーゼル排気粒子と抗原の気管内投与 による IL-4産生の亢進	第43回日本アレルギー 学会	横 浜	1993.10
M. Sagai	Diesel exhaust particles (DEP) can cause asthmatic symptoms.	6th International Conference on Super- oxide and Superoxide Dismutase	Kyoto	1993.10
井上富貴子, 金子元久, 児玉昌彦, 嵯峨井勝	ディーゼル黒煙粒子 (DEP) の細胞毒性 における活性酸素の寄与	第52回日本癌学会総会	仙 台	1993.10
小林隆弘	花粉症と粒子状物質	日本花粉学会第34回大 会	山 形	1993.10
H. Fujimaki, T. Ichinose, O. Nohara, T. Imai, N. Watanabe, S. Saito	IL-4 production in mice intra- tracheally instilled with diesel ex- haust particulates	Comb. Meeting 8th Int. lymphokine Workshop & The 4th Int. Workshop Cytokines	Osaka	1993.10
市瀬孝道, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による気 管支喘息発症における活性酸素の役割	筑波ケミカルサイエン ス クラ ブ ・ ワ ー ク シ ョ ッ プ	つくば	1993.11
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影 響: 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	千 葉	1993.12
市瀬孝道, 古山昭子, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影 響: 4 報. 毛細血管内皮細胞傷害と SOD による抑制	第34回大気汚染学会	千 葉	1993.12
嵯峨井勝, 古山昭子, 熊谷嘉人, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影 響. 5 報. 喘息様病態の発現-粘液質の 過分泌と好酸球の浸潤-	第34回大気汚染学会	千 葉	1993.12
田村憲治, 安藤 満, 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 ₂ 濃度(5) -季節変動と個人暴露評価-	第34回大気汚染学会	千 葉	1993.12
藤巻秀和, 嵯峨井勝, 白石不二雄, 野原 修, 市瀬孝道	ディーゼル排気粒子のリンフォカイン産 生に及ぼす影響	第34回大気汚染学会	千 葉	1993.12
下重美紀, 池田雅彦, 鈴木基久, 渡曾 健, 富田多嘉子, 嵯峨井勝	ディーゼル排ガス微粒子による低密度リ ポ蛋白の変性	環境科学会1993年会	つくば	1993.12

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
稲垣成憲, 池田雅彦, 木戸英樹, 富田多嘉子, 嵯峨井勝	ディーゼル排ガス微粒子によるラット肺 胞マクロファージの活性化	環境科学会1993年会	つくば	1993.12
鈴木基久, 池田雅彦, 渡曾 健, 富田多嘉子, 嵯峨井勝	ディーゼル排ガス微粒子によるラット大 動脈内皮依存性弛緩反応の減弱	環境科学会1993年会	つくば	1993.12
[平成6年度] 大利隆行, 滝澤 始, 石井 彰, 酒巻千波, 平井浩一, 森田 寛, 伊藤幸治, 嵯峨井勝, 鈴木修二, 大田 健, 真野健次	大気汚染物質のヒト気道上皮細胞に及ぼ す影響 (SPM, DEP, NO ₂ など)	第6回日本アレルギー 学会春季臨床大会	熊 本	1994.2
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺 癌の発生に及ぼす高脂肪食とβ-カロチ ンの影響	第10回臨床フリーラジ カル会議	京 都	1994.2
渡曾 健, 池田雅彦, 鈴木基久, 下重美紀, 富田多嘉子, 嵯峨井勝	血管内皮細胞の内皮由来弛緩因子 (EDRF) 産生に対するディーゼル排気 微粒子の影響	日本薬学会第114年会	東 京	1994.3
柳本抄美華, 寒河江利之, 林 英幸, 阪田正勝, 森 洋樹, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝	ディーゼル排気黒煙粒子 (DEP) 中のカ タラーゼ阻害物質	日本薬学会第114年会	東 京	1994.3
伊藤 剛, 池田 顕, 村上正孝, 小林隆弘	ディーゼル排出粒子が鼻炎におよぼす影 響	第67回日本薬理学会年 会	京 都	1994.3
嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による呼 吸器疾患 - 肺癌, 気管支喘息, 活性酸 素 -	日本環境変異原学会, 日本放射線影響学会合 同シンポジウム「活性 酸素の生物作用」	北九州	1994.5
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺 がん発生と活性酸素の役割~高脂肪食と β-カロチンの影響	第20回環境トキシコロ ジーシンポジウム	東 京	1994.9
藤巻秀和	大気汚染物質と免疫機能	第1回免疫毒性研究会	東 京	1994.10
嵯峨井勝, 熊谷嘉人, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の肺毒性 のメカニズム	日本過酸化脂質, フ リーラジカル学会第18 回大会	高 槻	1994.10

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年 月
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) 及び 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) によるマウスの肺癌発生に及ぼす高脂肪食とβ-カロチンの影響	第53回日本癌学会	名古屋	1994.10
市瀬孝道, 熊谷嘉人, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響: 7報 肺胞洗浄液中の炎症細胞の変化と病理組織学的変化	第35回大気汚染学会	盛岡	1994.10
嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による喘息様病態発症に関する実験的研究	第35回大気汚染学会総会 (受賞記念講演)	盛岡	1994.11
嵯峨井勝	血管内皮由来弛緩因子 (NO) と呼吸器系	第35回大気汚染学会・生体影響分科会 シンポジウム	盛岡	1994.11
嵯峨井勝, 熊谷嘉人, 市瀬孝道, 石井 彰, 宮坂 崇, 大田 健	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生態影響: 8報 DEPによる粘液過分泌, 好酸球浸潤を伴う炎症及び気道過敏性の発現と PEG-SOD による抑制	第35回大気汚染学会	盛岡	1994.11
田村憲治, 安藤 満, 宮崎竹二	大阪における沿道住民のSPM個人暴露調査	第35回大気汚染学会	盛岡	1994.11
藤巻秀和, 実吉健策, 白石不二雄	ディーゼル排気粒子投与マウスの局所リンパ節でのサイトカイン産生	第35回大気汚染学会	盛岡	1994.11
古山昭子, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	粒子状物質の細胞接着分子発現に及ぼす影響	第35回大気汚染学会	盛岡	1994.11
[平成7年度] 小林隆弘, 伊藤 剛	ディーゼル微粒子は吸入ヒスタミン-エアロゾルに対する鼻粘膜の過敏性を誘発する	交通安全と健康に関する第2回日中シンポジウム	東京	1995.4
嵯峨井勝, 熊谷嘉人, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるマウスにおける喘息様病態と NOS の役割について	第35回日本胸部疾患学会総会シンポジウム「NOと呼吸器疾患」	名古屋	1995.5
嵯峨井勝, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺がん発生と高脂肪食およびβ-カロチンの影響	油化学会・酸化部会シンポジウム	東京	1995.9
市瀬孝道, 古山昭子, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるマウス喘息様病態の発現 1. DEP 単独気管内投与の影響について	第45回日本アレルギー学会	浦安	1995.10

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
高野裕久, 三浦恵子, 柳沢利枝, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるマウス喘息様病態の発現 2.OA と DEP の併用効果について	第45回日本アレルギー学会	浦 安	1995.10
藤巻秀和, 小林隆弘, 嵯峨井勝, 実吉健策, 今井 透	ディーゼル排気ガス暴露と抗原点鼻投与によるマウス IgE 抗体産生の増強	第45回日本アレルギー学会	浦 安	1995.10
小林隆弘	大気汚染とアレルギー性疾患	平成7年度神奈川県産学公交流研究発表会	海老名	1995.10
小林隆弘, 池上崇久	ディーゼル排気短時間暴露が鼻粘膜の反応性におよぼす影響	第45回日本アレルギー学会総会	東 京	1995.10
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP), 洗浄 DEP, 活性炭および二酸化チタンの気管内投与によるマウス肺発癌の比較	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
三浦恵子, 高野裕久, 今岡浩一, 下条信弘, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響 9報. 卵白アルブミンとの併用投与による肺の生化学的および免疫学的変化について	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
嵯峨井勝, 三浦恵子, 今岡浩一, 下条信弘, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響 10報. 卵白アルブミンとの併用投与による喘息様病態の発現と IgG1 の役割について	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
柳沢利枝, 千葉義彦, 下條信弘, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響 11報. DEP およびディーゼル排気 (DE) による気道過敏性	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
田村憲治, 安藤 満, 宮崎竹二, 船坂邦弘, 黒田孝一	大阪市内における沿道住民の SPM 個人暴露調査(2)	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
船坂邦弘, 宮崎竹二, 藁科宗博, 黒田孝一, 田村憲治	道路沿道住宅におよぼすディーゼル粉塵の寄与	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
藤巻秀和	大気汚染物質と免疫応答	第36回大気環境学会年会	東 京	1995.11
有本豊子, 吉川敏一, 河野雅弘, 中井由美, 嵯峨井勝	NADPH-cytochrome P450-還元酵素 (fp2) によるディーゼル排気微粒子 (DEP) からの活性酸素産生	第19回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会	東 京	1995.11

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
市瀬孝道, 長島 誠, 葛西 宏, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺がんの発生に及ぼすヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) の役割	第19回日本過酸化脂質・フリーラジカル学会	東京	1995.11
藤巻秀和	大気汚染とアレルギー反応	第13回免疫薬物療法研究会	大阪	1995.12
M. Sagai, T. Ichinose	Effects of high dietary fat and β -carotene on lung carcinogenesis induced by diesel exhaust particles (DEP).	International Conference on Food Factors; Chemistry and Cancer Prevention.	Hamamatsu	1995.12
市瀬孝道, 高野裕久, 嵯峨井勝, 三浦恵子	ディーゼル排気微粒子 (DEP) と卵白アルブミンによる喘息様病態の発現. 第I報: IgG1抗体の役割とサイトカインの関与について	日本薬学会第116年会	金沢	1996.3
[平成8年度] 金光兵衛, 森 洋樹, 嵯峨井勝, 長澤滋治	ディーゼル排気粒子状物質 (DEP) による補体系の活性化	日本薬学会第116年会	金沢	1996.3
林 英幸, 金光兵衛, 森 洋樹, 坂田正勝, 嵯峨井勝	ディーゼル排気粒子 (DEP) の活性酸素産生物質の分離, 同定	日本薬学会第116年会	金沢	1996.3
嵯峨井勝	IgG1 によるアレルギー性喘息様病態の発現とその新しいメカニズムについて —ディーゼル排気微粒子 (DEP) とアレルギーの共存効果—	日本薬学会第116回年会 公衆衛生協議会・特別講演	金沢	1996.3
高野裕久, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) と卵白アルブミン (OVA) 併用投与による喘息モデル 1. IgG1 抗体上昇と炎症細胞浸潤について	第36回日本胸部疾患学会総会	宇都宮	1996.4
市瀬孝道, 高野裕久, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) と卵白アルブミン (OVA) 併用投与による喘息モデル 2. 粘液産生と気道過敏性, BALF 所見の変化について	第36回日本胸部疾患学会総会	宇都宮	1996.4
武藤恵美子, 林登志雄, 嵯峨井勝, 井口昭久,	ディーゼル排出微粒子 (DEP) の家兎摘出大動脈, 肺動脈及び気管支の内因性一酸化窒素の作用に対する検討	第36回日本胸部疾患学会総会	宇都宮	1996.4
嵯峨井勝	気道炎症とフリーラジカル	第17回日本炎症学会総会ワークショップ「フリーラジカルの基礎と臨床」	東京	1996.7

発表者	題目	学会等名称	開催都市名	年月
K. Tamura, M. Ando, T. Miyazaki, K. Funasaka, K. Kuroda	Indoor concentrations and personal exposure to particulate matter at roadside houses	7th. Int. Conf. Indoor Air Qual. & Clim.	Nagoya	1996. 7
市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) の生体影響: 肺腫瘍発生に対する高脂肪食と β -カロチンの影響	第37回大気環境学会	堺	1996. 9
高野裕久, 市瀬孝道, 宮原裕一, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子の生体影響: 第13報. 抗原併用時の局所サイトカイン発現について	第37回大気環境学会	堺	1996. 9
小林隆弘, 池上崇久, 伊藤 剛, 村上正孝, 嵯峨井勝, 昼間 清, 寺田修久, 今井昭義	ディーゼル排気暴露が鼻粘膜の反応性におよぼす影響	第37回大気環境学会	堺	1996. 9
細川友和, 杉本裕光, 三澤美和, 小林隆弘	眼薬理に関する研究 (第23報): ディーゼル排気 (DE) 暴露の結膜血管透過性に及ぼす影響	第16回日本眼薬理学会	東京	1996. 9
市瀬孝道, 宮原裕一, 高野裕久, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるマウスの喘息モデル. 5. OVA と DEP 併用投与による気道炎症等のマウス系統差について	アレルギー学会	宇都宮	1996. 9
H. Sugimoto, T. Hosokawa, M. Misawa, T. Kobayashi	Involvement of tachykinin in enhanced conjunctival vascular permeability induced by diesel exhaust particles (DEP) in guinea pigs	XII Int. Cong. Eye Res.	Yokohama	1996. 9
高野裕久, 市瀬孝道, 宮原裕一, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) によるマウスの喘息モデル	第46回日本アレルギー学会	宇都宮	1996.10
前迫賢一, 寺田修久, 昼間 清, 浜野ナナ子, 法貴 元, 今野昭義, 小林隆弘, 山下哲次, 野崎順子, 福田節也, ほか	Diesel exhaust particulate (DEP) が鼻粘膜上皮細胞におけるサイトカイン産生とヒスタミン受容体 mRNA 発現に与える影響	第46回日本アレルギー学会	宇都宮	1996.10
小林隆弘, 昼間 清, 寺田修久, 今野昭義	ディーゼル排気暴露が鼻粘膜の反応性におよぼす影響	第46回日本アレルギー学会	宇都宮	1996.10

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年 月
M. Sagai, T. Ichinose, M. Kohno, Y. Nakai, T. Arimoto, T. Yoshikawa	Production of oxygen radicals from diesel exhaust particles (DEP) in the presence of NADPH cytochrome P-450 reductase	VIII Bienn. Meet. Int. Soc. Free Radical Res.	Barcelona	1996.10
J.-Y. Han, K. Takeshita, M. Sagai, H. Utsmi	In vivo measurement of radical reaction induced by diesel exhaust particles in lung	VIII Bienn. Meet. Int. Soc. Free Radical Res.	Barcelona	1996.10
山主智子, 五十嵐脩, 瀬戸 博, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺がん発生に対する高脂肪及びカロチノイド類の効果, -8-OHdG 生成との相関	日本過酸化脂質フリーラジカル学会第20回大会	犬 山	1996.11
M. Sagai	Involvement of superoxide and nitric oxide in asthma-like-features induced by diesel exhaust particles.	International Symposium on Pathophysiology of Lipid Peroxides and Related Free Radicals.	Gifu	1996.11
[平成9年度] 嵯峨井勝	呼吸器疾患とフリーラジカル	第13回「臨床フリーラジカル会議」, 教育講演	白 浜	1997. 2
小林隆弘, 嵯峨井勝	ディーゼル排気暴露は繰り返し抗原点鼻投与によるモルモットのアレルギー様病態を悪化させる	第38回大気環境学会	つくば	1997
林 英幸, 生形和幸, 森 洋樹, 嵯峨井勝	ディーゼル排出微粒子 (DEP) の生体影響: 15報. DEP 中の活性酸素産生物質の検索, その2.	第38回大気環境学会	つくば	1997
嵯峨井勝, H.B. Lim, 宮原裕一, 高野裕久, 市瀬孝道	ディーゼル排気微粒子 (DEP) の生体影響: 16報.	第38回大気環境学会	つくば	1997
宮原裕一, 高野裕久, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) の生体影響: 4報. DE とアレルギーを吸入したマウスの気道炎症, 粘液産生の増強現象について	第38回大気環境学会	つくば	1997
市瀬孝道, 高野裕久, 宮原裕一, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) の生体影響: 5報. DE と抗原長期暴露による気道の病理組織学的変化	第38回大気環境学会	つくば	1997
高野裕久, 市瀬孝道, 宮原裕一, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) の生体影響 6報. DE と抗原作用暴露による局所サイトカインの変動	第38回大気環境学会	つくば	1997

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年 月
M. Sagai	Oxygen radicals and lung cancer.	In Symposium on "Toxic and Carcinogenic Effects of Inhaled Particles in the Respiratory System".	Tsukuba	1997.10
嵯峨井勝	大気汚染の健康影響, 一気管支喘息, アレルギー性鼻炎および肺がん	第56回日本公衆衛生学会総会・教育講演	横 浜	1997.10
宮原裕一, 高野裕久, HB Lim., 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) によるマウスの喘息モデル. 1. DE 暴露による病態発現とサイトカイン産生	第47回日本アレルギー学会総会	東 京	1997.10
市瀬孝道, 宮原裕一, 高野裕久, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) によるマウスの喘息モデル 2. DE 暴露とOVA による気道障害と抗体産生の経時変化	第47回日本アレルギー学会総会	東 京	1997.10
高野裕久, 市瀬孝道, 宮原裕一, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) によるマウスの喘息モデル 3. 長期暴露のアレルギー性気道炎症に及ぼす影響	第47回日本アレルギー学会総会	東 京	1997.10
橋本健一, 石井幸雄, 飯島弘晃, 栗島浩一, 内田義之, 長谷川鎮雄, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気 (DE) がモルモット喘息モデルの気道分泌に及ぼす影響について	第47回日本アレルギー学会総会	東 京	1997.10
小林隆弘	抗原の繰り返し点鼻投与によるモルモットの鼻アレルギー様症状はディーゼル排気暴露により増悪される	第47回日本アレルギー学会総会	東 京	1997.10
吉田成一, 武田 健, 押尾 茂, 梅田 隆, 嵯峨井勝, 菅原 勇	ディーゼル排気ガス暴露によるマウス雄性生殖機能への影響	第23回環境トキシコロジーシンポジウム・第1回衛生薬学フォーラム合同大会	東 京	1997.10
宮原裕一, 高野裕久, 市瀬孝道, 嵯峨井勝, 渋谷孝博, 武田 健	喘息モデルマウスへのディーゼル排気暴露の影響	第23回環境トキシコロジーシンポジウム・第1回衛生薬学フォーラム合同大会	東 京	1997.10
林 英幸, 新井田誠, 生形和幸, 金光兵衛, 阪田正勝, 森 洋樹, 嵯峨井勝	NADPH-ヒト Cytochrome P-450還元酵素によるディーゼル排気微粒子中の活性酸素産生物質の検索	日本薬学会第118年会	京 都	1998. 3

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年 月
吉田成一, 武田 健, 押尾 茂, 梅田 隆, 嵯峨井勝, 山田博之, 菅原 勇	ディーゼル排気ガス暴露の精子形成への影響	日本薬学会第118年会	京 都	1998.3
嵯峨井勝, 宮原裕一, 市瀬孝道, 林 英幸, 森 洋樹	ディーゼル排気微粒子 (DEP) による肺がん発生と活性酸素の役割について	日本薬学会第118年会	京 都	1998.3
宮原裕一, 市瀬孝道, 高野裕久, 嵯峨井勝	ディーゼル排気暴露によるマウスのアレルギー性気道炎症の亢進	日本薬学会第118年会	京 都	1998.3
韓 眞伊, 竹下啓蔵, 内海英雄, 市瀬孝道, 嵯峨井勝	ディーゼル排気微粒子による肺障害におけるニトロキシラジカルの抗酸化作用	日本薬学会第118年会	京 都	1998.3

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

SR-27-'99

平成11年3月31日発行

編集 国立環境研究所 編集委員会

発行 環境庁 国立環境研究所

〒305-0053 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-50-2343 (ダイヤルイン)

印刷 株式会社 イセブ

〒305-0005 茨城県つくば市天久保2丁目11-20

Published by the National Institute for Environmental Studies

16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-0053 Japan

March 1999

本報告書は再生紙を使用しています。