

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

PM2.5 の成分組成、酸化能、呼吸器疾患ハザードと

そのモデル予測に関する研究

(5-1605)

平成 28 年度～平成 30 年度

Studies on PM2.5 composition, oxidative potential, health hazard and their model prediction

気象庁気象研究所 梶野 瑞王

2019 年 5 月

目 次

I. 成果の概要	・ ・ ・ ・ ・ 1
1. はじめに (研究背景等)	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた主な成果	
6. 研究成果の主な発表状況	
7. 研究者略歴	
II. 成果の詳細	
II-1 原因物質と粒子酸化能のモデル予測に関する研究 (気象庁気象研究所)	・ ・ ・ ・ ・ 21
要旨	
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-2 粒子酸化能の自動観測と原因物質の特定に関する研究 (国立研究開発法人 産業技術総合研究所)	・ ・ ・ ・ ・ 46
要旨	
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-3 呼吸器炎症に関連する粒子酸化能評価に関する研究 (国立研究開発法人 国立環境研究所)	・ ・ ・ ・ ・ 62
要旨	
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-4 原因物質と酸化能の発生源同定に関する研究 (一般財団法人 日本自動車研究所)	・ ・ ・ ・ ・ 82
要旨	
1. はじめに	
2. 研究目的	
3. 研究方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	

- 6. 国際共同研究等の状況
- 7. 研究成果の発表状況
- 8. 引用文献

III. 英文 Abstract

..... 100

I. 成果の概要

補助事業名 環境研究総合推進費補助金（平成 28 年度～平成 30 年度）

所管 環境省 及び 独立行政法人 環境再生保全機構

研究課題名 PM2.5 の成分組成、酸化能、呼吸器疾患ハザードとそのモデル予測に関する研究

課題番号 5-1605

研究代表者名 梶野瑞王（気象庁気象研究所）

国庫補助金実績額 119,168 千 円（うち平成 28 年度：40,396 千円、平成 29 年度：40,396 千円、平成 30 年度：38,376 千円）

研究期間 平成 28 年 6 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

本研究のキーワード 酸化ストレス原因物質、モデル開発、装置開発、毒性評価、発生源評価、領域評価
疫学との連携

研究分担者 五十嵐康人（気象庁気象研究所）※
※平成 30 年 3 月 31 日まで。現在、京都大学複合原子力科学研究所
財前祐二（気象庁気象研究所）
足立光司（気象庁気象研究所）
大畑昌輝（国立研究開発法人 産業技術総合研究所）
藤谷雄二（国立研究開発法人 国立環境研究所）
古山昭子（国立研究開発法人 国立環境研究所）
萩野浩之（一般財団法人 日本自動車研究所）

1. はじめに（研究背景等）

PM_{2.5} 環境基準の実施に伴い、曝露・リスク評価が喫緊の課題となっている。他方、PM_{2.5} は重量濃度で定義されるが、実際は多様な成分組成、粒径分布を持ち、それらは大気中で時々刻々変化する。従って、PM_{2.5} 重量が同じでも気塊の由来が異なると粒子の化学・物理特性が異なり、その結果、毒性や気道沈着率が異なるため、リスクも異なると予想される。つまり PM_{2.5} は健康への影響を知るための代理的な指標（Proxy）であり、リスク発生の本態ではない。国内の PM_{2.5} は年平均濃度が概ね減少傾向にあるものの、環境基準の達成率は平成 24 年度において、一般環境大気測定局で 43%、自動車排出ガス測定局で 33% と低い状況にある（中央環境審議会大気・騒音振動部会微小粒子状物質等専門委員会）。さらなる PM_{2.5} 削減対策が必要であるが、本質的には毒性を加味した効果的な削減対策が望ましい。米国の先行研究では、緊急搬送患者に対し、PM_{2.5} よりも PM_{2.5} の酸化能を指標とした場合にリスク比が高くなることが報告されており（Bates et al., 2015）、PM_{2.5} に代わる新指標として注目されている。酸化能が高くなる要因は、PM_{2.5} 成分では、無機元素（特に遷移金属である Cu、Fe）が主要であるとの報告（Charrier and Anastasio, 2012）や、有機物（水溶性/非水溶性、ホパン類）や元素状炭素（EC）などの炭素成分による影響の報告（Saffari et al., 2014）もある。しかし、これらのことは国内において十分な知見があるとは言えない。

2. 研究開発目的

本研究では、粒子の酸化能に着目し、現場大気観測で、PM_{2.5} と呼吸器疾患の因果関係に化学・物理・生物学的視点から迫り、さらに数値モデルを活用して空間的、時間的な変動を調べ、重量濃度をベースとした環境政策の妥当性を評価することを目的とする。そのために、PM_{2.5} 酸化能を連続自動測定できる装置を新規開発し、また高い酸化能を持つとされている金属や有機物（酸化ストレス原因物質とここでは呼ぶ）の同時測定を実施する。加えて細胞曝露実験および因子分析を活用し、発生源－原因物質－酸化能－酸化ストレスを定量的に関連付け、呼吸器疾患ハザード¹（気道に沈着した原因物質が肺胞上皮細胞に与える酸化ストレス）として新たに定義づける。上記知見を集積した 3 次元化学輸送・気道沈着結合モデルを用いて、呼吸器疾患ハザードの発生源別寄与率と時空間変動を明らかにする。そして、観測・モデル両面から従来のリスク評価（すなわち PM_{2.5}）との相違を明らかにする。図 1 に研究の概念図と研究協力体制を示す。

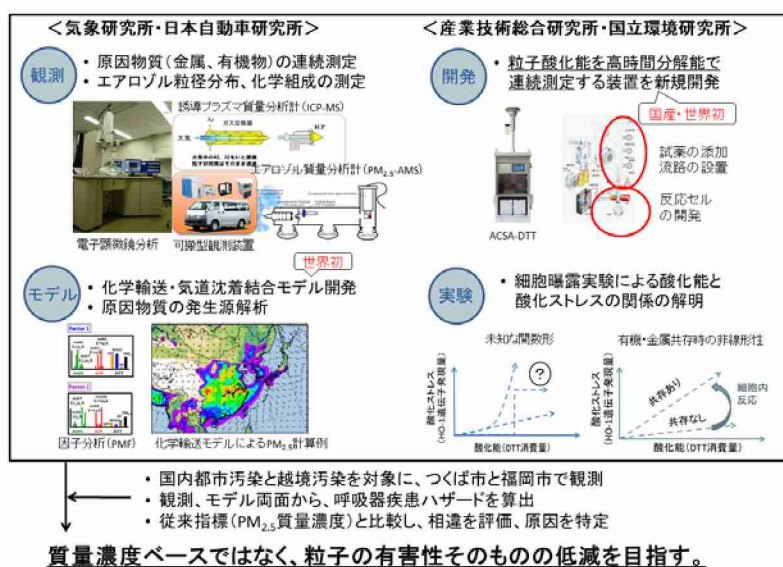


図 1. 本研究の概念図と研究協力関係

¹ 「エアロゾル健康影響の新ハザード（もしくは新ハザード）」と改名

3. 研究方法

(1) 原因物質と粒子酸化能のモデル予測に関する研究

(1-1) エアロゾル健康影響の新ハザード H

本研究では、新ハザード H を下記の式で定義する。

$$H = s \left(\sum_i r_i \iint \chi_i f(D, \kappa) C_i(D, \kappa) dD d\kappa \right) \quad (1)$$

ここで、 i は酸化ストレス原因物質（金属、有機物）を示し、 D, κ はそれぞれ、原因物質を運ぶエアロゾルの粒径と吸湿性を示す。また、 s : 酸化ストレスと酸化能の関係、 r : 原因物質の単位質量あたりの酸化能（比酸化能）、 χ : 溶解度、 f : 気道沈着率、 C : 大気濃度である。

新ハザード H は数値モデルと屋外観測の双方から算出できる。また、水溶性、脂溶性、それぞれに定義できる。 H の有用性は、疫学指標が従来ハザード $PM_{2.5}$ に比べて新ハザード H とより高い相関を持つことを示して初めて証明出来る。式 1 は、本課題のサブテーマ間連携も表している。 s は、サブテーマ 3（以後サブ 3）が、環境試料や試薬実験などから明らかにする。 r と χ は、サブ 2、3、4 が協力して環境計測と試薬実験をベースに明らかにする。 f はサブ 1、3 が協力して電子顕微鏡分析と気道沈着モデルから導出する。 C は、全サブグループが協力して観測する。数値モデル開発はサブ 1、4 が実施する。

(1-2) 領域エアロゾル化学輸送・気道沈着結合モデルの開発

本研究では、遷移金属の担体となるエアロゾルの粒径分布と化学組成の空間分布を計算し、また粒径分布と吸湿特性に依存した気道沈着率を計算するために、気象庁領域気象化学モデル NHM-Chem (Kajino et al., 2019a) と気道内の吸湿成長を考慮した気道沈着モデル (Ching and Kajino, 2018) をオフラインで結合した。

本研究では、越境汚染と都市汚染を同時に扱うが、計算機資源の問題で、都市汚染を精度良く扱うことが出来るスケール（たとえば $\Delta x = 5 \text{ km}$ ）で越境汚染を扱う領域（東アジア領域）をカバーすることは難しい。そこで図 2 に示す通り、総観規模の輸送現象（移動性擾乱、前線に伴う輸送）を再現するために東アジア領域を $\Delta x = 30 \text{ km}$ で解像する親ドメイン（以下 D01）と西日本から関東領域をカバーする $\Delta x = 6 \text{ km}$ の子ドメイン（以下 D02）を用意するネスティング手法を用いて本問題に対処した。

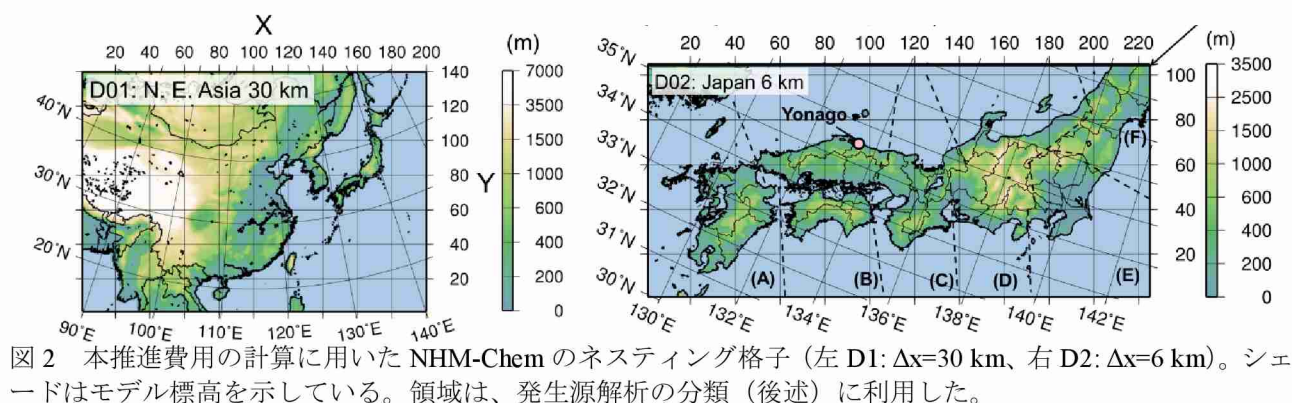
(1-3) 遷移金属のインベントリ（サブ 4 と共同）

遷移金属のエミッションインベントリは、US-EPA の PM プロファイル（元素ごとの質量含有率）データベース SPECIATE v4.4 の結果と $PM_{2.5}$ および PM_{10} のボトムアップインベントリを掛け合わせる方法で算出した。対象とした物質は、Charrier and Anastasio (2012) で得られた、粒子酸化能への寄与率の高い順に 10 種 (Fe, Cu, Mn, Pb, V, Zn, Co, Ni, Cd, Cr) と、その $PM_{2.5}/PM_{10}$ 分配である。人為起源 $PM_{2.5}$ および PM_{10} の発生量は東アジア領域については REASv2、日本領域については JATOP データ (JEI-DB) を主に利用し、JEI-DB に整備されていないタイヤ磨耗、ブレーキ、船舶については EAGrid、鉄道については東京都調査 (TMG-survey: 関東 6 県のみ) を利用した。

(1-4) 集中観測の実施（全サブテーマ、および、福岡大と共同）

越境汚染を監視するために福岡大学理学部キャンパスと、国内都市汚染を監視するためにつくば市（各研究所構内）を選び、つくば市で $PM_{2.5}$ 濃度が高くなる冬季と夏季、および福岡市で $PM_{2.5}$ 濃度が高くなる冬季から春季にかけて集中観測を実施した。平成 28 年度においては冬季つくば市での集中観測を実施し、環境省

へ通知している PM_{2.5} 成分測定を試料捕集期間（コア期間 2017 年 1 月 23 日から 30 日）を含む 3 週間程度とした。サブ 1 では、電子顕微鏡用の試料採取を定期的実施し、また常時測定項目の一つでもある偏光 OPC の連続測定を行った。平成 29 年度は、夏季つくば市（コア期間 2017 年 7 月 20 日から 8 月 9 日）と冬季福岡市（コア期間 2018 年 1 月 18 日から 2 月 7 日）、平成 30 年度は、春季福岡市（コア期間 2018 年 5 月 10 日から 5 月 30 日）で集中観測を実施した。夏季つくば市では、電顕観測、偏光 OPC 観測を実施し、冬季および春季福岡市では、電顕観測と ICP-MS 観測を実施した。



(2) 粒子酸化能の自動観測と原因物質の特定に関する研究

(2-1) FADAS の開発

市販の PM_{2.5} 自動分析装置を母材として、DTT アッセイを用いた PM_{2.5} の有する酸化能を全自動・連続測定するための装置開発を行った (図 3)。市販の PM_{2.5} 自動分析装置として選択されたのは、紀本電子工業株式会社製の ACSA-14 (大気エアロゾル化学成分連続自動分析装置) であった。

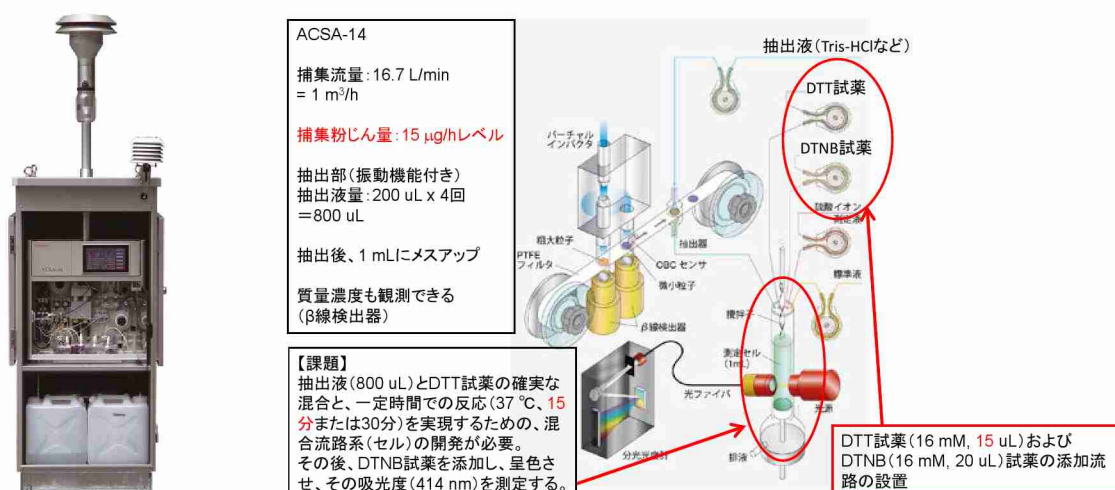


図 3 (左) ACSA14 (右) FADAS (Full Automated DTT Assay System) の開発方法

(3) 呼吸器炎症に関連する粒子酸化能評価に関する研究

(3-1) 試薬試験

PM_{2.5} に含まれていると考えられる成分について試薬を用いて DTT アッセイおよび細胞アッセイを行い、化学成分の酸化能および酸化ストレス誘導能を評価した。のべ 66 の文献から各成分の PM 含有量あるいは大気中濃度を調べ、1.5 ml の溶媒に溶解させた場合の溶液濃度を求めた。本研究で行った試験の濃度範囲はおおむね現実的な濃度範囲で行った。

(3-2) 環境中のPM_{2.5}捕集および環境試料分析

PM_{2.5}について化学成分と酸化能、酸化ストレスの関係を明らかにするために、集中観測期間中につくば市（国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験棟の裏）および福岡市（福岡大理学部屋上）において、FRM サンプラおよびハイボリュームサンプラによりPM_{2.5}のフィルタ捕集を行った。

フィルタ試料は粒子質量、炭素成分、水溶性イオン成分、金属成分（水溶性、非水溶性）、キノン類等の有機物の分析を行った。同一試料を用いて酸化能の評価にはジチオスレイトール（DTT）アッセイ、酸化ストレスの評価にはヘムオキシゲナーゼ-1（HO-1）の遺伝子発現変化によりHO-1アッセイを行った。これらのアッセイはTris-HClバッファあるいは純水による抽出およびジクロロメタン抽出（DCM）試料についてそれぞれ行った。また、PM_{2.5}に含まれている化学成分（遷移金属、キノン類等）について試薬を用いて酸化能、酸化ストレス評価を行い、各成分の応答性を定量的に評価した。

(4) 原因物質と酸化能の発生源同定に関する研究

(4-1) 発生源と酸化能に関する文献調査

本研究では、すべての発生源に対するPM_{2.5}試料に対する酸化能を計測することは、本研究の範疇を超えるため、文献による調査を中心に発生源と酸化能に関する調査を行った。酸化能については、粒子質量あたりのDTT消費速度を単位として取りまとめた。

(4-2) PM_{2.5}酸化能の要因物質を含む微量成分の自動測定による大気動態調査

微量無機元素の自動計測は、PM_{2.5}用サイクロンとガス交換器を装着した誘導プラズマ飛行時間型質量分析計（Aerosol-icpTOF）、蛍光X線により元素濃度を自動測定することが可能なPM_{2.5}自動成分分析装置（PX375）により計測した。また、PM_{2.5}の主要成分である有機エアロゾル（OA）、硫酸イオン、硝酸イオン、塩化物イオン、アンモニウムイオンについても、PM_{2.5}用空気動力学レンズを搭載したエアロゾル質量分析計（PM_{2.5}-AMS）により計測した。

(4-3) 酸化能の原因物質の発生源同定解析

本研究では、ケミカルマスバランス（CMB）法により、サブ3で実施した観測において酸化能に対して寄与が高いCu元素の発生源寄与解析を行った。環境省より報告されている微小粒子状物質に関する発生源調査のうち、粗大粒子と微小粒子の両方が測定されている調査報告データを用いて、ケミカルマスバランス（CMB）法により、酸化能の原因物質の一つである大気粒子中のCu元素に対する発生源解析を行った。CMB法による解析に用いた発生源プロファイルは、同調査報告書に記載される道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却、自動車排気、ブレーキ粉塵を用いた。サブ1で実施した大気シミュレーションによる発生源結果との整合性を比較した。

4. 結果及び考察

(1) 原因物質と粒子酸化能のモデル予測に関する研究

(1-1) 金属インベントリの開発（Transition Metals Inventories v1.0）

本研究で開発したアジア域および日本域の遷移金属のインベントリをそれぞれTransition Metals Inventory (TMI)-Asia (v1.0)、TMI-Japan (v1.0) とした（Kajino et al., 2019b）。比酸化能の高い5種の遷移金属の年間総放出量のマップを図4に示す。上から、TMI-Asiaによる人為起源、TMI-Japanによる人為起源、鉱物ダスト由来の遷移金属を示し、左からPM₁₀のCu, Mn, Fe, V, Niである。

(1-2) 酸化能の予測可能性と、新ハザード H (ver1.0)

酸化能のモデル予測可能性を示すために、遷移金属元素のみから積み上げた酸化能 (OP_{tm}^*) を下記の通り定義し、観測とモデル (D02 のみ) で比較した。

$$OP_{tm}^* = \sum_i r_i \times \chi_i \times C_i \times f_i \quad (2)$$

ここで r_i, χ_i, C_i, f_i はそれぞれ比酸化能 (単位金属元素あたりの DTT 消費量)、溶解度、大気濃度、モデルバイアス補正係数を示す。i は Cu, Mn, Fe, V, Ni の 5 種類で積み上げた。酸化能の測定は実験設定等で大きく変化するため、 r_i には Charrier and Anastasio (2012) と、本研究 (Fujitani et al. (2017) と本研究) の結果から得た 2 種類を導出し、それぞれ $OP_{tm}^*(CA)$ 、 $OP_{tm}^*(F)$ とする。

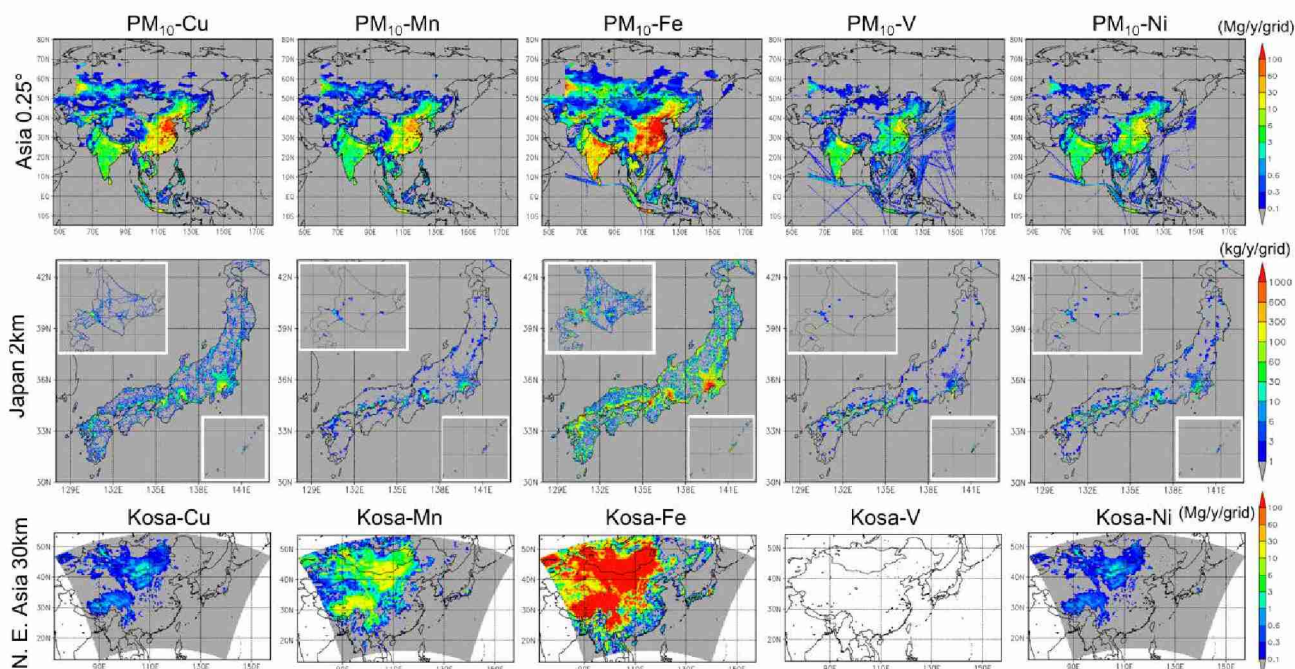


図 4 PM₁₀ 中の遷移金属の年間放出量 (左から右) Cu, Mn, Fe, V, Ni (上から下) アジア領域の人為起源 (TMI-Asia v1.0; 0.25° × 0.25°, 基準年 2008; Mg y⁻¹ grid⁻¹), 日本国内の人為起源 (TMI-Japan v1.0; 2 km × 2 km, 基準年 2010; kg y⁻¹ grid⁻¹), D01 の鉱物ダスト由来 (ランベルト座標系; 30 km × 30 km, 計算年 2013; Mg y⁻¹ grid⁻¹).

図 5 に 2013 年 3 月から 12 月までの米子市で得られた OP_{tm}^* 観測値 (TSP) と OP_{tm}^* 計算値 (PM₁₀) の日間値を示した。また、人為起源割合、微小粒子割合、国内寄与率を示し、また $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の金属元素寄与率を示した。図 5 に示す通り、 OP_{tm}^* は、独立した観測データ (環境省全国 PM_{2.5} 調査) により補正された数値モデルによって、十分予測可能であることが示された。個々の元素の比酸化能 r_i や粒子全体による DTT 消費量は実験によって大きくことなるため、 $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の中央値は 1 桁ほど異なった。现阶段では、 OP_{tm}^* の絶対値自体にそれほど大きな意味があるわけではなく、その時空間変化がむしろ重要である。 OP_{tm}^* に対する元素寄与率は、観測とモデルで整合的であったが、 $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ で大きく異なった。いずれも Cu が主要であるが $OP_{tm}^*(CA)$ が Mn と Fe が次いで重要となるのに対し、 $OP_{tm}^*(F)$ では Fe と Ni であった。絶対値の時間変化と同様に、人為起源寄与率、微小粒子寄与率、国内寄与率についても $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ では大きな違いは見られなかった。越境汚染の割合は寒候期に高くなり、春季に黄砂の割合が高くなり、PM_{2.5} に比べて PM₁₀ は大気寿命が短いため、微小粒子割合と国内寄与率は逆相関となる様子が見られた。

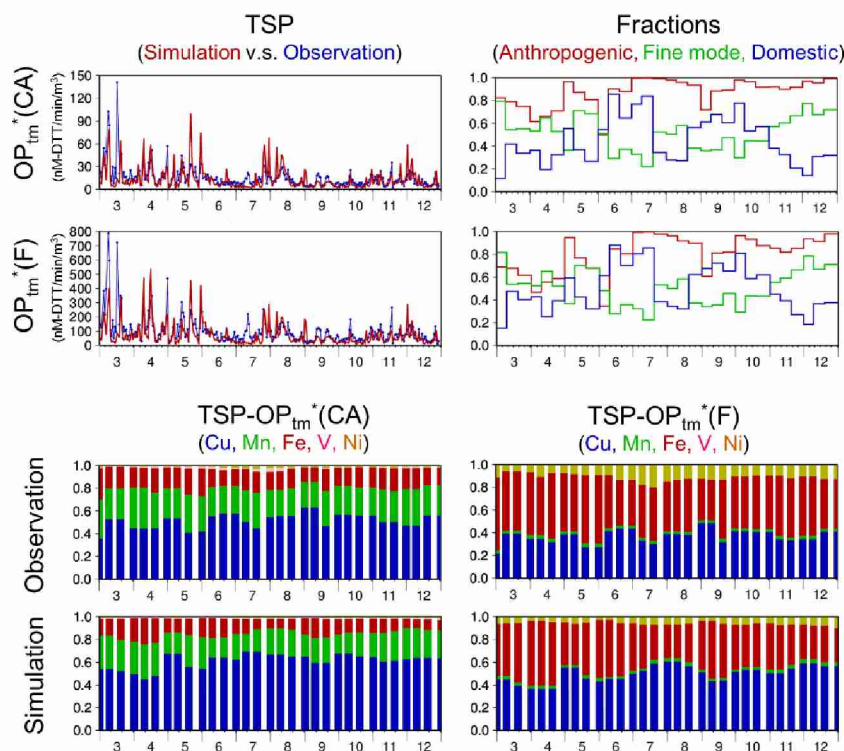


図5 2013年3月から12月までの米子市での時系列。観測値はTSP、計算値はPM₁₀。(左上) OP_{tm}* (CA)とOP_{tm}* (F)の(赤)観測値と(青)計算値(D02)の日間値。(右上)(赤)人為起源割合、(緑)微小粒子割合、(青)国内割合の10日平均値。(左下) OP_{tm}* (CA)の観測値と計算値における金属元素の寄与率の10日平均値。(右下) 左下と同じだが、OP_{tm}* (F)。

(1-3) 我が国におけるOP_{tm}*と主要遷移金属の発生源

PM_{2.5}とPM₁₀のOP_{tm}* (CA)とOP_{tm}* (F)の年間放出量に対する発生源寄与率を図6に示した。OP_{tm}* (CA)とOP_{tm}* (F)に対する金属元素の寄与率はそれぞれ大きくことなったものの、発生源寄与率は大きく変わらない結果となった。その一方で、PM_{2.5}-OP_{tm}*とPM₁₀-OP_{tm}*の発生源寄与率は大きく異なった。PM₁₀-OP_{tm}*の最重要発生源はブレーキ摩耗であり、次いで鉄鋼業であった。PM_{2.5}-OP_{tm}*については、鉄鋼業が主要発生源で、ブレーキ摩耗のほか、その他の工業(非鉄鋼金属工業、非金属工業)、船舶、ごみ焼却、発電、排ガス、鉄道などが、それぞれ数%から10-20%程度まで、ほぼ同等に寄与していた。上述の通り、これら主要発生源は、Cu, Fe, Mn, Niの発生源を反映している。PM₁₀-OP_{tm}*のブレーキ摩耗はCuとFe、PM_{2.5}-OP_{tm}*のそれはFeに由来した。OP_{tm}*の鉄鋼業はFeとMnに由来し、PM_{2.5}-OP_{tm}*についてはNiやCuの寄与も見られた。PM_{2.5}-OP_{tm}*の非金属工業はNiとCu、非鉄鋼金属工業とゴミ焼却はCuとFeに由来した。発電所はFeとCu、排気ガスはCuがそれぞれ、PM_{2.5}-OP_{tm}*に寄与していた。

中国四国は船舶の寄与が高かった(主にVとNi)。船舶の寄与率はPM_{2.5}-OP_{tm}* (F)でより高く、その原因はNiの比酸化能 r_i が高かったためである。金属の排出量は関東地方で最も大きい、VとNiについては中国四国地方で最も大きかった。これは瀬戸内海を航行する船舶および沿岸の工業地帯での重油消費量が高いためと考えられる。

関東地方においてPM_{2.5}-OP_{tm}*に対する鉄道の寄与率は10%であり、Fe(関東地方におけるFeの発生量のうち15%は鉄道由来)とCuの寄与が高かった。Mnの発生も見られた。鉄道排出は関東地方のみでの積算のため、他の地域においても同程度の割合で鉄道寄与率が存在し、またOP_{tm}*もその分だけ過小評価されている。

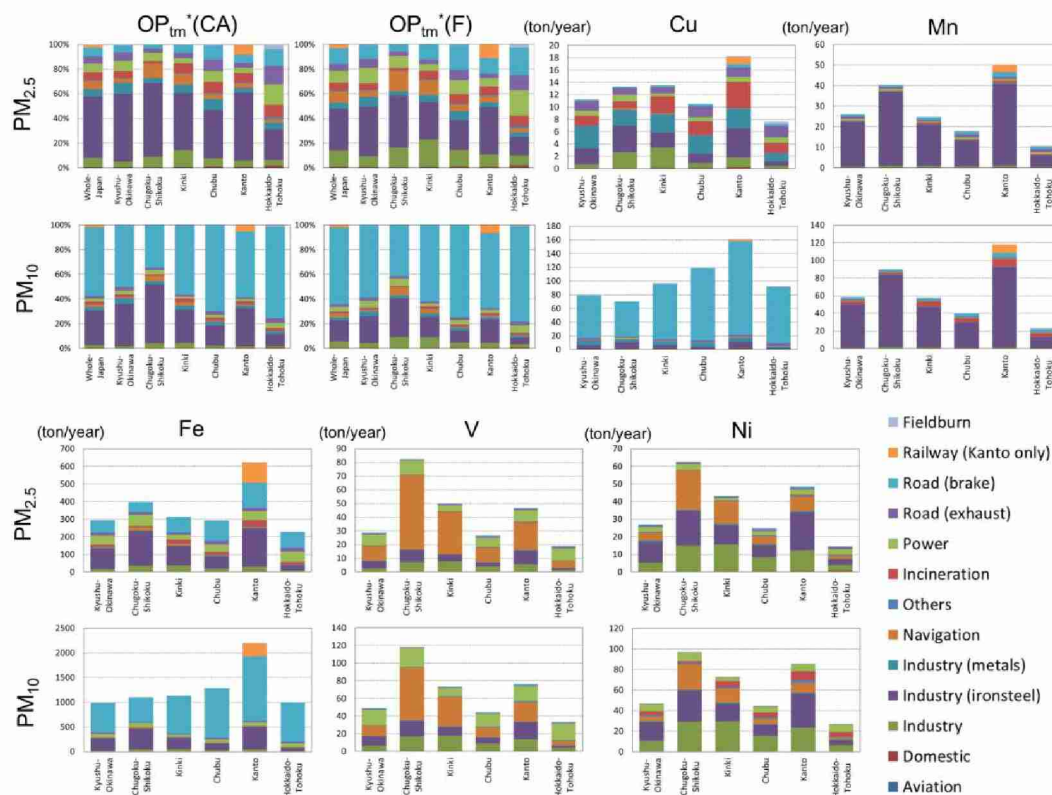


図6 日本全国と国内6地域における人為起源のPM_{2.5}とPM₁₀のOP_{tm}^{*}(CA), OP_{tm}^{*}(F), Cu, Mn, Fe, V, Niの年間放出量における発生源セクター寄与率 (TMI-Japan v1.0 による)。ここで、鉄道起源は、関東地方のみである。

(1-4) 集中観測期間中において発見された特徴の異なる金属粒子

図7に福岡市での冬季集中観測で発見されたFe, Crを含む金属粒子の特殊な形態の一例を示す。この粒子は1 μm以上の粗大粒子であるが、その中に酸化鉄の凝集体のほかに数nmからの非常に微細な金属粒子が数多く分散して存在している。二次生成物での硫酸塩と有機物の混合粒子と、金属が大気中で内部混合して形成されている。この粒子は気道に沈着するまでは、粗大粒子としてふるまうが、肺胞上皮粘液中で溶解し、その後は、数nmの金属粒子と100 nm近い凝集酸化鉄はふるまいが大きく異なる可能性がある。今後ナノ粒子と凝集体の粒径や存在比について、より定量的な理解が望まれる。

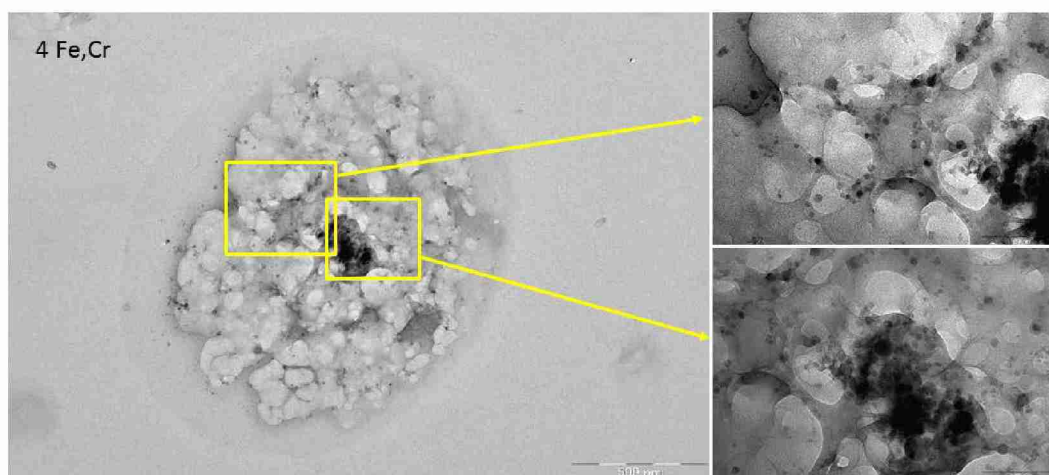
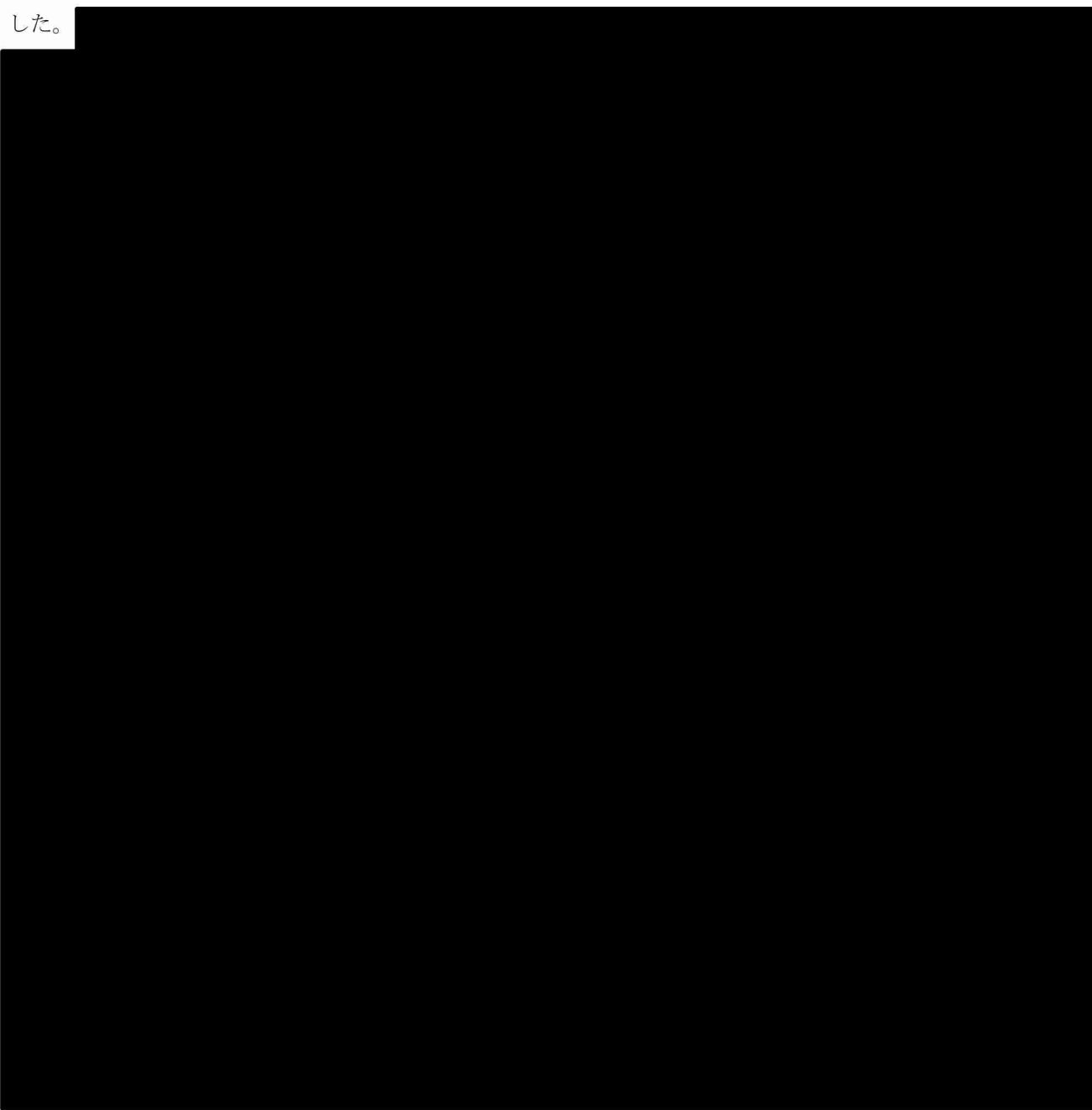


図7 福岡市における冬季集中観測で発見されたFeを含む粒子の形態

(2) 粒子酸化能の自動観測と原因物質の特定に関する研究

(2-1) FADAS による連続観測の実施

初年度(2016年)から装置開発を遂行し、2017年度夏のつくば市集中観測において試験運用を実施した後、2017年度冬(2018年1-2月)および2018年度春(2018年5月)の福岡市でFADASによる連続測定を実施した。



従来の1日間隔の測定法に対して、FADASが可能とした高時間分解能測定の特長は大きい。たとえば、人間活動の時間スケールであり健康影響評価に適う、ナウキャストが可能で社会的に有用なデータを提供できる、気象場の変化を十分追従できるため発生源解析に必要、などが挙げられる。そのメリットを生かした解析の一つが日内変動解析である。その一例として、図10に2018年1月の福岡観測期間中のPM_{2.5}およびPM₁₀の質量濃度と酸化能の日内変動結果を示す。本観測データでは越境汚染のイベントがあった時間にピークが表れてしまうため、この図に示される日内変化自体に大きな意味はない。しかし、質量濃度と酸化能の変動が顕著に異なる例も見られる。今後、ラッシュアワーや境界層高度の日変化等による明瞭な日内変動が期待される発生源近傍において同様の解析を実施し、健康影響評価に有用な情報を提供していきたい。

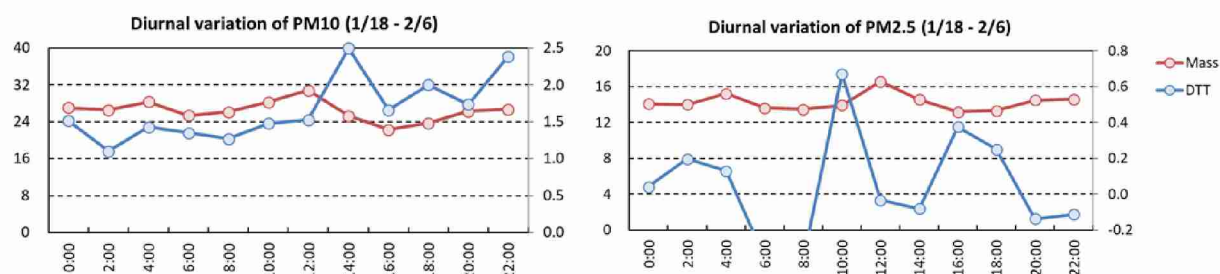


図 10 2018 年冬の福岡観測期間中の PM10 および PM2.5 の質量濃度と酸化能の日内変動

(3)呼吸器炎症に関連する粒子酸化能評価に関する研究

(3-1) 試薬試験

金属溶液による DTT 消費量の結果ではいずれの成分も $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 以下の濃度では反応しなかった。DTT で濃度依存的に反応した金属は Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} であった。酸化鉄は反応しなかったため、溶媒に溶けない場合は DTT を消費しないことが示唆された。また有機物は DCM 抽出による 9,10-フェナントラキノン、1,4-ベンゾキノン、2-メチル-1,4-ナフトキノン、1,2-ナフトキノン、6-ニトロベンゾ a ピレンが DTT を消費する結果となった。また濃度依存的に細胞毒性を示した金属は Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 As^{2+} であった。これら金属を含め細胞毒性を示さない濃度で H0-1 遺伝子発現変化を測定した結果、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 As^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} で遺伝子発現増加が認められ、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} で特に誘導が高い結果となった。また有機物は 9,10-フェナントラキノンで細胞毒性が強く、かつ H0-1 遺伝子発現が誘導された。DTT のみ反応した成分は Co^{2+} であり、H0-1 アッセイのみに反応した成分は Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 As^{2+} であった。H0-1 遺伝子は Keap1 分子が酸化・分解されることにより Nrf2 分子が核に移行して発現する。金属や有機物は細胞膜上のトランスポーターにより細胞内に取り込み・排出されるので、曝露量と細胞内濃度は必ずしも等しくない上、細胞内には Keap1 分子以外にもグルタチオンなどチオール基を持つ分子や金属を配位する分子が多く存在するので、すべてが Keap1 分子と反応するとは限らないため、DTT 消費量で評価する DDT アッセイの結果とは必ずしも一致しなかったと考えられる。

(3-2) 環境中の PM_{2.5} 捕集および環境試料分析

図 11 に、全フィルタ試料の分析結果を示す。この図には PM_{2.5} 濃度、化学組成、DTT アッセイの結果を示している。PM_{2.5} 濃度はいずれの試料においても環境基準を下回る結果となった。観測期間中の平均濃度は福岡の方がつくばよりも濃度が高く、いずれの地点においても冬季の濃度の方が高い結果となった。また、つくば冬季を除いて、同一観測期間内の変動の方が観測間の変動よりも小さい傾向となった。地域差が大きく反映されていることが分かる。化学組成をみると、いずれの試料も水溶性イオン成分が多く占める結果であった。つくば冬季は元素状炭素が他の観測期間に比べて組成割合が大きい結果となった。また、つくば冬季および福岡春季の一部の試料で元素成分（金属成分）の割合が大きい。特に福岡春季は黄砂イベントが見られたことから、その影響を受けたものと考えられる。

図 11 には DTT アッセイの結果も示しているが、プロットの大きさは PM_{2.5} の質量あたりで DTT 消費量を規格化した値 [nmol-DTT μg^{-1}] を相対的に示している。バッファー抽出試料においては気中あたりの消費量 [nmol-DTT m^{-3}] (= PM 気中濃度 [$\mu\text{g m}^{-3}$] × [nmol-DTT μg^{-1}]) では試料間の変化は PM_{2.5} 濃度の変化に追従している。PM 量当たりの値も試料によって値が異なるが、これは化学成分と関係があるため PM_{2.5} の大気中濃度とは関係がない。DCM 抽出試料の方はバッファー抽出試料に比べて、気中あたり、PM 量当たりの値について、試料間の変化は小さかった。

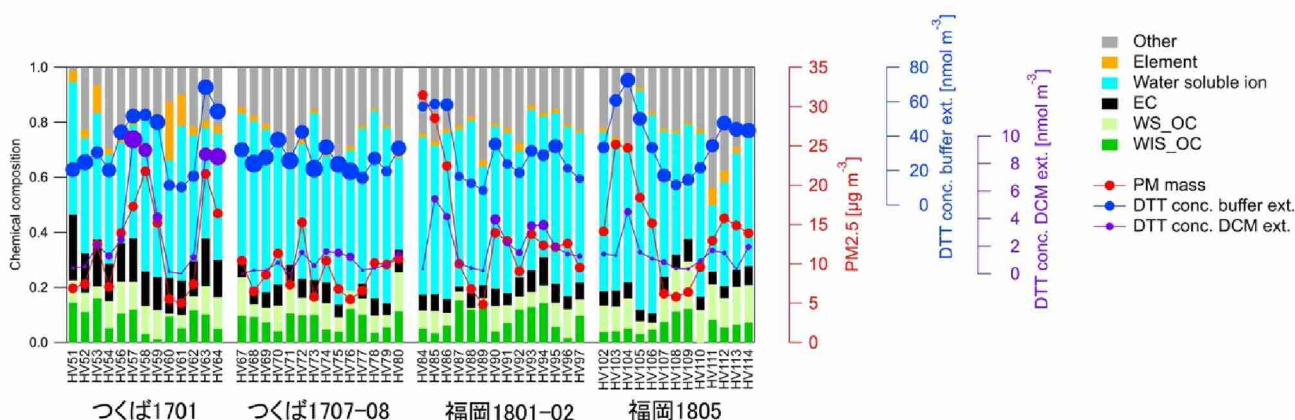


図 11 全フィルタ試料の結果 化学分析と酸化能

一部例外があるものの、全体としては気中あたりの DTT 消費量は $PM_{2.5}$ が高濃度ほど高い傾向にあり、おおむね $PM_{2.5}$ 濃度が支配的になっている事が分かる。ただし、化学成分が異なると考えられることから他の傾向からはずれることがある。したがって、より正確に酸化ストレスによる影響を評価するためには直接酸化能を測定する必要があり、オンライン ACSA-DTT により酸化能の連続測定を行う意義はあると考えられる。

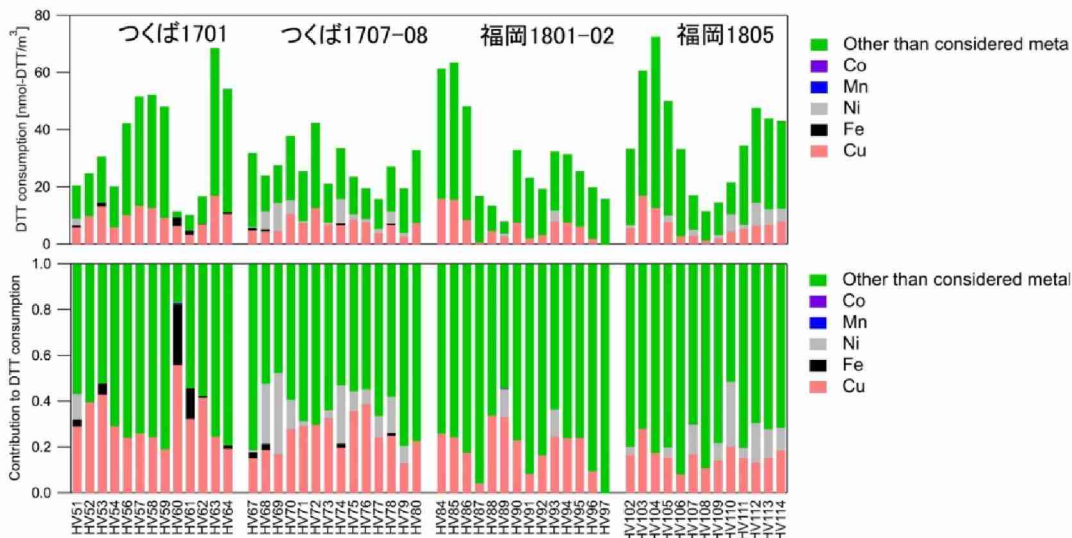


図 12 主要金属成分による酸化能（バッファー抽出試料）

図 12 に、水溶性試料の水溶性成分による DTT 消費量の積み上げと DTT 消費に対する寄与内訳を示す。この結果は水溶性金属濃度と試薬試験から得られた単位濃度あたりの DTT 消費量の情報から得た。その他による寄与は、個々の金属成分の消費量を積み上げた結果と、直接の DTT 消費量の測定の差分から得た。水抽出試料については水溶性銅が全体の消費量の 20-30%程度の消費量を占めていた。ついでニッケルの寄与が高かった。つば冬季試料では鉄成分が寄与する場合もあった。水溶性銅の寄与はつば冬季試料で高く、福岡では低い傾向であった。冬季同士の試料を比較すると、つば冬季と福岡冬季の全体の差 (2.8 nmol-DDT/m^3) は水溶性銅濃度の差による消費量の差 (3.5 nmol-DDT/m^3) でおおむね説明できた。同様の手法で DCM 抽出試料の有機成分による DTT 消費量の積み上げを行ったところ、一部の試料で 9, 10-フェナントラキノンと 2-メチル-1, 4-ナフトキノンが消費量に寄与していたが、全体的には分析対象となった有機物では、大部分の DTT 消費量を説明することができなかった。有機物は無数の種類があり、多くの種類の成分が少しずつ DTT 消費量に寄与していることも考えられる。有機物を包括的に評価することが必要で、今後の課題と考えられる。

図13に、全フィルタ試料の分析結果とともにHO-1アッセイの結果を示す。HO-1アッセイのプロットの大きさは細胞毒性の結果を相対化している。すなわち、プロットが大きい方が低い生存率であり、細胞毒性が高いことを示している。なお、HO-1アッセイは水抽出とDCM抽出で値が大きくことなるが、それぞれのコントロールに対する倍率で表しているため、水抽出試料とDCM抽出試料間の相対的な評価はできないことに注意が必要である。DMSOは弱いラジカルスカベンジャーであり、DCM抽出では水抽出のコントロールより若干低く出するため、HO-1の値が上がる傾向にある。環境試料抽出物は測定したいずれの試料も100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ までの曝露濃度では強い細胞毒性は示さなかった。細胞生存率に若干の増加が認められたことから、弱い酸化ストレス影響による細胞応答が推測された。水抽出試料のHO-1アッセイの結果は試料によって大きく変化している。また、DCM抽出試料は変化は小さいが、いくつかの試料で大きく変化している。

図14にDTTアッセイとHO-1アッセイの結果を比較した結果を示す。プロットの大きさは参考までにPM_{2.5}濃度を示す。いずれの抽出試料の場合もおおむね両アッセイの結果に相関関係が見られた。よってオンラインACSA-DTTにより酸化能の連続測定を行えば、酸化ストレスの影響の程度を連続的に測定できることに繋がると考えられる。ただしやはり一部の試料で傾向が異なり、これは試薬試験で見られたような両アッセイで挙動が異なる成分が原因と考えられる。例えば鉛やカドミウムは、DTTを消費しなかったが、HO-1では酸化ストレスを誘導した成分であった。福岡春期試料は他の観測期間の傾向から外れていたが、水溶性の鉛、カドミウムの含有量が他の観測期間に比べて大きい傾向にある。化学組成の相違によって両アッセイの関係性が変わることが示唆された。

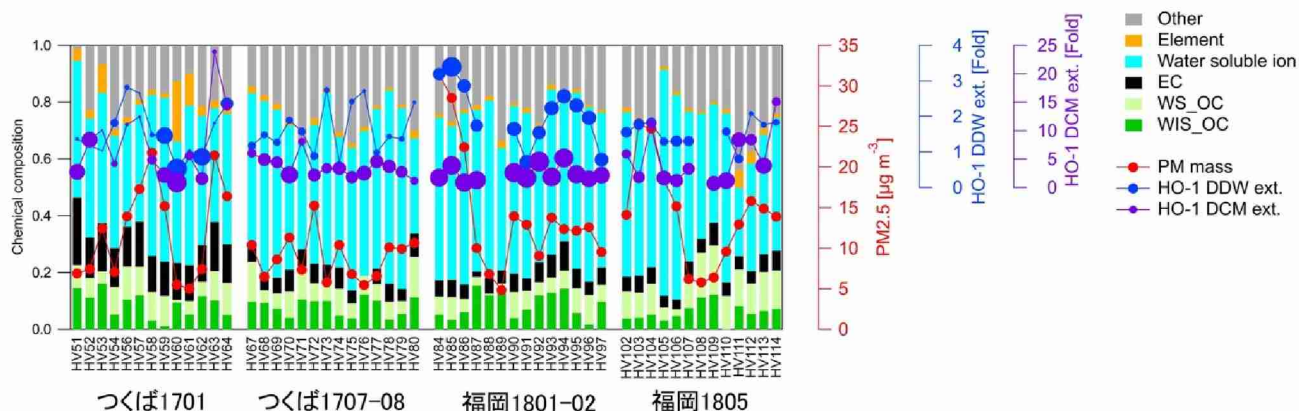


図13 全フィルタ試料の結果 化学分析と細胞アッセイ

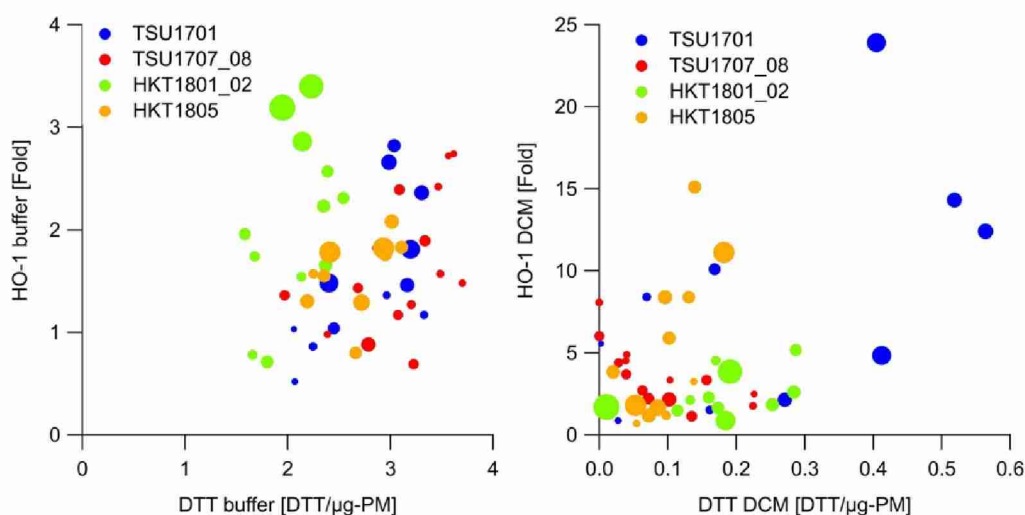
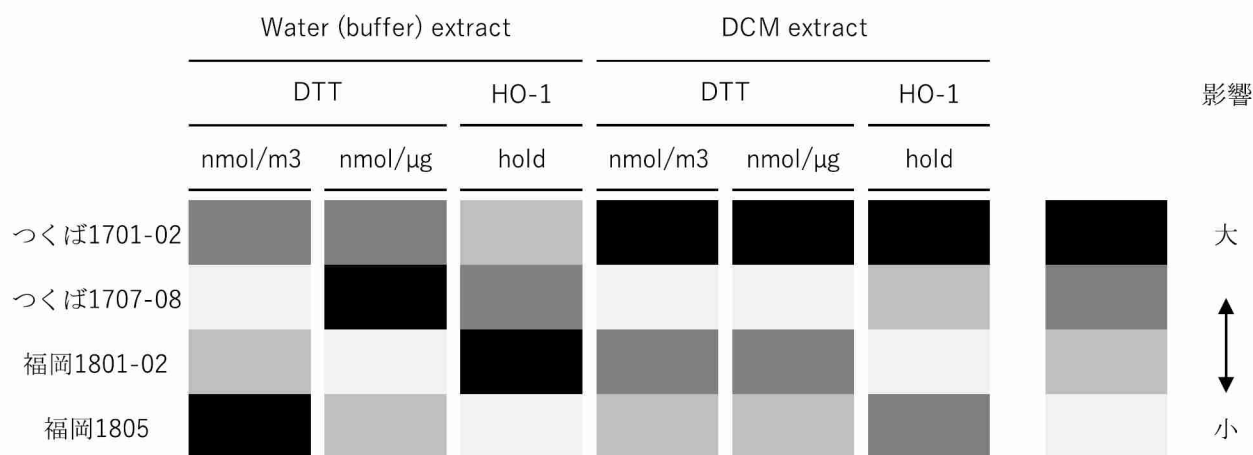


図14 酸化能と酸化ストレスの関係 左：水系抽出試料 右：DCM抽出試料

表1に本研究課題全体のまとめを示す。各指標、各単位における観測期間間の大小関係を表している。本研究課題で扱った酸化ストレスは健康影響の一つのエンドポイントに過ぎない。今後とも慢性影響も含めて幅広く評価していく必要がある。また、疫学と毒性学が連携して多面的にPM_{2.5}の健康影響を評価していく必要がある。

表1 全体まとめ



(4) 原因物質と酸化能の発生源同定に関する研究

(4-1) 発生源と酸化能に関する文献調査

酸化ストレス (Oxidative Stress) は、「生体内において酸化力 (pro-oxidant) が抗酸化力 (anti-oxidant) を上回った状態」と定義される。生体内での酸化ストレスは、スーパーオキシドラジカルや過酸化水素、ヒドロキシラジカルのような活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) の過剰な生成あるいはそれらを消去する抗酸化能力の欠損により引き起こされる。酸化ストレスを受けると、核酸 (DNA)、タンパク質、脂質などが損傷し、細胞機能をも障害され、さまざまな病態と深くかかわる。

生体内還元物質であるグルタチオンは、グルタチオンが有するチオール基の化学的反応性により、ROS の除去 (抗酸化) や求電子的な化合物、重金属など生体異物 (毒物) の解毒、すなわち細胞を保護する補助的役割を有する極めて重要な分子である。

酸化能は、ROS が生体内の還元物質 (抗酸化物質) を酸化する能力を言い、グルタチオンやアスコルビン酸が酸化された量を測定する、化学反応を測定する方法により、細胞毒性の評価指標として用いられることがある。大気中の PM_{2.5} の酸化能に関する研究では、グルタチオンに代わり、ジチオトレイトール (dithiothreitol; DTT) といった低分子酸化還元剤を用いた評価が行われる。DTT は、分子内ジスルフィド結合による6員環を形成する傾向が強く、チオール-ジスルフィド交換反応により還元される。チオール基のpKaは通常8.3程度であり、負に帯電したチオレート型の-S⁻だけが反応性を持っているため、DTTの還元力はpHが7以上の場合に限られる。

本研究において、一次粒子と二次粒子の酸化能に関する文献調査をまとめた結果を、粒子質量あたりのDTT消費速度で表2に示す。本研究の調査した範囲では、ブレーキ粉塵やゴビ黄砂、ナフタレンから生成する二次有機エアロゾル (SOA) の活性が高い傾向にあることが分かった。ブレーキ粉塵やゴビ黄砂は、無機元素が主となる化学物質で構成されており、酸化能の要因物質であるFeやCuを含んでいることから、粒子質量あたりの酸化能が高くなる傾向にあったと考えられる。

表 2 粒子質量当たりの DTT 消費量として計測した各発生源の酸化能（一部のみ掲載）

	Sources	nmol-DTT/min/μg PM	Refs.
Emission Sources	Diesel Exhaust without After treatment	0.005 – 0.39	19, 20, 21, 22
	Bio-Diesel Exhaust without	0.023 – 0.027	21
	Diesel Exhaust with DOC+DPF	0.01 – 0.19	19, 20, 21, 22
	Gasoline Exhaust	0.011 – 0.012	21, 22
	Automotive Brake Wear Particles	0.05 – 12	24
	Rice straw	0.018 – 0.024	25
	Rice husk	0.0056 – 0.021	25
	Barley straw	0.0079 – 0.0099	25
	Wheat straw	0.016 – 0.044	25
	Gobi Kosa (SRM 30)	1.1 – 1.8	This Study

(4-2) PM_{2.5} 酸化能の自動測定による大気動態調査

つくば（自動車研）において FADAS を用いて、PM_{2.5} と PM_C (PM₁₀-PM_{2.5}) とに対する DTT 消費量の自動測定を行った。福岡市では FADAS を大学屋上に設置していたが、つくばの観測では、反応セルの温度を極力一定にするため、35°C に高温された空気を反応セルに送風して保温し、DTT 試薬と DTNB 試薬は冷蔵保管 (<4°C) し、抽出液 (Tris-HCl 緩衝液) は室内空気による汚染を避けるために密閉容器 (20L バロンボックス) に保管して連続運転を行った。PM_{2.5} と DTT 消費量の変動は一概に一致しておらず、図 15 に示す 2 時間平均および 24 時間平均でみて、PM_{2.5} と DTT 消費量は、高い相関が得られなかった。24 時間平均で PM_{2.5} 濃度と DTT 消費量の相関が得られない結果は、つくばと福岡において観測されたサブ 3 による観測と異なるものであった。FADAS による DTT 自動アッセイは、粒子捕集の 4 時間後に分析を開始するため、短寿命の酸化能要因物質を計測したことが要因の一つと思われる DTT 消費量/PM_{2.5} 比と DTT 消費量/OBC 比のいずれも日中に高い傾向であり、二次生成やエージングしたスス粒子などにより DTT 消費量が増加した可能性が示唆された。

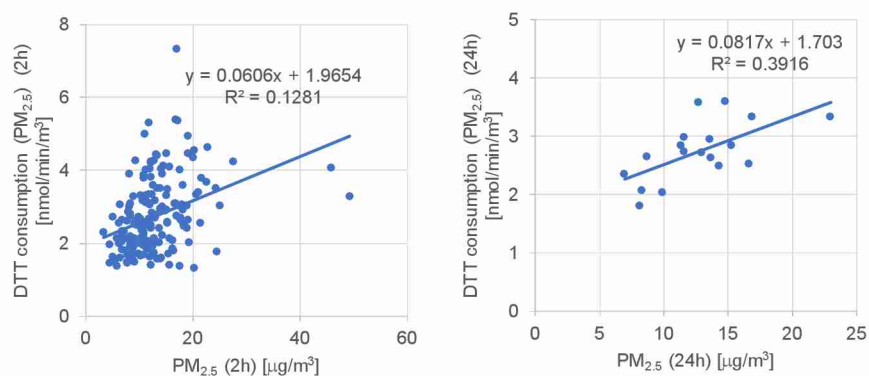


図 15 FADAS で計測した PM_{2.5} 質量と DTT 消費量の相関（2 時間平均）（左）と（24 時間平均）（右）

(4-3) 酸化能の原因物質の発生源同定解析

本研究では、ケミカルマスバランス (CMB) 法により、サブ 3 で実施した観測において酸化能に対して寄与が高い Cu 元素に焦点をあてて、発生源の解析を行った。粒形別に測定された大気粒子中の Cu 元素の発生源を解析した結果について、図 16 に各発生源（道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却、自動車排気、ブレーキ粉塵）の寄与濃度を示す。解析に用いたデータは 2001 年～2002 年の 4 季節に国内で測定された一般局 (11 局) と自排局 (4 局) の平均値である。Cu 元素の発生源を解析した結果は、不明分とブレーキ粉塵の順に寄与が高く、不明分は粗大粒子（粒径 2.1～11 μm）で 39 %、粗大粒子（粒

径<2.1 μm) で 73 %、ブレーキ粉塵は粗大粒子で 48%、微小粒子で 16%であった。ブレーキ粉塵の寄与度粒径 2.1~3.5 μm に高い傾向にあり、国内のブレーキ粉塵の排出量を実験により計測された Cu 元素の粒形分布 (モード粒径 1~3 μm) と比べて、概ね一致する傾向であった。国内における Cu 元素の排出量について、PRTR (Pollutant Release and Transfer Register : 化学物質排出移動量届出制度) により、水溶性の Cu 元素については対象とされ、どのような発生源から、どれくらい環境中に排出されたか、あるいは廃棄物に含まれて事業所の外に運び出されたかというデータを把握し、集計し、公表されている。自動車も PRTR 制度の対象の発生源として排出量が把握されているが、ブレーキ粉塵からの排出については対象とされていない。このため、環境行政が目的とする、事業者の化学物質管理を促進したり、化学物質リスクコミュニケーションの基礎資料とするため、PM_{2.5} による酸化能原因物質である Cu 元素 (特に水溶性の Cu 元素) に対して、移動発生源からの排出量が整備されておらず、リスク管理するべく物質として、情報が欠落していることが、本研究を実施することで分かった。実際、サブ 1 で示すように Cu のモデル再現精度は他の元素に比べてあまり高くなく、今後 Cu 排出量推計の高精度化が必要と考えられる。なお、PM_{2.5} の酸化能要因物質である Cu 元素など、微量元素に対するより精緻な発生源解析を行うためには、大気シミュレーションの発生源プロファイルに微量元素の情報を入力し、実測との整合性を評価しながらデータを解析を行う方法が挙げられる。大気シミュレーションによる方法は、サブ 1 の方で実施した。ブレーキ粉塵が主要発生源であり、そのほか廃棄物焼却、自動車排気、鉄鋼業の寄与が見られる点などが、大気シミュレーションによる方法と整合的な結果であった。



図 16 各粒径の Cu 元素に対する発生源寄与濃度：一般局 (左) と自排局 (右)

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

- ・ アジアと我が国限定だが、排出インベントリと予測モデルを構築し、粒子酸化能の寄与率が高い遷移金属の発生源推計、酸化能予測を実施したのは世界初。個別粒子分析 (特に Fe) や気道沈着計算を組み合わせ新ハザードを考案し、その発生源を明らかにした (主にブレーキと鉄鋼業 (全体の 8 割程度)、次いで船舶、発電、焼却炉などであった (それぞれ 1 割程度))。 (サブ 1、4)
- ・ 新ハザードの時空間分布を明らかにし、従来ハザード (PM_{2.5}) との相違を明らかにした。新ハザードについては、微小粒子だけでなく粗大粒子の重要性、自然起源ではあるが、特に酸化能が高く、ヒト条件によっては気道沈着率も高くなる、黄砂の重要性も示唆された。 (サブ 1、4)
- ・ 市販の PM_{2.5} 自動分析装置を母材とした、DTT アッセイを用いた PM_{2.5} の有する酸化能の全自動・連続測定装置の開発を実現することができた (FADAS)。2 時間ごとに PM_{2.5} と PM₁₀ の質量濃度と酸化能を同時に測定することができる装置は世界初の画期的なものである。 (サブ 2)

- ・ 水系、有機溶媒系それぞれにおいて、DTT アッセイ、HO-1 アッセイを同時実施し、両手法の関係性を同時に初めて明らかにした。また、水溶性の金属成分に着目して分析、解析を進めた上で、特定の成分によって両アッセイの関係が変化することが示唆される結果が得られた。(サブ3)
- ・ これまでに、環境省が実施している PM_{2.5} 成分分析では 24 時間ごと、有害大気汚染物質では 48 時間もしくは 2 週間ごとであり、時間分解能の高い測定や解析が困難であった。特に微量無機元素は、環境省が実施する PM_{2.5} の 24 時間観測では実施することが困難であり、本研究では 1 時間ごとに 48 元素同時に測定データを得ることが可能となった。これにより、FADAS と併せて気象要因や疫学調査との直接比較など、要因解析に資する科学的な知見が得られるようになった。(サブ4)

(2) 環境政策への貢献

- ・ 酸化能の発生源寄与率の情報を、不確定性情報(発生量や粒子形状)と共に、整備した。
- ・ 粗大粒子の重要性を示唆するものであった(酸化能と気道沈着の観点から微小粒子と粗大粒子の健康ハザードを定量的に比較した)。
- ・ 疫学研究チームへの FADAS データ活用を依頼した。将来、質量濃度と新ハザードのどちらがより疫学調査と関連性が強いのか、が明らかになる。
- ・ 発生源の情報と PM_{2.5} の有する酸化能の情報が繋がれば、排出量のみで決まらない PM_{2.5} 削減対策が可能となる。
- ・ 本研究における計測技術により、これまでに解析が困難であった、有害大気汚染物質に指定されている微量無機元素の濃度の 1 時間観測が可能となり、例えば、Mn が気象要因で増加する現象が観測されるなど、一概に環境基準による安全性を議論するだけでなく、自然現象と比較した要因解析を含めたデータ取得が可能となった。これにより、市民にとって安全な社会へ向けた情報発信に資する結果が得られるようになった。

<行政が既に活用した成果>

- ・ NHM-Chemの結果(たとえばKajino, 2018)は日中韓大気汚染物質長距離越境移動研究プロジェクト(Joint Research Project on Long-Range Transboundary Air Pollutants in Northeast Asia; LTP プロジェクト)に活用されて来た。

<行政が活用することが見込まれる成果>

- ・ 新ハザードの有用性が疫学研究から証明されれば、優先的に対策を講じるべき発生源が、本研究から明らかとなっている。
- ・ 地域や季節によって、粒子が持つ酸化能と吸入した場合の酸化ストレスが異なること、それらの関係が国内でも関連付けることができたことから、PM_{2.5} と言っても様々な成分の集合体であることが再認識された。国民への PM_{2.5} に対する注意喚起において、科学的なリテラシーをもたらす知見として本研究結果の成果が活用される見込みである。
- ・ 環境省や自治体により、本研究の計測技術や解析技術を用いて、大気中の粒子状物質の要因解析とその対策のための調査が実施・推進され、今後の環境基準改定などの政策議論へ展開されることが見込まれる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付論文>

- 1) K. ADACHI, N. MOTEKI, Y. KONDO and Y. IGARASHI: J. Geophys. Res., 121, 9153–9164 (2016)
Mixing states of light-absorbing particles measured using a transmission electron microscope and a single-particle soot photometer in Tokyo
- 2) N. MOTEKI, K. ADACHI, S. OHATA, A. YOSHIDA, T. HARIGAYA, M. KOIKE, and Y. KONDO: Nature Communications, 8:15329, 11 pp. (2017)
Anthropogenic iron oxide aerosols enhance atmospheric heating
- 3) M. KAJINO, H. UEDA, Z. HAN, R. KUDO, Y. INOMATA and H. KAKU: Atmos. Environ., 171, 98–110 (2017)
Synergy between air pollution and urban meteorological changes through aerosol-radiation-diffusion feedback —A case study of Beijing in January
- 4) K. ADACHI, A. J. SEDLACEK III, L. KLEINMAN, D. CHAND, J. M. HUBBE and P. BUSECK: Aerosol Sci. Tech., 52:1, 46–56 (2017)
Volume changes upon heating of aerosol particles from biomass burning using transmission electron microscopy
- 5) Y. INOMATA, M. KAJINO, K. SATO, J. KUROKAWA, N. TANG, T. OHARA, K. HAYAKAWA and H. UEDA: Environ. Sci. Technol., 51, 7972–7981 (2017)
Source-receptor relationship analysis of the atmospheric deposition of PAHs subject to long-range transport in Northeast Asia
- 6) H. HAGINO: Aerosol Sci. Tech., 51, 4, 323–326 (2017)
Laboratory evaluation of nanoparticle penetration efficiency in a cylindrical counter flow denuder for non-specific removal of trace gases.
- 7) Fujitani Y., Furuyama A., Tanabe K., Hirano S. (2017) Comparison of Oxidative Abilities of PM2.5 Collected at Traffic and Residential Sites in Japan. Contribution of Transition Metals and Primary and Secondary Aerosols. Aerosol and Air Quality Research, 17, 574–587
- 8) J. CHING, M. WEST, N. RIEMER: Atmosphere, 9, 17, 17 pp. (2018)
Quantifying impacts of aerosol mixing state on nucleation-scavenging of black carbon aerosol particles
- 9) S. OHATA, A. YOSHIDA, N. MOTEKI, K. ADACHI, Y. TAKAHASHI, M. KURISU, M. KOIKE, J. Geophys. Res., 123, 8115–8134 (2018)
Abundance of light-absorbing anthropogenic iron oxide aerosols in the urban atmosphere and their emission sources
- 10) A. YOSHIDA, S. OHATA, N. MOTEKI, K. ADACHI, T. MORI, M. KOIKE, A. TAKAMI, J. Geophys. Res., 123, 11, 194–11, 209 (2018)
Abundance and emission flux of the anthropogenic iron oxide aerosols from the East Asian continental outflow
- 11) 梶野瑞王：大気化学研究, 39, 039A01, 10 pp. (2018)
エアロゾル有害物質の肺沈着における粒径分布、吸湿性、ヒト条件の影響

- 12) K. ONISHI, T. T. SEKIYAMA, M. NOJIMA, Y. KUROSAKI, Y. FUJITANI, S. OTANI, T. MAKI, M. SHINODA, Y. KUROZAWA and Z. YAMAGATA: Environ. Int' l, 117, 48-56 (2018)
Prediction of health effects of cross-border atmospheric pollutants using an aerosol forecast model
- 13) J. CHING, M. KAJINO: Sci. Rep., 8:8864, 11 pp. (2018)
Aerosol mixing state matters for particles deposition in human respiratory system
- 14) K. YUMIMOTO, M. KAJINO, T. Y. TANAKA and I. UNO: Sci. Rep., 9:1209, 7 pp. (2019)
Dust vortex in the Taklimakan Desert by Himawari-8 high frequency and resolution observation
- 15) M. KAJINO, M. DEUSHI, T. T. SEKIYAMA, N. OSHIMA, K. YUMIMOTO, T. Y. TANAKA, J. CHING, A. HASHIMOTO, T. YAMAMOTO, M. IKEGAMI, A. KAMADA, M. MIYASHITA, Y. INOMATA, S. SHIMA, A. TAKAMI, A. SHIMIZU, S. HATAKEYAMA, Y. SADANAGA, H. IRIE, K. ADACHI, Y. ZAIZEN, Y. IGARASHI, H. UEDA, T. MAKI and M. MIKAMI: J. Meteor. Soc. Japan, 97, 337-374 (2019)
NHM-Chem, the Japan Meteorological Agency' s regional meteorology - chemistry model: model evaluation toward the consistent predictions of the chemical, physical, and optical properties of aerosols

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) 藤谷雄二 (2016) 環境技術, 45, 564-570
大気中超微小粒子(ナノ粒子)の測定技術と環境中の挙動.
- 2) 高橋克行, 山田丸, 藤谷雄二 (2016) エアロゾル研究, 31, 298-305
2. 質量濃度測定
- 3) 藤谷雄二: 大気環境学会誌, 52, 1-11 (2017)
燃焼発生源における新たな課題
- 4) 萩野浩之: JARI Research Journal, 1-4 (2017)
「PM_{2.5}発生源寄与度推定におけるPMFやCMBモデル解析の特性理解ー有機エアロゾル質量スペクトルを用いた合成データによる一次粒子と二次粒子の分離ー」
- 5) 萩野浩之, 梶野瑞王, 大畑昌輝, 藤谷雄二: 第48回大気環境学会年会講演要旨集, 365 (2017)
「一次粒子および二次粒子の酸化能に関する文献調査」
- 6) 藤谷雄二 (2017) エアロゾル研究, 32, 150
特集にあたって: エアロゾルの毒性評価~曝露手法を中心に~.
- 7) 藤谷雄二 (2017) エアロゾル研究, 32, 151-156
種々のエアロゾル曝露実験手法によるスケールの違いと沈着量の推定.
- 8) 萩野浩之: JARI Research Journal, 1-4 (2018)
「誘導結合プラズマ飛行時間型質量分析計を用いたリン、硫黄、ハロゲン元素の同時測定」
- 9) 須藤菜那, 萩野浩之: 第49回大気環境学会年会講演要旨集, 318 (2018)
「越境汚染地域における有機トレーサー成分の季節変動と特性」
- 10) K. HAYAKAWA, S. NAGAO, Y. INOMATA, M. INOUE and A. MATSUKI Eds.: Trans-boundary pollution in North-East Asia, NOVA Science Publishers, 147-166 (2018)
“Chapter 6. Model simulation of atmospheric aerosols (M. KAJINO)”
- 11) 梶野瑞王: 安全工学, 57, 433-441 (2018)

大気エアロゾルの環境動態シミュレーション

(2) 主な口頭発表 (学会等)

- 1) 藤谷雄二 : 第 57 回大気環境学会年会 (2016)
ナノ粒子をはじめとするエアロゾルの測定およびエアロゾル化手法の開発
- 2) 古山昭子, 藤谷雄二, 平野靖史郎 : 第 57 回大気環境学会年会, 430 (2016)
ディーゼル排気由来二次有機エアロゾル(SOA)の細胞毒性比較
- 3) 大畑昌輝 : 日本分析化学会第 65 年会 (2016)
微粒子化・ガス交換・ICPMS を用いた気中極微量ガス状元素化合物の直接分析
- 4) 梶野瑞王, 五十嵐康人, 財前祐二, 足立光司, 関山剛, 大畑昌輝, 藤谷雄二, 古山昭子, 萩野浩之 :
2016 年福岡から診る大気環境研究所研究会 (2016)
観測・モデルを併用した粒子酸化能研究の立ち上げ
- 5) K. ONISHI, T. T. SEKIYAMA, M. NOJIMA, Y. KUROSAKI, S. OTANI, Y. KUROZAWA, M. SHINODA, Z. YAMAGATA:
28th Annual Conference International Society For Environmental epidemiology (ISEE), Rome, Italy
(2016)
Health effects of cross-border atmospheric pollutants can be predicted by using an aerosol
forecast model
- 6) M. KAJINO, K. SATO, T. KITADA, H. UEDA: 19th Export Meeting for Long-range Transboundary Air
Pollutants in Northeast Asia, Seoul, Korea (2016)
Modeling study on LTP in northeast Asia: Japan
- 7) 萩野浩之, M. TANNER, O. BOROVINSKAYA, 疋田利秀, 下野彰夫 : 自動車技術会学術講演会 (2017)
自動車排出粒子に含まれる潤滑油、摩耗、揮散性元素のリアルタイム計測へ向けた ICP-TOFMS 技術の
応用
- 8) 梶野瑞王 : 数学・気象学連携ミーティング(2017)
エアロゾル動力学の数値解法
- 9) 梶野瑞王, 五十嵐康人, 財前祐二, 足立光司, 関山剛, Joseph Ching, 大畑昌輝, チョン千香子, 藤
谷雄二, 古山昭子, 萩野浩之, 須藤菜那, 猪股弥生, 大西一成, 亀田貴之 : 2017 年度福岡から診る大
気環境研究所研究会 (2017)
粒子酸化能と遷移金属に関する観測的および数値的研究
- 10) 藤谷雄二, 古山昭子 : 2017 年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2017)
つくばにおける呼吸器炎症に関連する粒子酸化能評価に関する研究
- 11) 足立光司 : 第 35 回エアロゾル科学・技術研究討論会 (2018)
大気エアロゾルの環境管理・改善に関する研究最前線
- 12) 梶野瑞王, 足立光司, Joseph Ching, 木名瀬健, 関山剛, 財前祐二, 五十嵐康人, 大畑昌輝, チョン
千香子, 藤谷雄二, 古山昭子, 萩野浩之, 須藤菜那, 大西一成, 亀田貴之, 猪股弥生, 原圭一郎, 西
田千春, 林政彦 : 第 59 回大気環境学会年会 (2018)
粒子酸化能に関する観測的および数値的研究
- 13) 西田千春ほか : 2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2019)
春季の福岡市のエアロゾルの酸化能 : 黄砂の影響
- 14) 大畑昌輝 : 2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2019)

ICPMS を用いた大気環境リアルタイムモニタリングの可能性

- 15) チョン千香子、大畑昌輝：2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会（2019）

粒子酸化能の変動を掴む全自動測定装置の開発

- 16) H. Hagino：Asian Aerosol Conference 2019（2019）

「Rapid and sensitive direct analysis of multi-elements in aerosol by ICP-TOFMS」

- 17) 梶野瑞王、Joseph Ching、足立光司、財前祐二、関山剛、木名瀬健、五十嵐康人、萩野浩之、森川多津子、藤谷雄二、古山昭子、大畑昌輝、チョン千香子：2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会（2019）

金属由来の酸化能に関する観測的および数値的研究

7. 研究者略歴

研究代表者：梶野 瑞王

京都大学理学部卒業（主に数学専攻）、博士（理学）（京都大学）、気象研究所 環境・応用気象研究部主任研究官（平成31年4月に改組で現在、全球大気海洋研究部主任研究官）

研究分担者：

- 1) 五十嵐 康人

筑波大学生命第一学群自然学類卒業、理学博士（筑波大学）、気象研究所 環境・応用気象研究部 第四研究室長（平成30年3月に退官、茨城大学、筑波大学を経て、現在、京都大学複合原子力科学研究所教授）

- 2) 財前 祐二

気象大学校卒業、理学博士（名古屋大学）、気象研究所 予報研究部 第四研究室長（平成31年4月に改組で現在、気象予報研究部第五研究室長）

- 3) 足立 光司

神戸大学発達科学部卒業、博士（理学）（神戸大学）、気象研究所 環境・応用気象研究部 主任研究官（平成31年4月に改組で現在、全球大気海洋研究部主任研究官）

- 4) 大畑 昌輝

中央大学理工学部卒業、博士（工学）（中央大学）、産業技術総合研究所 計量標準総合センター 物質計測標準研究部門 無機標準研究グループ長

- 5) 藤谷 雄二

北海道大学工学部卒業、博士（工学）（北海道大学）、現在、国立環境研究所環境リスク・健康研究センター 統合化健康リスク研究室 主任研究員

- 6) 古山 昭子

新潟大学理学部卒業、学術博士（東京大学）、現在、国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター 統合化健康リスク研究室 室長

- 7) 萩野 浩之

埼玉大学理工学部卒業、博士（学術）（埼玉大学）、現在、日本自動車研究所 エネルギー・環境研究部 主任研究員

II. 成果の詳細

II-1 原因物質と粒子酸化能のモデル予測に関する研究

気象庁気象研究所

(サブテーマ代表者)

全球大気海洋研究部第三研究室

梶野瑞王

(研究分担者)

全球大気海洋研究部第三研究室

足立光司

気象予報研究部第五研究室

財前祐二

(研究協力者)

全球大気海洋研究部第三研究室

関山剛、Joseph Ching、木名瀬健

京都大学複合原子力科学研究所

五十嵐康人

金沢大学環日本海環境研究センター

猪股弥生

京都大学工学研究科

亀田貴之

聖路加国際大学公衆衛生大学院

大西一成

福岡大学理学部

林政彦、原圭一郎、西田千春

[要旨]

遷移金属の排出インベントリと予測モデルを構築した。遷移金属由来の酸化能を基準とした新ハザードのモデル予測可能性を示した。新ハザードへの寄与率の高い発生源は、主にブレーキと鉄鋼業（全体の8割程度）、次いで船舶、発電、焼却炉などであった（それぞれ1割程度）。新ハザードの時空間分布を示し、従来ハザード（PM_{2.5}）との相違を明らかにした。新ハザードについては、微小粒子だけでなく粗大粒子の重要性も示唆された。全サブテーマと連携して計4回の集中観測を実施した。本サブテーマでは、電子顕微鏡観察により、主要遷移金属の一つである酸化鉄の発生源と微視的特性を明らかにした。

1. はじめに

PM_{2.5} 環境基準の実施に伴い、曝露・リスク評価が喫緊の課題となっている。他方、PM_{2.5} は重量濃度で定義されるが、実際は多様な成分組成、粒径分布を持ち、それらは大気中で時々刻々変化する。従って、PM_{2.5} 重量が同じでも気塊の由来が異なると粒子の化学・物理特性が異なり、その結果、毒性や気道沈着率が変わるため、リスクも異なると予想される。つまり PM_{2.5} は健康への影響を知るための代理的な指標（Proxy）であり、リスク発生の本態ではない。国内の PM_{2.5} は年平均濃度が概ね減少傾向にあるものの、環境基準の達成率は平成24年度において、一般環境大気測定局で43%、自動車排出ガス測定局で33%と低い状況にある（中央環境審議会大気・騒音振動部会微小粒子状物質等専門委員会）。さらなる PM_{2.5} 削減対策が必要であるが、本質的には毒性を加味した効果的な削減対策が望ましい。米国の先行研究では、緊急搬送患者に対し、PM_{2.5} よりも PM_{2.5} の酸化能を指標とした場合にリスク比が高くなることが報告されており（Bates et al., 2015）、PM_{2.5} に代わる新指標として注目されている。酸化能が高くなる要因は、PM_{2.5} 成分では、無機元素（特に遷移金属である Cu、Fe）が主要であるとの報告（Charrier and Anastasio, 2012）や、有機物（水溶性/非水溶性、ホパン類）や元素状炭素（EC）などの炭素成分による影響の報告（Saffari et al., 2014）もある。しかし、これらのことは国内において十分な知見があるとは言えない。

2. 研究開発目的

本全体研究課題では、欧米を中心に健康有害指標の一つとして着目され研究が盛んになっている粒子の酸化能に着目し、現場大気観測で、PM_{2.5}と呼吸器疾患の因果関係に化学・物理・生物学的視点から迫り、さらに数値モデルを活用して空間的、時間的な変動を調べ、重量濃度をベースとした従来ハザードとは異なる新たなハザードを提案することを目的とする。そのために、PM_{2.5}酸化能を連続自動測定できる装置を新規開発し、また高い酸化能を持つとされている金属や有機物（酸化ストレス原因物質とここでは呼ぶ）の同時測定を実施する。加えて細胞曝露実験および因子分析を活用し、発生源－原因物質－酸化能－酸化ストレスを定量的に関連付け、新ハザード（気道に沈着した原因物質が肺胞上皮細胞に与える酸化ストレス）として新たに定義づける。上記知見を集積した3次元化学輸送・気道沈着結合モデルを用いて、新ハザードの発生源別寄与率と時空間変動を明らかにする。そして、観測・モデル両面から従来ハザード（すなわちPM_{2.5}）との相違を明らかにする。

本サブテーマでは、モデル開発、集中観測の環境整備、また集中観測時には主に電子顕微鏡による個別粒子分析を実施することで、他のサブテーマと連携して、上記研究の最終的な取り纏めを行うことを目的としている。

3. 研究開発方法

(1) エアロゾル健康影響の新ハザード H

本研究では、新ハザード H を下記の式で定義する。

$$H = s \left(\sum_i r_i \iint \chi_i f(D, \kappa) C_i(D, \kappa) dD d\kappa \right) \quad (1-1)$$

ここで、 i は酸化ストレス原因物質（金属、有機物）を示し、 D, κ はそれぞれ、原因物質を運ぶエアロゾルの粒径と吸湿性を示す。また、 s : 酸化ストレスと酸化能の関係、 r : 原因物質の単位質量あたりの酸化能（比酸化能）、 χ : 溶解度、 f : 気道沈着率、 C : 大気濃度である。

新ハザード H は数値モデルと屋外観測の双方から算出できる。また、水溶性、脂溶性、それぞれに定義できる。 H の有用性は、疫学指標が従来ハザード PM_{2.5} に比べて新ハザード H とより高い相関を持つことを示して初めて証明出来る。しかし、本研究課題では、PM_{2.5} に比べてより本質的なハザードを模索し、それを従来ハザードと比較して違いを明らかにすることまで、を目的としている。本研究課題と疫学研究との密接な連携については今後の最重要課題である。

式 1-1 は、本課題のサブテーマ間連携も表している。 s は、サブテーマ 3（以後サブ 3）が、環境試料や試薬実験などから明らかにする。 r と χ は、サブ 2、3、4 が協力して環境計測と試薬実験をベースに明らかにする。 f はサブ 1、3 が協力して電子顕微鏡分析と気道沈着モデルから導出する。 C は、全サブグループが協力して観測する。数値モデル開発はサブ 1、4 が実施する。

(2) 領域エアロゾル化学輸送・気道沈着結合モデルの開発（サブ 3 と共同）

本研究では、遷移金属の担体となるエアロゾルの粒径分布と化学組成の空間分布を計算し、また粒径分布と吸湿特性に依存した気道沈着率を計算するために、気象庁領域気象化学モデル NHM-Chem (Kajino et al., 2019a) と気道内の吸湿成長を考慮した気道沈着モデル (Ching and Kajino, 2018) をオフラインで結合した。NHM-Chem は約 60 種の化学種間の 200 程度の対流圏の光化学反応に伴う酸化反応とガスから粒子相への移行過程を扱っており、また粒子の動力学過程（均一核形成、凝縮、ブラウン凝集過程）をモーダルモーメン

ト法を用いて陽に計算している。エアロゾルの表現には、米国環境保護庁 (EPA) のコミュニティモデル CMAQ とは異なり、発生源ごとにエアロゾルを分けている。CMAQ はエイトケンモード、累積モード、粗大モードの、3つの粒径カテゴリで表現する (以下3カテゴリ法)。しかし、すす粒子や黄砂など、いずれも高い酸化能を示す重要物質で、発生時には疎水性であるにも関わらず、3カテゴリ法では親水性物質と直ちに内部混合するため、湿性除去されやすくなる。そこで NHM-Chem は、累積モードをすす粒子モードとそれ以外の2種類に分類し、粗大モードを海塩モードと鉱物ダストモード (黄砂と人為起源ダストも含む) に分類する5カテゴリ法を採用している。

本研究では、越境汚染と都市汚染を同時に扱うが、計算機資源の問題で、都市汚染を精度良く扱うことが出来るスケール (たとえば $\Delta x = 5 \text{ km}$) で越境汚染を扱う領域 (東アジア領域) をカバーすることは難しい。そこで図 1-1 に示す通り、総観規模の輸送現象 (移動性擾乱、前線に伴う輸送) を再現するために東アジア領域を $\Delta x = 30 \text{ km}$ で解像する親ドメイン (以下 D01) と西日本から関東領域をカバーする $\Delta x = 6 \text{ km}$ の子ドメイン (以下 D02) を用意するネスティング手法を用いて本問題に対処する。境界条件、またスペクトルナッジングに用いる気象解析値には、D01 は気象庁全球再解析 JRA-55、D02 は気象庁メソ解析 MANAL を用いた。計算結果は 2013 年の 1 年間である。

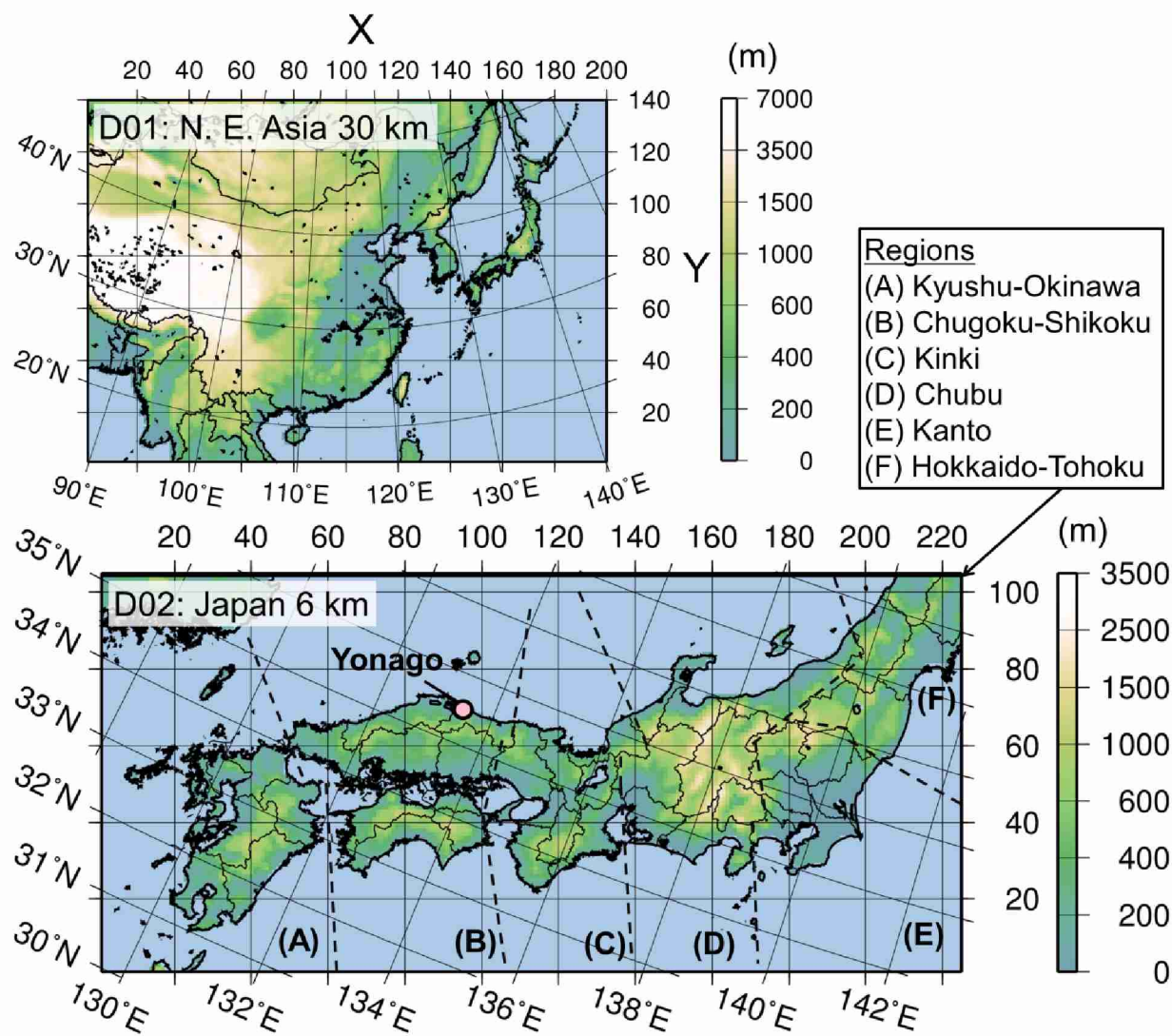


図 1-1 本推進費用の計算に用いた NHM-Chem のネスティング格子 (左 D1: $\Delta x = 30 \text{ km}$ 、右 D2: $\Delta x = 6 \text{ km}$)。シェードはモデル標高を示している。領域は、発生源解析の分類 (後述) に利用した。

(3) 遷移金属のインベントリ (サブ4、金沢大、京都大と共同)

遷移金属のエミッションインベントリは、US-EPA の PM プロファイル (元素ごとの質量含有率) データベース SPECIATE v4.4 を利用した。SPECIATE は膨大な文献調査に基づいて個別発生源ごとの PM_{2.5} や PM₁₀ の成分組成を集積したデータベースである。これに PM_{2.5} および PM₁₀ のセクターごとの発生量に、SPECIATE で得られるセクター内の個別発生源全てのプロファイルの最大値、平均値、最小値を掛け合わせる形で、金属の発生量を算出した。対象とした物質は、Charrier and Anastasio (2012) で得られた、粒子酸化能への寄与率の高い順に 10 種 (Fe, Cu, Mn, Pb, V, Zn, Co, Ni, Cd, Cr) と、その PM_{2.5}/PM₁₀ 分配である。人為起源 PM_{2.5} および PM₁₀ の発生量は東アジア領域については REASv2、日本領域については JATOP データ (JEI-DB) を主に利用し、JEI-DB に整備されていないタイヤ磨耗、ブレーキ、船舶については EAGrid、鉄道については東京都調査 (TMG-survey: 関東 6 県のみ) を利用した。REASv2 のセクターは 48 種類 (6 種類の発生源 (家庭、工場、移動 (道路上)、移動 (道路外)、発電所、大規模発生源) と 8 種類の燃料 (バイオ燃料、石炭、コークス、天然ガス、重油、ガソリン、軽油、それ以外) の掛け合わせ) である。JEI-DB のセクターは 44 種類である。キノンは、その前駆物質である多環芳香族炭化水素 (PAH) について、REASv2 の燃料消費量に文献調査で得られた排出係数をかける形で整備した。

燃料消費量の統計データに排出係数を掛け合わせて積み上げる、REASv2, JEI-DB, EAGrid などのボトムアップインベントリに対して、既にボトムアップで構築された PM_{2.5}, PM₁₀ の排出量にプロファイルデータを掛け合わせて導出する本手法をセミボトムアップ法と定義した。

(4) 疫学調査結果のモデル予測可能性評価 (聖路加国際大学との共同)

大気汚染物質と黄砂の越境汚染と健康影響の関連を調べるため、2011 年に鳥取県米子市において実施された自覚症状調査結果と、数値モデル (気象庁全球エアロゾルモデル MASINGAR ; NHM-Chem の外部境界条件として使用) による予測結果を比較し、健康影響がモデルで予測可能なものかどうかを評価した。自覚症状は 200 名の健常者を対象にアプリまたは紙を用いたアンケート調査により収集し、鼻、のど、目、呼吸器、肌、発熱、頭痛、ストレスの各自覚症状スコアについて 6 段階で回答する方式とし、日ごとの結果を得た。

(5) 集中観測の実施 (サブ1 からサブ4、および、福岡大と共同)

越境汚染を監視するために福岡大学理学部キャンパスと、国内都市汚染を監視するためにつくば市を選び、つくば市で PM_{2.5} 濃度が高くなる冬季と夏季、および福岡市で PM_{2.5} 濃度が高くなる冬季から春季にかけて集中観測を実施した。本推進費のサブ研究機関はいずれもつくば市内に位置するため、それぞれの所内で観測を行うことで集中観測が実現できる。移設の費用がかからず、さらに国環研の大気環境データ、気象研の気象要素データなど他の常時監視項目も利用できることから、つくば市での集中観測は費用対効果が高い。

平成 28 年度においては冬季つくば市での集中観測を実施し、環境省へ通知している PM_{2.5} 成分測定を試料捕集期間 (コア期間 2017 年 1 月 23 日から 30 日) を含む 3 週間程度とした。気象研では、電子顕微鏡用の試料採取を定期的実施し、また常時測定項目の一つでもある偏光 OPC の連続測定を行った。また、つくば市での観測と同期して、関西地方における都市汚染の実態を把握するために、ジェイサイエンスラボ社 (京都市南区) において ICP-MS 観測とフィルタ採取を実施し、国環研および京都大学と協力して、PM_{2.5} の金属と粒子酸化能、キノン類の観測を追加で行った。平成 29 年度は、夏季つくば市 (コア期間 2017 年 7 月 20 日から 8 月 9 日) と冬季福岡市 (コア期間 2018 年 1 月 18 日から 2 月 7 日)、平成 30 年度は、春季福岡市 (コア期間 2018 年 5 月 10 日から 5 月 30 日) で集中観測を実施した。夏季つくば市では、電顕観測、偏光 OPC 観測を実施し、冬季および春季福岡市では、電顕観測と ICP-MS 観測を実施した。

4. 結果及び考察

(1) 金属インベントリの開発 (Transition Metals Inventories v1.0)

本研究で開発したアジア域および日本域の遷移金属のインベントリをそれぞれ Transition Metals Inventory (TMI)-Asia (v1.0)、TMI-Japan (v1.0) とした (Kajino et al., 2019b)。比酸化能の高い 5 種の遷移金属の年間総放出量のマップを図 1-2 に示す。上から、TMI-Asia による人為起源, TMI-Japan による人為起源, 鉱物ダスト由来の遷移金属を示し、左から PM₁₀ の Cu, Mn, Fe, V, Ni である。それぞれの総放出量を表 1-1 に示す。

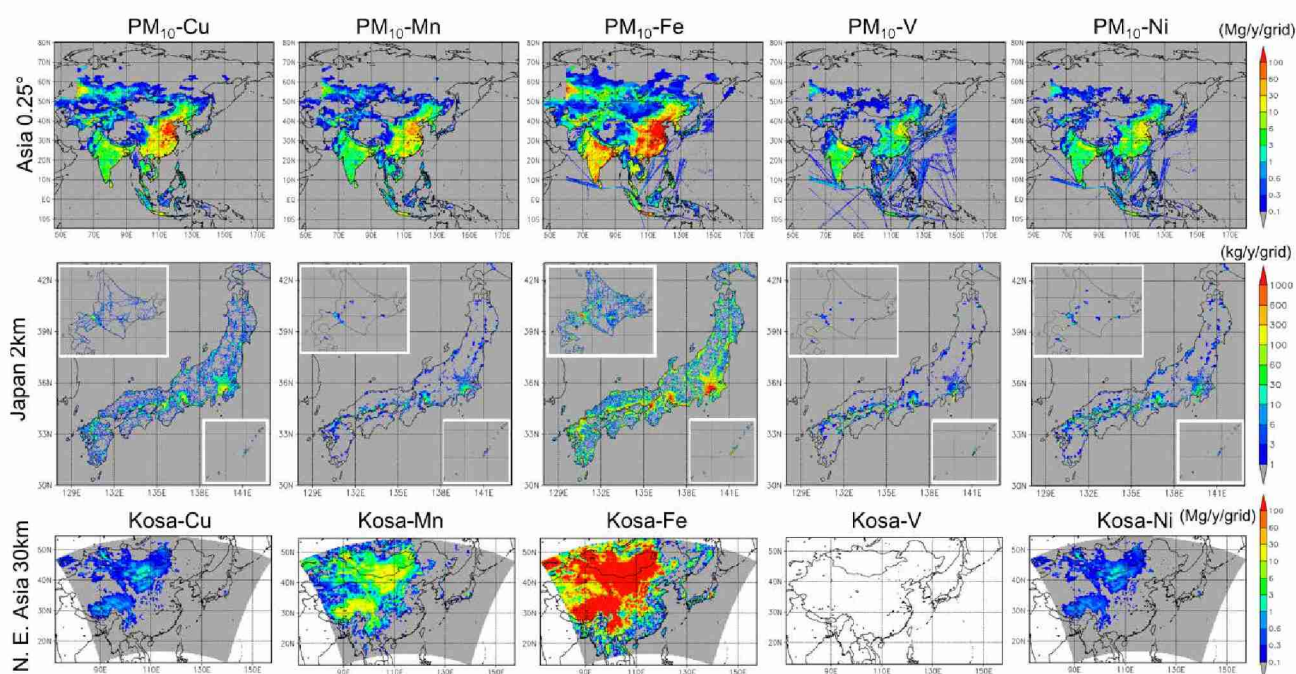


図 1-2 PM₁₀ 中の遷移金属の年間放出量 (左から右) Cu, Mn, Fe, V, Ni (上から下) アジア領域の人為起源 (TMI-Asia v1.0; 0.25° × 0.25°, 基準年 2008; Mg y⁻¹ grid⁻¹), 日本国内の人為起源 (TMI-Japan v1.0; 2 km × 2 km, 基準年 2010; kg y⁻¹ grid⁻¹), D01 の鉱物ダスト由来 (ランベルト座標系; 30 km × 30 km, 計算年 2013; Mg y⁻¹ grid⁻¹).

表 1-1 本研究で開発した遷移金属のエミッションインベントリの総計

	TMI-Asia ^a	TMI-Japan ^b	Mineral dust ^c
領域	Total / D01 / Japan ^d	Japan	D01
単位	Gg y ⁻¹	Gg y ⁻¹	Gg y ⁻¹
Cu	233 / 187 / 0.562	0.643	2.18
Mn	130 / 106 / 0.303	0.891	43.4
Fe	904 / 668 / 2.26	7.95	2,460
V	72.3 / 49.8 / 0.212	0.414	0.0
Ni	75.9 / 52.4 / 0.185	0.382	1.86

^a 人為起源 PM₁₀、基準年は 2008

^b 人為起源 PM₁₀、基準年は 2010

^c 計算年 2013 の集計

アジア領域全体での Fe の人為起源年間総排出量は 904 Gg y^{-1} を最も大きく、うち 70%程度が D01 領域であった (670 Gg y^{-1})。一方、鉱物ダスト由来の Fe は D01 領域では人為起源の 3.5 倍ほど大きく、 $2,460 \text{ Gg y}^{-1}$ であった。日本からの排出量はアジア全体の約 2.5%程度 (2.26 Gg y^{-1}) であったが (TMI-Asia の推計)、インベントリ間で 3.5 倍の開きがあった (TMI-Japan の推計では 7.95 Gg y^{-1})。次に大きいのは Cu と Mn で、アジア全体での人為起源放出量はそれぞれ 233 Gg y^{-1} , 130 Gg y^{-1} であった。しかし、Cu の計算結果は大幅に過大評価したため、二番目に大きいのは Mn かもしれない。V と Ni の放出量はほぼ同程度であった (約 70 Gg y^{-1})。領域別の発生量割合 (すなわちアジア領域/ D01 領域 / 日本比) は、すべての遷移金属で同程度であった。TMI-Japan の推計は、一般的に TMI-Asia の国内推計値に比べてやや大きかったが、整合的であった。Mn は鉱物起源に比べて人為起源は 2.4 倍程度大きく、Cu, V, Ni については鉱物起源に比べて人為起源が圧倒的に大きかった。

(2) 構築したインベントリの観測とモデルによる評価

D01 計算の下部境界条件には REASv2 ベースの TMI-Asia (v1.0) を、D02 には JEI-DB/EAGrid/TMG-survey ベースの TMI-Japan (v1.0) を用いているため、それぞれの計算結果を観測結果と比較することにより、それぞれのインベントリの評価を行うことができる。

図 1-3 に、それぞれ環境省の全国 $\text{PM}_{2.5}$ 調査 (季節ごと 2 週間の日間値) における $\text{PM}_{2.5}$ 中の Cu, Mn, Fe, V, Ni の観測結果と、サブミクロンカテゴリの計算値との比較図を示した。赤、緑、青はそれぞれ SPECIATE の排出係数の最大値、平均値、最小値を与えた場合の結果である。この図は本手法でのインベントリ推計の成功を示している。それはすなわち、観測値はモデルの最大値と最小値の間に存在すること、また平均値を利用したものが観測に最も近いこと、からである。観測との比較統計値を表 1-2 に示した。表は、年間平均値 (すなわち 8 週間平均値 : 各季節から 2 週間分のデータを集めたもの) の比較のみを表しており、すなわちモデル空間分布の整合性を評価するものである。最も相関係数が高かったのは V であり $R=0.86$ (0.52) であった (R の値は D02 の結果を示す。括弧内の値は D01 の結果)。その次に Fe と Ni が高く、それぞれ $R=0.52$ (0.64)、 $R=0.42$ (0.48) であった。Cu と Mn はそれぞれ $R=0.0$ (0.23), $R=0.086$ (0.31) と、いい空間相関は見られなかった。とはいえ、観測地点によっては、8 週間の間に輸送イベントのピークをモデルと観測が捉えられた場合には時間相関がみられ、例えば新潟県新発田市のサイト (地点 ID: 115206001) では Cu の時間相関は $R=0.86$ であった。いずれにせよ、Cu と Mn の排出係数は改善の必要性が示された。モデルと観測の中央値比 ($Sim:Obs$) については、Mn と Fe の再現性はもっとも良く、 $Fa2$ と $Fa5$ (モデル値が観測値のそれぞれファクター 2, 5 以内に入る割合) はそれぞれ 80%, 90% であった。Cu, V, Ni は、 $Sim:Obs$ について過大評価であったが、70-90% はファクター 5 以内に収まった (D01 の Cu を除いて)。

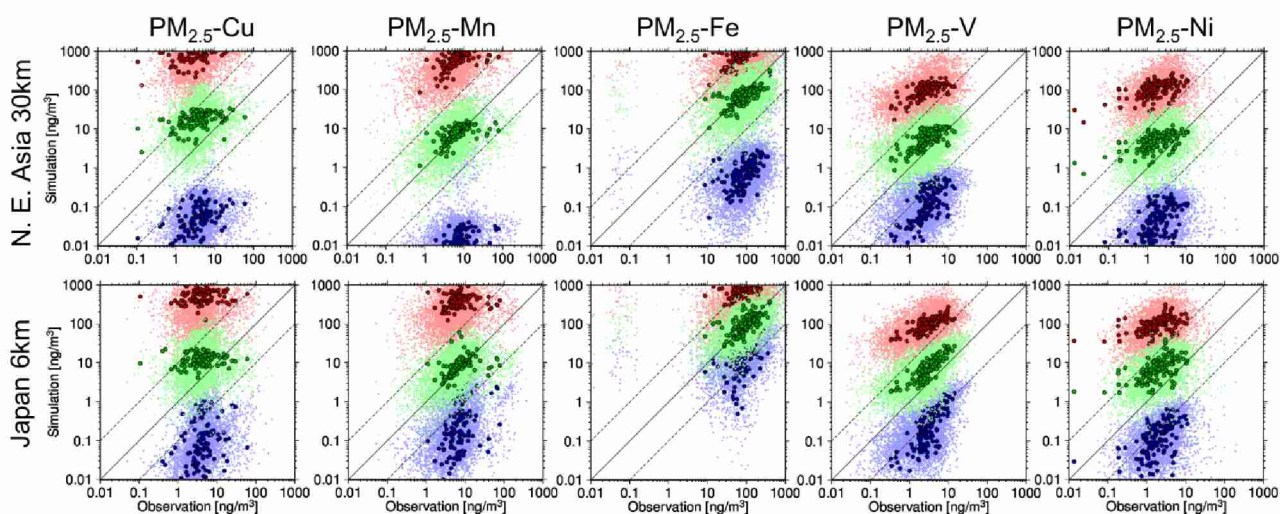


図 1-3 環境省全国 PM_{2.5} 調査の観測値とモデル値の比較。(左から右) Cu, Mn, Fe, V, Ni。(上) REASv2 ベースの TMI-Asia (v1.0)を用いた D01 の結果、(下) JEI-DB/EAGrid/TMG-survey ベースの TMI-Japan (v1.0)を用いた D02 の結果。赤、緑、青はそれぞれ SPECIATE プロファイルの最大値、平均値、最小値を用いたもの。薄い色の小さいドットは日間値、濃い色の大きい丸印は年間値 (2 週間×4 季節) を示す。実線は 1:1、破線はファクター10 の境界値を示す。

表 1-2 環境省全国 PM_{2.5} 調査の観測値とモデル値の比較統計値。SPECIATE プロファイルの平均値を利用した、年平均値 (2 週間×4 季節) での比較結果である (つまり、図 1-3 の濃い緑の丸印のもの)。数値は D02 の結果であり、カッコ内に D01 の結果を示す。

	N^a	Obs. Med. ^b	Sim:Obs ^c	R^d	$Fa2^e$	$Fa5^f$
Unit		ng m ⁻³	-	-	-	-
Cu	120 (127)	3.86 (3.75)	3.3 (5.4)	0.0 (0.23)	0.20 (0.11)	0.78 (0.48)
Mn	121 (130)	6.96 (6.72)	1.2 (1.3)	0.086 (0.31)	0.83 (0.82)	0.92 (0.96)
Fe	133 (142)	94.4 (90.6)	1.1 (0.85)	0.52 (0.64)	0.86 (0.82)	0.96 (0.98)
V	138 (147)	2.77 (2.74)	2.6 (2.1)	0.86 (0.52)	0.29 (0.46)	0.97 (0.94)
Ni	135 (144)	1.75 (1.71)	3.7 (3.1)	0.42 (0.48)	0.16 (0.26)	0.67 (0.79)

^a データ数 (モデル領域内の観測地点数と同じ)

^b 観測値の中央値

^c 計算値と観測値の中央値比

^d 相関係数

^e 計算値が観測値のファクター2 に入る割合

^f 計算値が観測値のファクター5 に入る割合

(3) 酸化能の予測可能性と、新ハザード H ver1.0

酸化能のモデル予測可能性を示すために、遷移金属元素のみから積み上げた酸化能 (OP_{tm}*) を下記の通り定義し、観測とモデル (D02 のみ) で比較した。

$$OP_{tm}^* = \sum_i r_i \times \chi_i \times C_i \times f_i, \quad (1-2)$$

ここで r_i , χ_i , C_i , f_i はそれぞれ比酸化能 (単位金属元素あたりの DTT 消費量)、溶解度、大気濃度、モデルバイアス補正係数を示す。i は遷移金属であり、Cu, Mn, Fe, V, Ni の 5 種類で積み上げた。酸化能の測定は実験

設定等で大きく変化するため、 r_i には Charrier and Anastasio (2012)と、本研究 (Fujitani et al. (2017)と本研究)の結果から得た2種類を導出し、それぞれ $OP_{tm}^*(CA)$ 、 $OP_{tm}^*(F)$ とする。比酸化能は、実験や金属によって線形関数もしくは指数関数で与えられているが本研究では原点をゼロとした線形の回帰関数で与えた。サブ3で詳述される通り、酸化能は水溶性、脂溶性の両方で定義できる。本研究では、先行研究(Charrier and Anastasio, 2012; Fujitani et al., 2017)に則り、水溶性のみで定義した。エミッションインベントリに溶解度の情報は存在しないため、Okuda et al. (2007)の結果を用いて定数として与えた。観測結果から積み上げた OP_{tm}^* に対する補正係数 f_i は1だが、モデル結果から積み上げた OP_{tm}^* に対しては、(2)節で示した環境省全国 $PM_{2.5}$ 調査結果の $Sim:Obs$ の逆数で与えた。 OP_{tm}^* の予測可能性は米子市のTSP観測結果で評価するため、 f_i はそれとは独立した観測結果から得られたものを用いるため問題ない。式1-2で仮定した係数の値を表1-3に示した。

表 1-3. $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ を導出するために式 1-2 で用いた係数一覧

	r_i for $OP_{tm}^*(CA)$	r_i for $OP_{tm}^*(F)$	χ_i	f_i
Unit	$\mu\text{M- DTT min}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$	$\mu\text{M- DTT min}^{-1} \mu\text{M}^{-1}$		
Cu(II)	1.80	7.69	0.66	0.303
Mn(II)	0.720	0.398	0.54	0.833
Fe(*) ^a	0.0361	0.616	0.23	0.909
V(V)	0.101	0	0.90	0.385
Ni(II)	0.106	4.08	0.73	0.270

^aFe(II)とFe(III)は定量存在すると仮定して、 r_i はFe(II)とFe(III)の平均値を与えた。

後述の通り、金属の気道沈着率はイベントによって大きく異なる可能性(1 μm 付近ではブラウン運動も慣性もあまり効かず約10%で横ばい)、酸化能(DTTアッセイ)と酸化ストレス(HO-1アッセイ)の関係には総じて良い正の相関関係が見られる点を合わせると、式1-1の s と f 、またその D 、 κ 依存項を無視することが出来るため、式1-2で定義された OP_{tm}^* は新ハザード H とみなせる。本研究ではこの OP_{tm}^* を新ハザード $H(ver.1)$ とし、その時空間分布や従来ハザード $PM_{2.5}$ との違いを以下に示していく。

以後、観測結果から積み上げた OP_{tm}^* とモデル結果から積み上げた OP_{tm}^* はそれぞれ OP_{tm}^* 観測値、 OP_{tm}^* 計算値と表す。図1-4に2013年3月から12月までの米子市で得られた OP_{tm}^* 観測値(TSP)と OP_{tm}^* 計算値(PM_{10})の日間値を示した。また、人為起源割合、微小粒子割合、国内寄与率を示し、また $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の金属元素寄与率を示した。表1.4に観測とモデルの比較統計値を示した。

表1-4に示す通り、主要物質であるCuの再現性があまり良くなかったにも関わらず、 OP_{tm}^* は、独立した観測データ(環境省全国 $PM_{2.5}$ 調査)により補正された数値モデルによって、十分予測可能であることが示された。ちょうどマルチモデルアンサンブルが個々のモデルの不確定性を相殺できるように、式1-2による総和が元素ごとのモデル予測不確定性を相殺したと考えられる。個々の元素の比酸化能 r_i や粒子全体によるDTT消費量は実験によって大きくことなるため、 $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の中央値は1桁ほど異なった。現在、DTT消費量の相互比較プロジェクトが進められている。そのため现阶段では、 OP_{tm}^* の絶対値自体にそれほど大きな意味があるわけではなく、その時空間変化がむしろ重要である。 OP_{tm}^* に対する元素寄与率は、観測とモデルで整合的であったが、 $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ で大きく異なった。いずれもCuが主要であるが $OP_{tm}^*(CA)$ がMnとFeが次いで重要となるのに対し、 $OP_{tm}^*(F)$ ではFeとNiであった。絶対値の時間変化と同様に、人為起源寄与率、微小粒子寄与率、国内寄与率についても $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ では大きな違いは見られなかった。越境汚染の割合は寒候期に高くなり、春季に黄砂の割合が高くなり、 $PM_{2.5}$ に比べて PM_{10} は大気寿命が短いと、微小粒子割合と国内寄与率は逆相関となる様子が見られた。

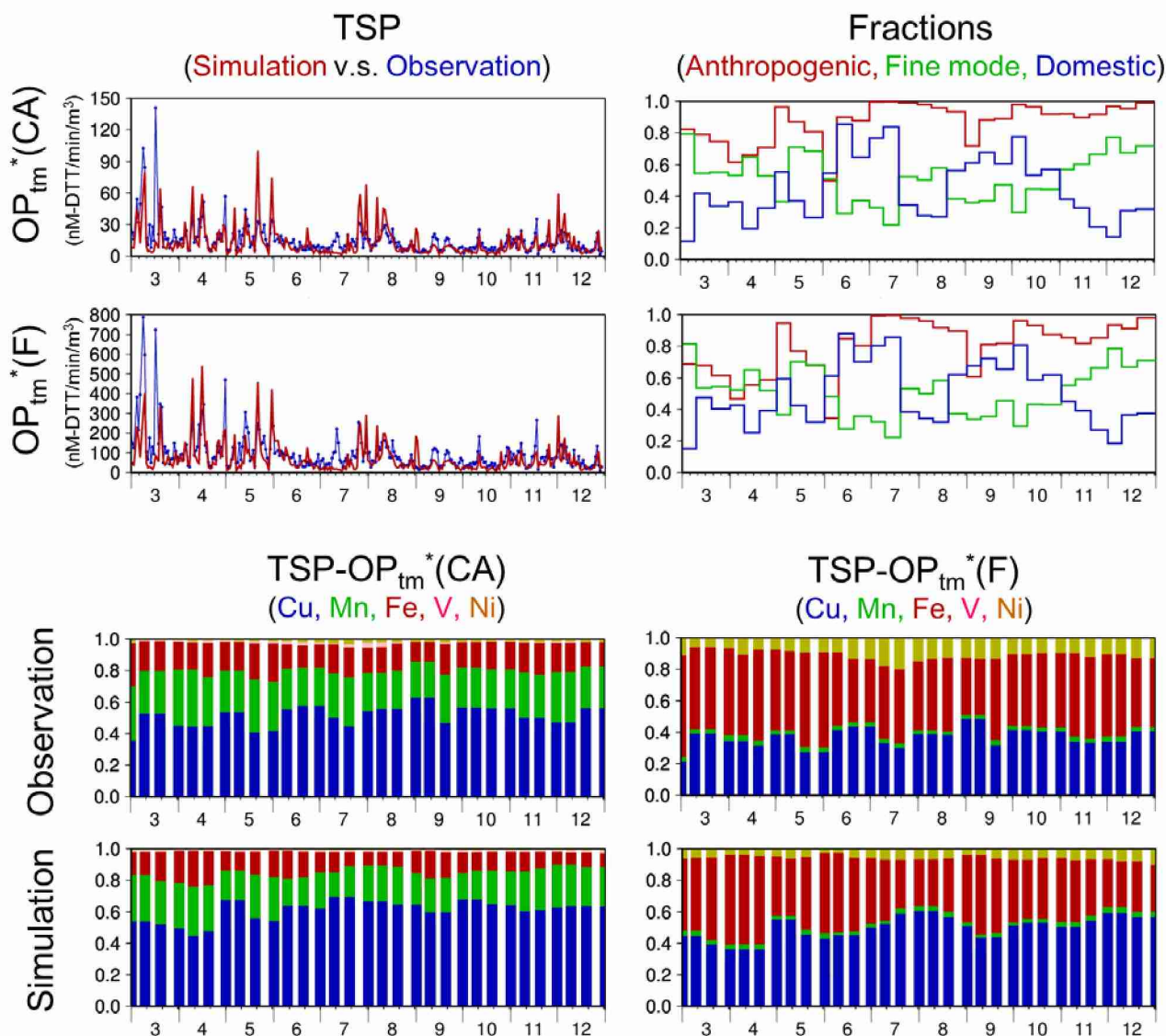


図 1-4 2013 年 3 月から 12 月までの米子市での時系列。観測値は TSP、計算値は PM_{10} 。(左上) $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の (赤) 観測値と (青) 計算値 (D02) の日間値。(右上) (赤) 人為起源割合、(緑) 微小粒子割合、(青) 国内割合の 10 日平均値。(左下) $OP_{tm}^*(CA)$ の観測値と計算値における金属元素の寄与率の 10 日平均値。(右下) 左下と同じだが、 $OP_{tm}^*(F)$ 。

表 1-4. 表 1-2 と同じ、ただし、米子市における $TSP-OP_{tm}^*$ に関するもの。計算値は D02 のみを示す。

	<i>N</i>	Obs. Med.	<i>Sim:Obs</i>	<i>R</i>	<i>Fa2</i>	<i>Fa5</i>
Unit	-	nM-DTT min ⁻¹ m ⁻³	-	-	-	-
$OP_{tm}^*(CA)$	298	11.4	0.71	0.57	0.68	0.97
$OP_{tm}^*(F)$	298	93.3	0.84	0.63	0.65	0.95

(4) 国内・越境寄与率に関するソースレプタ解析と、その $PM_{2.5}$ と OP_{tm}^* との違い。

金属由来の酸化能ベースの健康ハザードと、従来ハザードの違いを示すために、国内寄与率の 2013 年平均値の空間分布と領域毎の値を図 1-5 に示した。 $PM_{2.5}$ の計算値は Kajino (2018)、 OP_{tm}^* は D01 の計算値を用いている。従って、いずれも同じボトムアップインベントリ REASv2 を用いた計算である（ただし、Kajino, 2018 のモデルの空間解像度は 36 km であり D01 (30 km) と若干異なる）。また D02 は日本全域を含まないため、領域解析ができない。

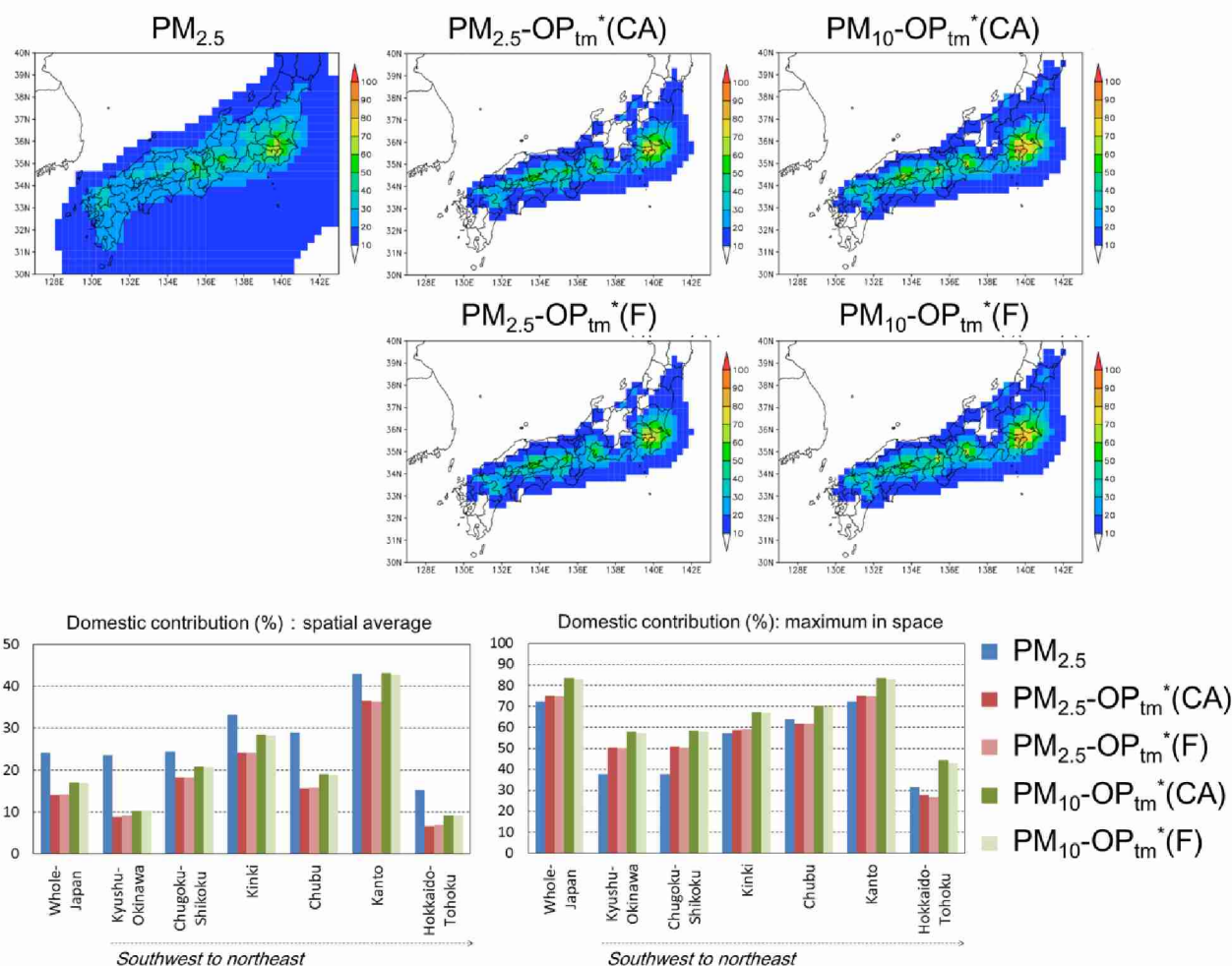


図 1-5(上部 5 枚の図)Kajino (2018) による $PM_{2.5}$ の国内寄与率と人為起源の $PM_{2.5}$ 及び PM_{10} による $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の国内寄与率の 2013 年平均値。(下部 2 枚の図) 図 1-1 の 6 地域区分での (左) 領域平均値と (右) 領域最大値。

前節で示した通り、 $OP_{tm}^*(CA)$ と $OP_{tm}^*(F)$ の空間分布はほとんど違いが見られなかった。 $PM_{2.5}$ の空間分布は OP_{tm}^* に比べてより広範囲に広がっている。それは、二次生成物質の寄与率の違いに起因する。 $PM_{2.5}$ は一次生成物質と二次生成物質の双方の寄与があるのに対して、 OP_{tm}^* は一次生成物質のみから成る。一般的に、二次生成物質の寄与率は、風下域で高くなる。その結果、 OP_{tm}^* は発生源近傍で国内寄与率がより高く、 $PM_{2.5}$ は風下域で相対的により高くなっている。国内 6 地域での寄与率を比較すると、領域平均値については、 $PM_{2.5}$ の寄与率が $PM_{2.5}-OP_{tm}^*$ よりも高かったのに対して、領域最大値については同程度か $PM_{2.5}-OP_{tm}^*$ の方が大きくなることがあった。特に、越境汚染の影響が高い、九州沖縄、中国四国地方については、 $PM_{2.5}-OP_{tm}^*$ の領域

最大値は $PM_{2.5}$ よりも 10%程度高かった。西日本の大都市においては、 $PM_{2.5}$ の越境寄与率は年平均で 60%であったのに対して、 OP_{tm}^* については 50%程度であった。 $PM_{10}-OP_{tm}^*$ は $PM_{2.5}-OP_{tm}^*$ に比べて、領域平均値で最大 5%、領域最大値で 10%程度、大きかった。これは前述の通り、 PM_{10} の寿命が一般的に $PM_{2.5}$ に比べて短いから、 PM_{10} の越境寄与率がより小さくなるためである。

(5) 我が国における OP_{tm}^* と主要遷移金属の発生源

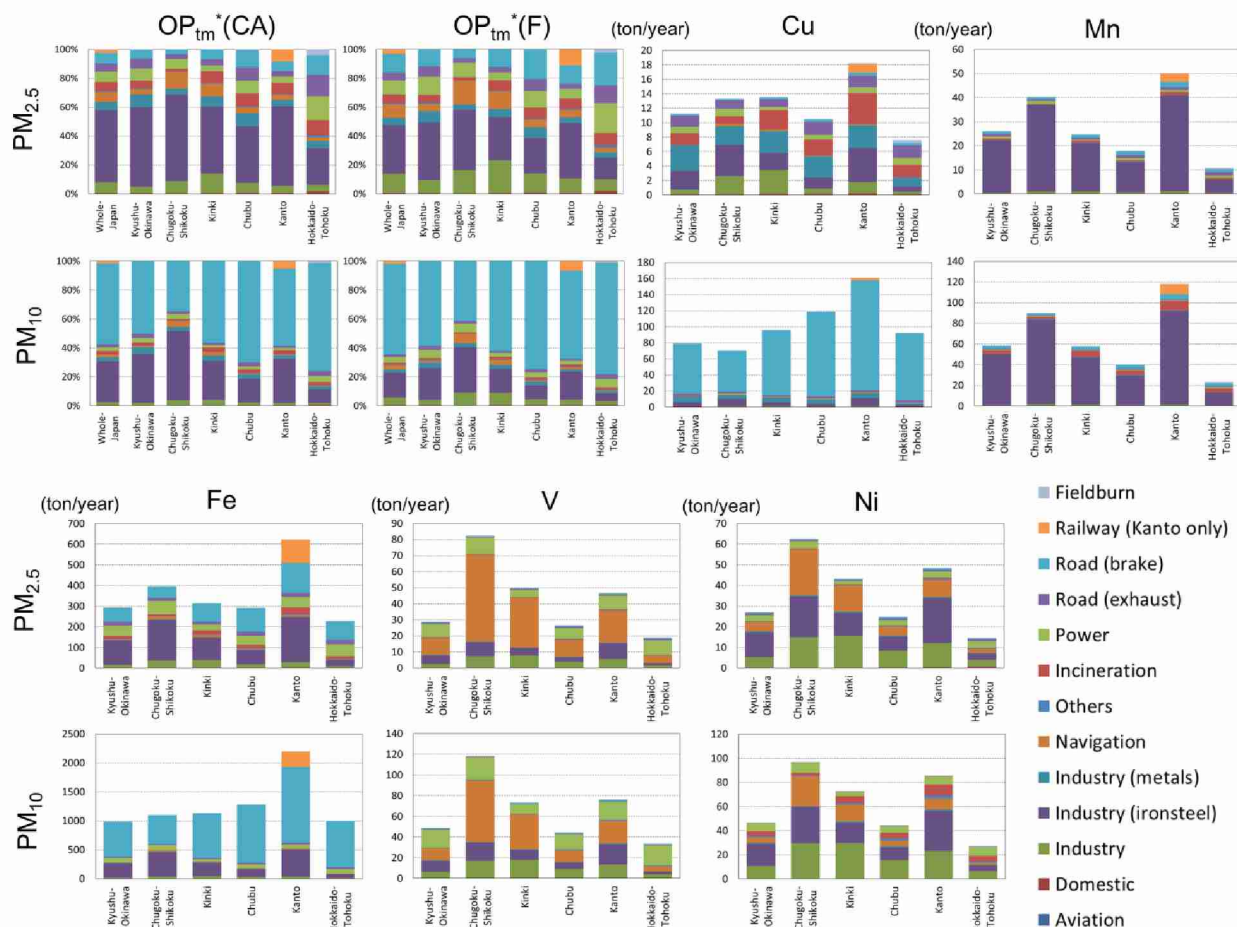


図 1-6 日本全国と国内 6 地域における人為起源の $PM_{2.5}$ と PM_{10} の OP_{tm}^* (CA), OP_{tm}^* (F), Cu, Mn, Fe, V, Ni の年間放出量における発生源セクター寄与率 (TMI-Japan v1.0 による)。ここで、鉄道起源は、関東地方のみである。

$PM_{2.5}$ と PM_{10} の OP_{tm}^* (CA) と OP_{tm}^* (F) の年間放出量に対する発生源寄与率を図 1-6 に示した。 OP_{tm}^* (CA) と OP_{tm}^* (F) に対する金属元素の寄与率はそれぞれ大きくことなったものの、発生源寄与率は大きく変わらない結果となった。その一方で、 $PM_{2.5}-OP_{tm}^*$ と $PM_{10}-OP_{tm}^*$ の発生源寄与率は大きく異なった。実際、ブレーキ摩耗が $PM_{10}-OP_{tm}^*$ の最大寄与率を示したのに対して、 $PM_{2.5}-OP_{tm}^*$ はそうではなかった。しかし、インベントリの粒径分布自体は本研究では評価されていない。実際、ある実験結果 (Hagino et al., 2016) では、ブレーキ摩耗由来の粒子の大部分は微小粒子モード ($PM_{2.5}$) に存在している。TMI v1.0 は、粒径分布についてはまださらなる改良が必要であるため、現段階では、 PM_{10} 、 $PM_{2.5}$ いずれの主要発生源についても等しく、 OP_{tm}^* についての重要な発生源となり得る、という解釈にとどめておくのが良いと思われる。

PM₁₀-OP_{tm}*の最重要発生源はブレーキ摩耗であり、次いで鉄鋼業であった。PM_{2.5}-OP_{tm}*については、鉄鋼業が主要発生源で、ブレーキ摩耗のほか、その他の工業（非鉄鋼金属工業、非金属工業）、船舶、ごみ焼却、発電、排ガス、鉄道などが、それぞれ数%から10-20%程度まで、ほぼ同等に寄与していた。

上述の通り、これら主要発生源は、Cu, Fe, Mn, Niの発生源を反映している。PM₁₀-OP_{tm}*のブレーキ摩耗はCuとFe、PM_{2.5}-OP_{tm}*のそれはFeに由来した。OP_{tm}*の鉄鋼業はFeとMnに由来し、PM_{2.5}-OP_{tm}*についてはNiやCuの寄与も見られた。PM_{2.5}-OP_{tm}*の非金属工業はNiとCu、非鉄鋼金属工業とごみ焼却はCuとFeに由来した。発電所はFeとCu、排気ガスはCuがそれぞれ、PM_{2.5}-OP_{tm}*に寄与していた。

中国四国は船舶の寄与が高かった（主にVとNi）。船舶の寄与率はPM_{2.5}-OP_{tm}* (F)でより高く、その原因はNiの比酸化能 r_i が高かったためである。金属の排出量は関東地方で最も大きい、VとNiについては中国四国地方で最も大きかった。これは瀬戸内海を航行する船舶および沿岸の工業地帯での重油消費量が高いためと考えられる。

関東地方においてPM_{2.5}-OP_{tm}*に対する鉄道の寄与率は10%であり、Fe（関東地方におけるFeの発生量のうち15%は鉄道由来）とCuの寄与が高かった。Mnの発生も見られた。鉄道排出は関東地方のみでの積算のため、他の地域においても同程度の割合で鉄道寄与率が存在し、またOP_{tm}*もその分だけ過小評価されている。

(6) その他の金属 Pb, Zn, Cr

TMIで開発した10種の金属のうち、上記5種を除き、また観測データ不足のため未評価の2元素（CoとCd）を除いた3種類の金属元素（Pb, Zn, Cr）について示す。ただPbとZnについてはDTTは消費しなかったが、酸化ストレスの指標であるHO-1アッセイについては高い活性を示すことがわかっており（サブ3の成果）、健康影響に重要な元素かもしれない。

得られた知見はCu, Mn, Fe, V, Niと同様であった。それぞれ図1-7に排出量の空間分布を、表1-5に総排出量を示した。人為起源のアジア域総排出量についてPbとZnはそれぞれ760, 593 Gg y⁻¹と、Fe (904 Gg y⁻¹)と同程度であった。（ただしPbは4-5倍ほど過大評価している可能性がある：図略）。Crの人為起源総排出量は50.0 Gg y⁻¹と、V (72.3 Gg y⁻¹)やNi (75.9 Gg y⁻¹)よりやや小さかった。他の金属元素と異なり、PbとZnのTMI-Asia (v1.0)の国内放出量は、TMI-Japan (v1.0)に比べるとはるかに大きかった。鉱物ダスト由来のPbとZnの放出量は、人為起源に比べると非常に小さく（1%かそれより小さい）、鉱物ダスト由来のCrの放出量は人為起源の約10%程度であった。

表1-5 表1-1と同じ、ただしPb, ZnおよびCr.

	TMI-Asia	TMI-Japan	Mineral dust
領域	Total / D01 / Japan	Japan	D01
単位	Gg y ⁻¹	Gg y ⁻¹	Gg y ⁻¹
Pb	760 / 611 / 1.77	0.456	1.43
Zn	593 / 465 / 1.50	0.586	5.96
Cr	50.0 / 36.5 / 0.107	0.130	3.67

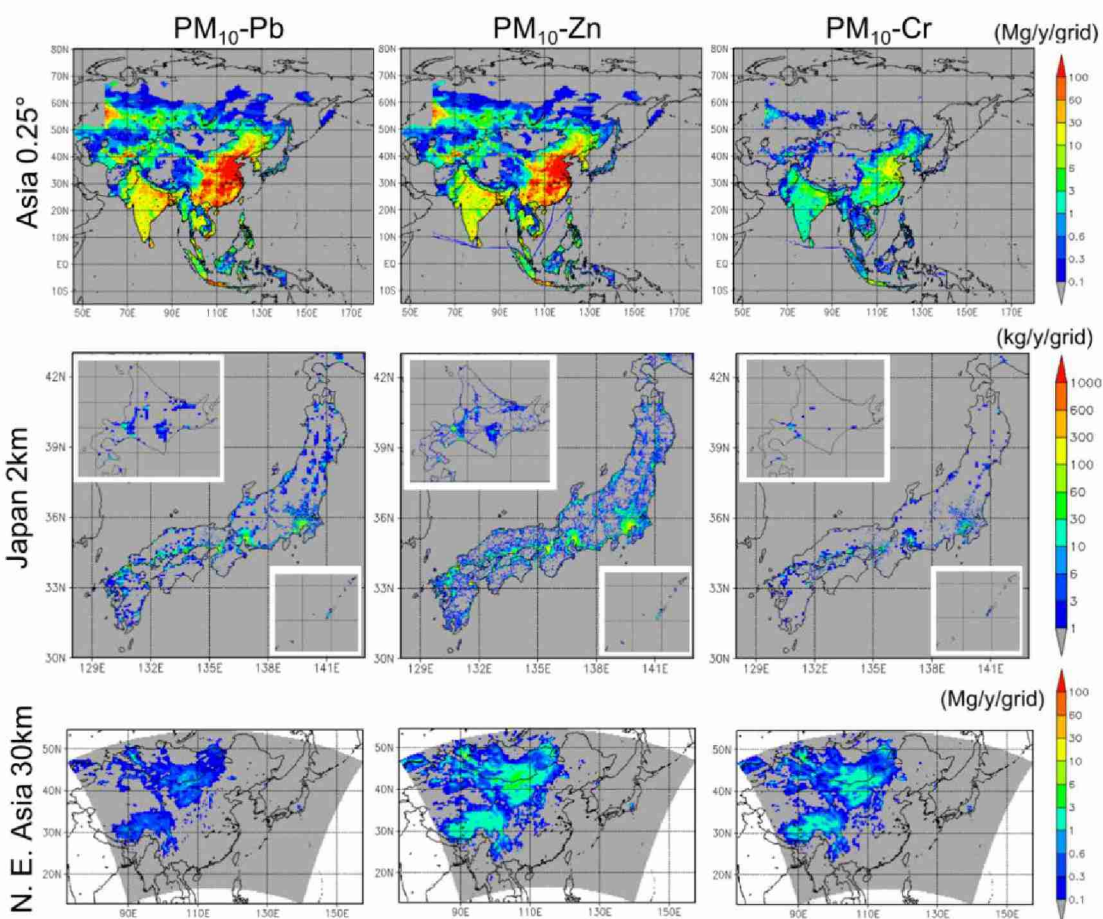


図 1-7 図 1-2 と同じ、ただし、Pb, Zn および Cr.

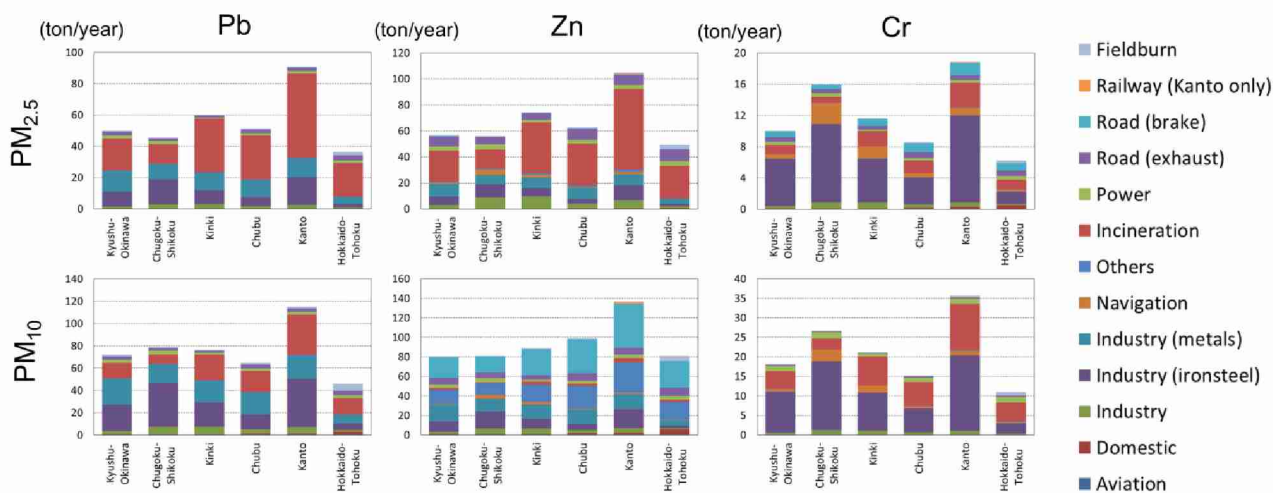


図 1-8 図 1-6 と同じ、ただし Pb, Zn および Cr.

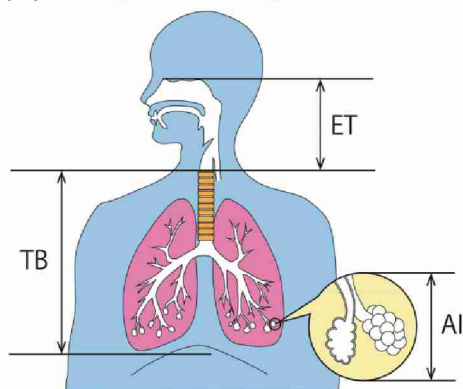
図 1-8 に Pb, Zn, Cr の領域毎の放出量と発生源寄与率を示した。Pb の主要発生源は、ゴミ焼却、鉄鋼業、非鉄鋼金属工業であった。ゴミ焼却が PM_{2.5}-Zn の主要発生源である一方、ブレーキ粉塵と非鉄鋼金属工業が PM₁₀-Zn の主要発生源であった。「その他」発生源が 10-25%程度 PM₁₀-Zn に寄与していたが、その 90%はタイヤ粉塵であった。鉄鋼業が Cr の最大発生源で次いでゴミ焼却であった。PM_{2.5}-Cr については、ブレーキ粉塵や、瀬戸内海の船舶からの寄与率も見られた。

(7) 気道沈着の影響

エアロゾル健康影響の評価において、大気化学的な視点からは「有害物質の濃度」とそのキャリアである粒子の「気道沈着率」言い換えると粒径分布と吸湿性が重要なパラメータとなると考えられるが、それらは個別に詳細に取り上げられることはあっても、有機的に結び付けて議論されることは少ない。まず参考のため、図 1-9 に、ヒト気道領域(ET: extrathoracic airway; 胸郭外気道、TB: tracheobronchial airway; 気管支、AI: alveolar interstitium; 肺胞(肺間質))と、気道沈着モデル Multiple Path Particle Dosimetry Model (MPPD)で計算した気道領域別沈着率(成人男性、鼻呼吸、軽運動時)の計算結果を示した。これは、一回の呼吸で吸入したエアロゾルが各部位に沈着する割合を示している。「有害物質の濃度」と「気道沈着率」を有機的に結び付けるために、Kajino et al. (2014) では、発がん性物質である燃焼起源の煤粒子に着目し、近年開発された先駆的エアロゾル測定装置群により得られた知見を参考にしながら、発生直後の疎水性の煤粒子 (fresh soot) と、長距離輸送中に凝縮や不均一反応で水溶性物質との内部混合が進んだ煤粒子 (aged soot) では、気道沈着率(気管支+肺胞)が約2倍異なる可能性を示した。また Ching and Kajino (2018) では、混合状態もまた重要なパラメータとなり得ることを示した。エアロゾル混合状態指標 χ (Riemer and West (2013); 生物多様性指標になぞらえて0%が完全外部混合、100%が完全内部混合を示す) が0-50%の範囲において、混合状態を考慮しなければ(化学組成の均一混合を仮定すると)、(気道内および大気中での)煤の吸湿成長を過大評価することで胸郭外気道を含む全気道領域の沈着率を5-20%過小評価する。

Kajino et al. (2014) では、気道内での吸湿成長を主眼においていたために、気管支と肺胞への沈着率を合わせて議論し、またヒト条件も成人男性・鼻呼吸・軽運動時に限定していた。本研究では、一般に気道よりも排出輸送の遅い肺胞への沈着率(以下、肺沈着率)に評価を限定し、そのかわり年齢差や運動量、鼻呼吸と口呼吸の差など、他の呼吸パラメータについての評価を新たに追加した。さらに、微小粒子だけではなく、自然起源の粗大粒子だが健康影響が懸念される黄砂についても、その肺沈着を新たに評価した。黄砂は比酸化能が高い。また黄砂は表面の反応性が極めて高く、発がん性物質である1-ニトロピレンの不均一生成反応を急激に促進することが分かっていることから(Kameda et al., 2016)、発がん性物質の気道沈着を考慮するうえでも重要な粒子と考えられる。

(a) Deposition regions



(b) Deposition ratio (Adult, male, nasal inhalation, light exercising)

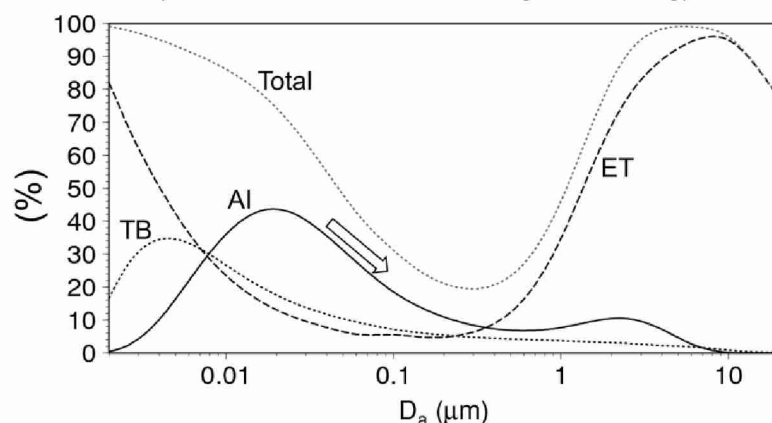


図 1-9 (a)ヒト気道部位の定義(Ching and Kajino (2018) から引用)。(b)成人男性、鼻呼吸、軽運動時の各気道部位における沈着率(Kajino et al. (2014) から引用して改変)。矢印は、微小粒子の肺への沈着率が、粒径が大きくなり、吸湿性が高くなるにつれ、減少する傾向を示す。

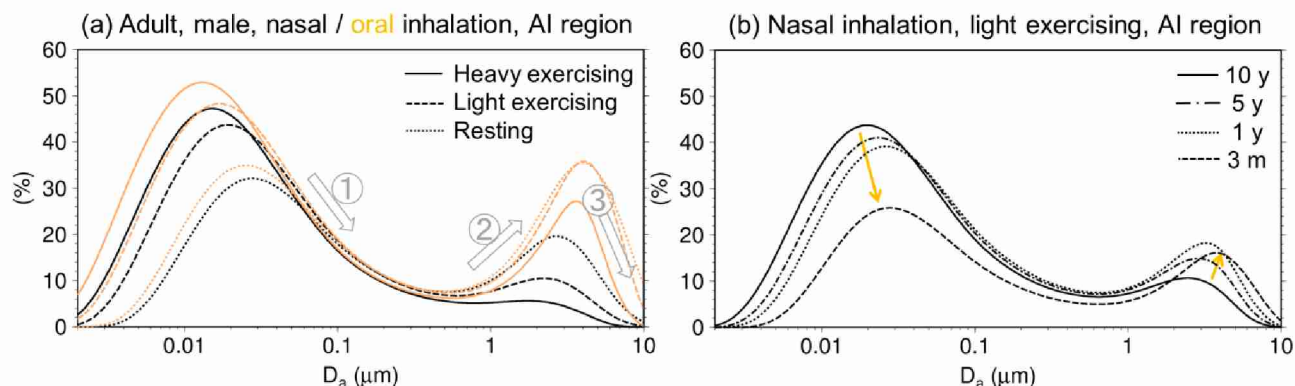


図 1-10 肺沈着率のヒトパラメータの依存性を示す。(a)成人男性の休息時(点線)、軽運動時(破線)、重運動時(実線)における、鼻呼吸(黒)、口呼吸(オレンジ)での肺沈着率。灰色の矢印はそれぞれ、(①)図1の矢印と同じ、(②)1 μm を超えると肺沈着率は増大し(休息時ほど増大が大きく、鼻呼吸よりも口呼吸の方が増大が大きい)、(③)さらに大きくなるとまた急激に下がる傾向を示す。(b)軽運動時における、鼻呼吸での肺沈着率の年齢差。オレンジ色の矢印は、若年齢になるにつれ、微小粒子の沈着率が下がるとともに、粗大粒子の沈着率が上がる傾向を示す。

図 1-10 に、肺沈着率のヒト条件の依存性を示す。図 1-10a は、成人男性における休息時(点線)、軽運動時(破線)、重運動時(実線)の違いと、鼻呼吸(黒)と口呼吸(オレンジ)の違いを示している。ここで特筆すべき傾向は下記の 2 点である。(1)微小粒子は、運動量が高くなるほど、肺に多く取り込まれる。また鼻呼吸に比べて口呼吸の方がより微小粒子を多く肺に取り込む。(2)一方、粗大粒子は、運動量が低いほど、肺に多く取り込まれる。鼻呼吸に比べて口呼吸の方がより粗大粒子を多く肺に取り込む点では、微小粒子と同じ傾向である。図 1-10b には、軽運動時・鼻呼吸の場合の肺沈着率の年齢差を示す。10 歳児の肺沈着率は成人男性と変わらないが、若年齢になるにつれ、微小粒子の肺沈着率が小さくなる一方で、粗大粒子の肺沈着率が大きくなる。口呼吸時や、休息時、また乳幼児における 1 - 10 μm 粒径範囲の肺沈着率の増大については、これまであまり議論されて来なかったものの、微小粒子の気道内の吸湿成長や、黄砂の健康影響を考えると、重要となるかもしれない。

エアロゾルの粒径分布と吸湿性を現実的な範囲内で変化させて、年齢差や運動量、鼻呼吸と口呼吸の差など、ヒト条件の影響をまとめて評価した。微小粒子の肺沈着率は、粒径数 10 nm から数 100 nm にかけて沈着率が 45% から 10% 程度に低下する領域(ブラウン衝突が小さくなる)と、その後、1 - 10 μm の粒径範囲で増大する領域(慣性衝突が大きくなる)の影響を受ける。前者は運動量が大きいくほど顕著となり、後者は運動量が小さく、鼻呼吸より口呼吸の方が、そして若年齢ほど顕著となる。 $D_{g,n,dry} = 40 - 280 \text{ nm}$ 、 $\sigma_g = 1.3 - 2.0$ 、 $\kappa = 0 - 0.7$ と上述のヒト条件の範囲内において、肺沈着率は 2.0 - 28.5% まで 1 桁以上の広がりを示した。

次節で述べる通り、製鉄所由来の一次粒子として凝集酸化鉄粒子が発見されている。前節で議論した通り、鉄鋼業は OP_{tm} の主要発生源の一つである。非水溶性の凝集体粒子であるため、fresh soot と aged soot の議論と同様、発生源近傍に比べて風下域で肺沈着率が小さくなる可能性がある。発生源近傍と風下域における凝集酸化鉄の代表的な粒径や吸湿特性はよく分かっていないため、fresh soot と aged soot の特性を与えて、肺沈着率を算出したところ、その差は、成人男子・重運動時の表面積沈着率に対して最も大きくなり、風下域の aged 凝集体の 5.4% に対して発生源近傍の fresh 凝集体は 13.1% と約 2.4 倍であった。その一方で、休息時、若年齢、口呼吸の場合には、両者の沈着率はあまり変わらないか、aged 凝集体の方がより多く沈着するケースも見られた。

東アジア特有の現象であり、また健康に影響を及ぼす黄砂についても、同じ地点、同じ期間に観測された 2 つのイベントにおける異なる粒径分布を与えて、その肺沈着率を比較した。その結果、イベントが異なれば肺沈着率は最大で 75% 程度異なり、口呼吸による肺沈着率は鼻呼吸による肺沈着率に比べて最大 7.1 倍と 1 桁近く高かった。サブ 2

により開発されたFADASでは、微小粒子と同時に粗大粒子の酸化能も測定している。冬季および春季の福岡における集中観測の結果から、粗大粒子の酸化能は微小粒子の約半分程度であることが分かっている。成人男子の口呼吸の肺沈着率は休息時あるいは軽運動時で19.0 – 29.0%と、fresh/aged sootの鼻・口呼吸肺沈着率(8.3 – 17.6%)に比べて大きい。酸化能の肺沈着量という意味では口呼吸の場合において粗大粒子の寄与率も無視できないかもしれない(鼻呼吸の場合は、粗大粒子の沈着率は3.8 – 15.2%と、fresh/aged sootのそれよりも小さい)。

(8) 人為起源の凝集酸化鉄粒子の発見とその存在量

前述の通り、Feは粒子酸化能の観点から重要な元素の一つである。Feはエアロゾル中に含まれる元素としては最大の存在割合を示すものの一つであり、その発生源は自動車や製鉄所など多岐にわたる。このような人為由来の酸化鉄について、その物理化学的性質と存在量を気象研究所の電子顕微鏡や東京大学との共同研究の一環で単一粒子レーザー白熱法という技術を使った解析を行った。その結果、鉄を含むエアロゾル粒子は電子顕微鏡による個別粒子分析で東京都内の大気中で最大40%にも及ぶことが分かった(図1-11左; Adachi et al. 2016)。また、その形態は、数十ナノメートルの球状酸化鉄粒子が凝集した形態をしていることも明らかとなった。これらの形態は、従来考えられていた鉄の供給源である鉱物粒子とは明らかに異なり、人為発生源由来を強く示唆する。加えて、2013年に黄海上空で航空機観測によって採取したエアロゾル試料を再解析した結果、数百ナノメートルの凝集酸化鉄粒子が分析粒子中に数パーセントの割合で存在することが明らかとなり、その存在量は気候影響や人体にとって決して無視できない量に及ぶことが分かった(図1-11右)。また、電子顕微鏡分析によって、これらの酸化鉄粒子は2価と3価の鉄を含む磁鉄鉱であることも分かった。これらの成果はその重要な発見のため、Nature Communicationsに採択され(Moteki, Adachi et al., 2017)、プレスリリースも行った。このような酸化鉄粒子は、Maher et al. (2016)などの先行研究で人体の脳内にまで侵入し、酸化ストレスとなっている可能性が示唆されている。

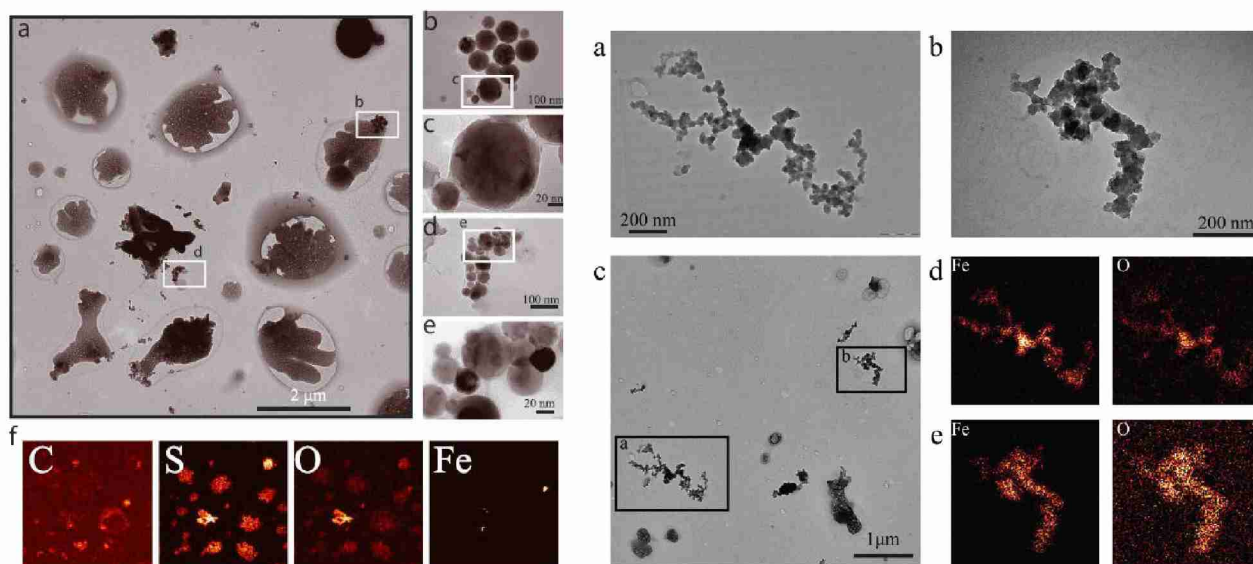


図 1-11 (左) 東京都内で採取されたエアロゾルの電子顕微鏡画像(左上 a)と球状酸化鉄粒子(右 b-c)。下(f)は左上の電子顕微鏡画像中の元素分布を示す。鉄粒子が複数個あることがわかる。(右) 黄海上空で採取したエアロゾル粒子中の酸化鉄粒子。酸化鉄は凝集体であることがわかる。Moteki et al. (2017) 中の図 1 より引用。

(9) 電子顕微鏡エアロゾルデータベース (MetEMA-DB) を用いた遷移金属の気道沈着率の導出

電顕観察は、前節で紹介した通り、ある特徴を持った粒子の形状や特性と発生源を結び付ける研究に有用であるほか、本節で紹介する通り、データベース化された個別粒子の膨大な情報からそのバルク特性を導出する研究にも有用である。

気象研究所では、これまで採取、分析した電顕試料結果をデータベース化して、本予算を活用して外部公開した (Ching et al., 2019, in review: <http://metemadb.kir.jp>)。現在、約 50,000 個の粒子が収納され、元素組成、粒子形状情報、粒子画像が紐づけられている。図 1-12 に東京およびつくばで収集された全粒子について、粒径、吸湿性 κ 、および Fe 含有率を示した。東京、つくば、双方のサンプルともに、吸湿性が大きく異なる二つの粒子群が見られる (オレンジ破線と水色破線)。これらは S を含む粒子と含まない粒子であり、硫酸塩と内部混合したいわゆる Aged な鉄を含む粒子と、硫酸塩を含まない Fresh な鉄と考えられる。前述の気道沈着モデルにより、これら粒子群のバルクの気道沈着率を算出した結果、鉄の表面積肺沈着率 (大気中の鉄の総表面積濃度のうち一回の呼吸で何割が肺胞に沈着するか) は、東京とつくばで 9.3% と 8.9% と大きな違いがないことが判明した。これは、採取された粒子の粒径幅が 0.1–1 μm が、図 1-10 で示す通り、肺沈着率が極小となる粒径幅であることに起因する。本節で示した、微小粒子中の Fe の気道沈着率がサンプルによって大きく変化しないことをもって、式 1-2 の新ハザードに気道沈着率 f の項を考慮しないことの根拠としたが、電顕用インパクトで捕集しきれない数 10 nm 以下の金属粒子が全体の総表面積 (あるいは総体積) に対して大きな寄与率を持つならば、サンプル毎の気道沈着率は大きく変化するかもしれない。実際、肺沈着率は 100 nm 以下から大きくなり、約 20 nm で極大となる。実際、表面積 (体積) は粒径の 2 乗 (3 乗) で利いてくるため、100–1 μm のサブミクロン粒子が、総表面積 (総体積) にとって重要と考えられる。なお、粒子酸化能にとって最も重要となる Cu については、本研究では電顕用フィルタに Cu の支持膜を使用していたため検出は困難であった。

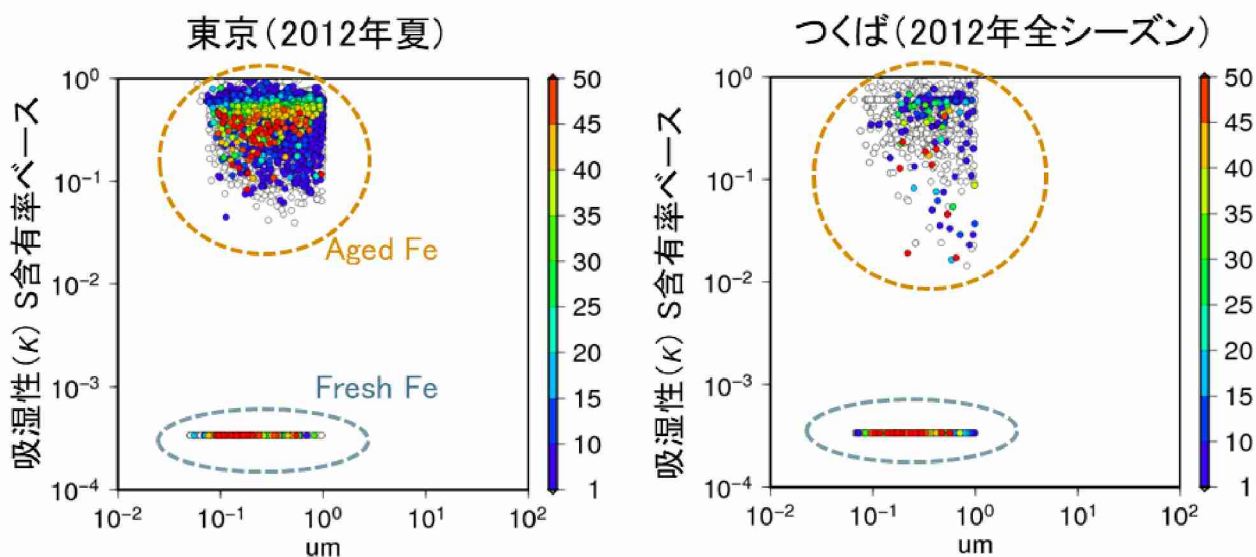


図 1-12 気象研データベースに収納されている、2012 年夏の東京、および 2012 年のつくば市において採取された全粒子の粒径 (円等価径)、吸湿性 κ (S の含有率からそれを全て $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ と仮定して κ -Köhler 理論 (Petters and Kreidenweis, 2007) に基づいて算出したもの) および Fe 含有率。

(10) 集中観測期間中において発見された特徴の異なる金属粒子

図 1-13 に福岡市での冬季集中観測で発見された Fe, Cr を含む金属粒子の特殊な形態の一例を示す。この粒子は 1 μm 以上の粗大粒子であるが、その中に図 1-11 で示した酸化鉄の凝集体のほかに数 nm からの非常に微細な金属粒子が数多く分散して存在している。二次生成物での硫酸塩と有機物の混合粒子と、金属が大気中で内部混合して形成されている。図 1-12 でのバルク解析からは区別がつかないが、この粒子は気道に沈着するまでは、粗大粒子としてふるまうが、肺胞上皮粘液中で溶解し、その後は、数 nm の金属粒子と 100 nm 近い凝集酸化鉄はふるまいが大きく異なる可能性がある。本研究では到達できなかったが、今後ナノ粒子と凝集体の粒径や存在比について、より定量的な理解が望まれる。

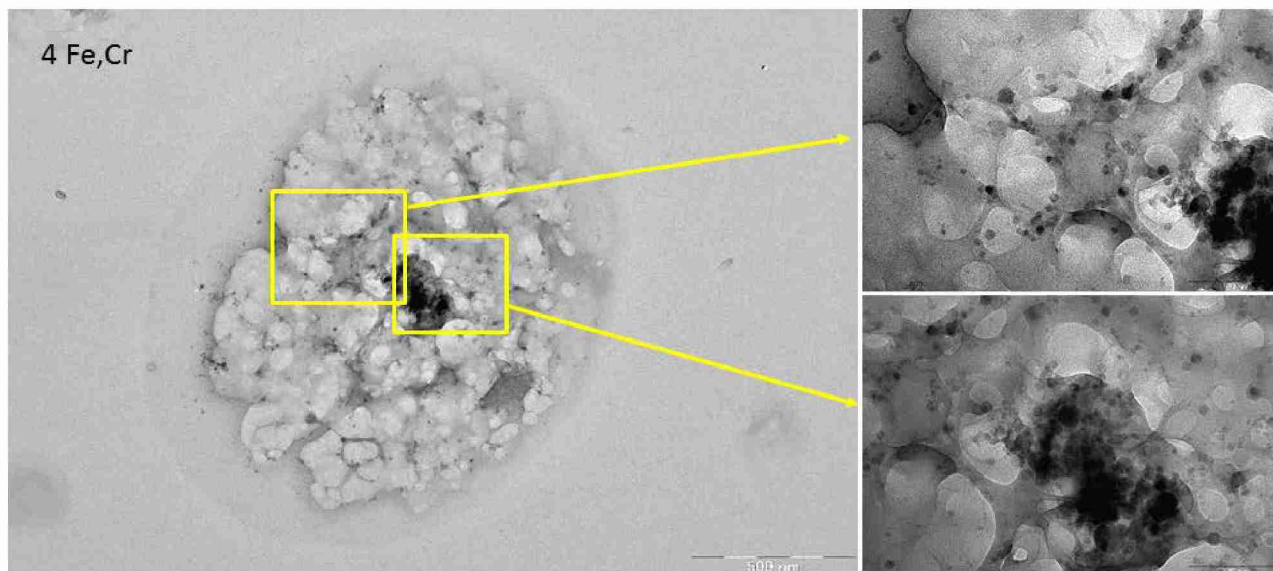


図 1-13 福岡市における冬季集中観測で発見された Fe を含む粒子の形態

(11) 疫学調査結果のモデル予測可能性評価（聖路加国際大学との共同）

図 1-14 に、鳥取県米子市において実施された、健常者 200 名を対象としたアンケート調査の日間値と、数値モデル（全球エアロゾルモデル MASINGAR : NHM-Chem の境界条件として使用しているもの）の硫酸塩濃度の日間値の比較時系列図を示した。自覚症状とモデル結果は有意な相関を示し ($p < 0.01$)、呼吸器、喉、発熱に対してそれぞれ $R=0.557, 0.454, 0.470$ であった。目、肌、頭痛、ストレスの自覚症状とは有意な相関が見られなかった。一般化推定方程式を用いた解析により、硫酸塩エアロゾルの地上濃度の計算値に対する呼吸器系自覚症状有無（スコア 2 を閾値とした）のオッズ比は 5.31 (95%CI: 2.18-12.96, $p=0.001$) であった。以上から、モデルによるエアロゾルの健康リスク予測可能性が示された。

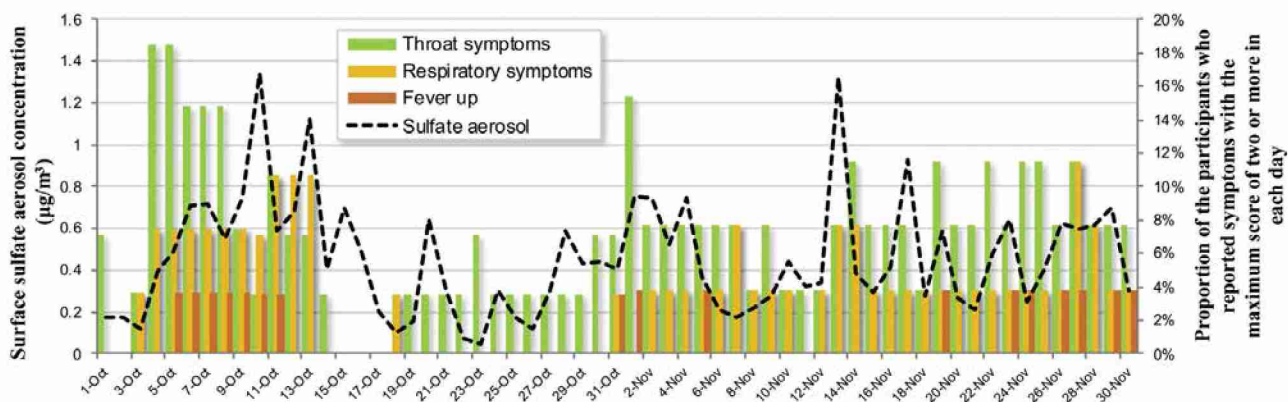


図 1-14 2011 年 10 月から 11 月にかけての米子市における自覚症状スコアと硫酸塩エアロゾルのシミュレーションの日間値 (Ohnishi et al., 2018 から転載)。黒破線はモデル計算値、緑、黄、赤の棒はそれぞれ、喉、呼吸器、発熱の自覚症状を報告した参加者の割合。

(12) 今後について

前述の研究成果を踏まえたうえで、将来の研究の方向性について簡潔にまとめておきたい。疫学との連携は将来的には有機的連携が必要不可欠である。サブ 2 で開発した、 $PM_{2.5}$ と PM_{10} の質量濃度と酸化能を 2 時間間隔で連続観測できる FADAS と疫学の同期モニタリングを実施し、新ハザードの有用性を確かめる必要がある。現在、聖路加国際大学（東京都中央区）に FADAS を設置し、聖路加国際病院における疫学調査と同期した長期モニタリングを実施できるように手配を進めている。そして、詳細な野外実験や室内実験から知見を積み重ねながら FADAS の粒子酸化能と原因物質の関係ならびに酸化ストレスとの関係を定量的に説明し、数値モデルを活用してその時間変化を定量的に理解する。このように、数値モデル、観測実験、疫学調査が三位一体となった研究を展開していく必要がある。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

- ・ アジアと我が国限定だが、粒子酸化能の寄与率が高い遷移金属の発生源推計、酸化能予測を実施したのは世界初。個別粒子分析や気道沈着計算を組み合わせ考察。(サブ 4 と共同)
- ・ 遷移金属の排出インベントリと予測モデルを構築した。遷移金属由来の酸化能を基準とした新ハザードのモデル予測可能性が示された。新ハザードへの寄与率の高い発生源は、主にブレーキと鉄鋼業（全体の 8 割程度）、次いで船舶、発電、焼却炉などであった（それぞれ 1 割程度）。(サブ 4 と共同)
- ・ 新ハザードの時空間分布を明らかにし、従来ハザード ($PM_{2.5}$) との相違を明らかにした。新ハザードについては、微小粒子だけでなく粗大粒子の重要性、自然起源ではあるが、特に酸化能が高く、ヒト条件によっては気道沈着率も高くなる、黄砂の重要性も示唆された。全サブテーマと連携して計 4 回の集中観測を実施した。電子顕微鏡観察により、主要遷移金属の一つである酸化鉄の微視的特性が明らかになった。

(2) 環境政策への貢献

- ・ 酸化能の発生源寄与率の情報を、不確定性情報（発生量や粒子形状）と共に、整備した。

- ・ PM₁₀の重要性を示唆するものであった（酸化能と気道沈着の観点から微小粒子と粗大粒子の健康ハザードを定量的に比較した）。
- ・ 疫学研究チームへのデータ活用を依頼した。将来、質量濃度と新ハザードのどちらがより疫学調査と関連性が強いのか、が明らかになる。

<行政が既に活用した成果>

NHM-Chemの結果（たとえばKajino, 2018）は日中韓大気汚染物質長距離越境移動研究プロジェクト（Joint Research Project on Long-Range Transboundary Air Pollutants in Northeast Asia; LTP プロジェクト）に活用されて来た。

<行政が活用することが見込まれる成果>

新ハザードの有用性が疫学研究から証明されれば、優先的に対策を講じるべき発生源が、本研究から明らかとなっている。

6. 国際共同研究等の状況

当該研究課題により2017年5月よりJoseph Ching博士をポスドク研究員（気象研での職名：リサーチアソシエイト）として受け入れた。香港国籍の同氏は、2005年に香港大学で学士、修士号（素粒子物理学専攻）を取得した後、イリノイ大学 Urbana-Champaign 校でエアロゾル・雲の微物理モデル研究者として著名な Nicole Riemer 教授の指導のもと2013年に博士号（学術）を取得し、その後2016年4月米国パシフィックノースウェスト国立研究所で、エアロゾルの詳細な化学・微物理モデルを開発して来た。気象研では、当該研究課題の推進のために、気象庁領域気象化学モデル NHM-Chem の開発、改良と、遷移金属、キノン類の計算と観測との比較、発生源寄与率の推定に関する研究を遂行した。

7. 研究成果の発表状況

（1）誌上発表

<論文（査読あり）>

- 16) K. ADACHI, N. MOTOKI, Y. KONDO and Y. IGARASHI: J. Geophys. Res., 121, 9153–9164 (2016)
Mixing states of light-absorbing particles measured using a transmission electron microscope and a single-particle soot photometer in Tokyo
- 17) N. MOTOKI, K. ADACHI, S. OHATA, A. YOSHIDA, T. HARIGAYA, M. KOIKE, and Y. KONDO: Nature Communications, 8:15329, 11 pp. (2017)
Anthropogenic iron oxide aerosols enhance atmospheric heating
- 18) M. KAJINO, H. UEDA, Z. HAN, R. KUDO, Y. INOMATA and H. KAKU: Atmos. Environ., 171, 98–110 (2017)
Synergy between air pollution and urban meteorological changes through aerosol-radiation-diffusion feedback —A case study of Beijing in January
- 19) K. ADACHI, A. J. SEDLACEK III, L. KLEINMAN, D. CHAND, J. M. HUBBE and P. BUSECK: Aerosol Sci. Tech., 52:1, 46–56 (2017)
Volume changes upon heating of aerosol particles from biomass burning using transmission electron microscopy

- 20) Y. INOMATA, M. KAJINO, K. SATO, J. KUROKAWA, N. TANG, T. OHARA, K. HAYAKAWA and H. UEDA: *Environ. Sci. Technol.*, 51, 7972–7981 (2017)
Source-receptor relationship analysis of the atmospheric deposition of PAHs subject to long-range transport in Northeast Asia
- 21) J. CHING, M. WEST, N. RIEMER: *Atmosphere*, 9, 17, 17 pp. (2018)
Quantifying impacts of aerosol mixing state on nucleation-scavenging of black carbon aerosol particles
- 22) S. OHATA, A. YOSHIDA, N. MOTEKI, K. ADACHI, Y. TAKAHASHI, M. KURISU, M. KOIKE, *J. Geophys. Res.*, 123, 8115–8134 (2018)
Abundance of light-absorbing anthropogenic iron oxide aerosols in the urban atmosphere and their emission sources
- 23) A. YOSHIDA, S. OHATA, N. MOTEKI, K. ADACHI, T. MORI, M. KOIKE, A. TAKAMI, *J. Geophys. Res.*, 123, 11, 194–11, 209 (2018)
Abundance and emission flux of the anthropogenic iron oxide aerosols from the East Asian continental outflow
- 24) 梶野瑞王: *大気化学研究*, 39, 039A01, 10 pp. (2018)
エアロゾル有害物質の肺沈着における粒径分布、吸湿性、ヒト条件の影響
- 25) K. ONISHI, T. T. SEKIYAMA, M. NOJIMA, Y. KUROSAKI, Y. FUJITANI, S. OTANI, T. MAKI, M. SHINODA, Y. KUROZAWA and Z. YAMAGATA: *Environ. Int'*, 117, 48–56 (2018)
Prediction of health effects of cross-border atmospheric pollutants using an aerosol forecast model
- 26) J. CHING, M. KAJINO: *Sci. Rep.*, 8:8864, 11 pp. (2018)
Aerosol mixing state matters for particles deposition in human respiratory system
- 27) K. YUMIMOTO, M. KAJINO, T. Y. TANAKA and I. UNO: *Sci. Rep.*, 9:1209, 7 pp. (2019)
Dust vortex in the Taklimakan Desert by Himawari-8 high frequency and resolution observation
- 28) M. KAJINO, M. DEUSHI, T. T. SEKIYAMA, N. OSHIMA, K. YUMIMOTO, T. Y. TANAKA, J. CHING, A. HASHIMOTO, T. YAMAMOTO, M. IKEGAMI, A. KAMADA, M. MIYASHITA, Y. INOMATA, S. SHIMA, A. TAKAMI, A. SHIMIZU, S. HATAKEYAMA, Y. SADANAGA, H. IRIE, K. ADACHI, Y. ZAIZEN, Y. IGARASHI, H. UEDA, T. MAKI and M. MIKAMI: *J. Meteor. Soc. Japan*, 97, 337–374 (2019)
NHM-Chem, the Japan Meteorological Agency's regional meteorology - chemistry model: model evaluation toward the consistent predictions of the chemical, physical, and optical properties of aerosols

<査読付論文に準ずる成果発表>

- 1) K. HAYAKAWA, S. NAGAO, Y. INOMATA, M. INOUE and A. MATSUKI Eds.: *Trans-boundary pollution in North-East Asia*, NOVA Science Publishers, 147–166 (2018)
“Chapter 6. Model simulation of atmospheric aerosols (M. KAJINO)”
- 2) 梶野瑞王: *安全工学*, 57, 433–441 (2018)
大気エアロゾルの環境動態シミュレーション

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 梶野瑞王、五十嵐康人、財前祐二、足立光司、関山剛、大畑昌輝、藤谷雄二、古山昭子、萩野浩之：
2016年福岡から診る大気環境研究所研究会（2016）
観測・モデルを併用した粒子酸化能研究の立ち上げ
- 2) K. ONISHI, T. T. SEKIYAMA, M. NOJIMA, Y. KUROSAKI, S. OTANI, Y. KUROZAWA, M. SHINODA, Z. YAMAGATA:
28th Annual Conference International Society For Environmental epidemiology (ISEE), Rome, Italy
(2016)
Health effects of cross-border atmospheric pollutants can be predicted by using an aerosol
forecast model
- 3) M. KAJINO, K. SATO, T. KITADA, H. UEDA: 19th Export Meeting for Long-range Transboundary Air
Pollutants in Northeast Asia, Seoul, Korea (2016)
Modeling study on LTP in northeast Asia: Japan
- 4) 梶野瑞王：数学・気象学連携ミーティング(2017)
エアロゾル動力学の数値解法
- 5) 梶野瑞王、五十嵐康人、財前祐二、足立光司、関山剛、Joseph Ching、大畑昌輝、チョン千香子、藤
谷雄二、古山昭子、萩野浩之、須藤菜那、猪股弥生、大西一成、亀田貴之：2017年度福岡から診る大
気環境研究所研究会（2017）
粒子酸化能と遷移金属に関する観測的および数値的研究
- 6) 足立光司：第35回エアロゾル科学・技術研究討論会（2018）
大気エアロゾルの環境管理・改善に関する研究最前線
- 7) 梶野瑞王、足立光司、Joseph Ching、木名瀬健、関山剛、財前祐二、五十嵐康人、大畑昌輝、チョン
千香子、藤谷雄二、古山昭子、萩野浩之、須藤菜那、大西一成、亀田貴之、猪股弥生、原圭一郎、西
田千春、林政彦：第59回大気環境学会年会（2018）
粒子酸化能に関する観測的および数値的研究
- 8) 西田千春ほか：2018年度福岡から診る大気環境研究所研究会（2019）
春季の福岡市のエアロゾルの酸化能：黄砂の影響
- 9) 梶野瑞王、Joseph Ching、足立光司、財前祐二、関山剛、木名瀬健、五十嵐康人、萩野浩之、森川多
津子、藤谷雄二、古山昭子、大畑昌輝、チョン千香子：2018年度福岡から診る大気環境研究所研究会
(2019)
金属由来の酸化能に関する観測的および数値的研究

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 国土交通省気象庁気象研究所 科学技術週間一般公開、展示・研究紹介「電子顕微鏡室」
(平成29年4月19日（水）、気象研究所・高層気象台・気象測器検定試験センター、見学者196名)

- 2) 電顕エアロゾル分析システムデータベース (MetEMA) のホームページ上での公開
(平成29年7月12日から、<http://metemadb.kir.jp>で公開中。)
 - 3) 国立研究開発法人国立環境研究所・夏の大公開、展示・研究紹介「粒子をみてみよう！」
(平成29年7月22日 (土)、国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験棟、見学者400名)
 - 4) 兵庫県立大学知の交流シンポジウム2017
(平成29年9月19日 (火)、神戸商工会議所)
 - 5) 第15回環境研究シンポジウム
(平成29年12月2日 (水)、一橋大学一橋講堂)
 - 6) 市民公開講座 「大気エアロゾルの環境管理・改善に関する研究最前線」
(平成30年8月2日 (木)、名古屋大学東山キャンパス)
 - 7) 第59回大気環境学会年会 特別集会開催 (公開シンポジウム)
(平成30年9月6日 (木)、九州大学筑紫キャンパス)
- (5) マスコミ等への公表・報道等
- 1) 成果の記者発表 (2017年5月16日、於東大理学部、「人為起源の黒色酸化鉄粒子による大気加熱効果を発見」)
- (6) その他
- 1) 足立光司、日本エアロゾル学会奨励賞 (2016)

8. 引用文献

- 1) Adachi, K., Moteki, N., Kondo, Y., and Igarashi, Y. (2016) Mixing states of light-absorbing particles measured using a transmission electron microscope and a single-particle soot photometer in Tokyo, Japan, *J. Geophys. Res.*, 121, 9153-9164, doi:10.1002/2006JD025153.
- 2) Bates, J. T., Weber, R. J., Abrams, J., Verman, V., Fang, T., Klein, M., Strickland, M. J., Sarnat, S. E., Chang, H. H., Mulolland, J. A., Tolbert, P. E., and Russel, A. G. (2015). Reactive oxygen species generation linked to sources of atmospheric particulate matter and cardiorespiratory effects, *Environ. Sci. Technol.*, 49, 13605-13612, doi:10.1021/acsest.5b02967.
- 3) Charrier, J. G., and Anastasio, C. (2012). On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals, *Atmos. Chem. Phys.*, 12, 9321-9333, doi:10.1054/acp-12-9321-2012.
- 4) Ching, J., and Kajino, M. (2018) Aerosol mixing state matters for particles deposition in human respiratory system, *Sci. Rep.*, 8:8864, doi:10.1038/s41598-018-27156-z, 11 pp.
- 5) Ching, J., Adachi, K., Zaizen, Y., Igarashi, Y., and Kajino, M. (2019) Aerosol mixing state revealed by transmission electron microscopy pertaining to cloud formation and human airway deposition, *npj Climate and Atmospheric Science*, in review.

- 6) Fujitani, Y., Furuyama A., Tanabe, K., and Hirano, S. (2017) Comparison of oxidative abilities of PM_{2.5} collected at traffic and residential sites in Japan. Contribution of transition metals and primary and secondary aerosols, *Aerosol Air Qual. Res.*, 17, 574-187, doi:10.4209/aaqr.2016.07.0291.
- 7) Hagino, H., Oyama, M., and Sasaki, S. (2016). Laboratory testing of airborne brake wear particle emissions using a dynamometer system under urban city driving cycles, *Atmos. Environ.*, 131, 269-278, doi:10.1016/j.atmosenv.2016.02.014.
- 8) Kajino, M., Igarashi, Y., and Fujitani, Y. (2014) Which is more efficiently deposited in the human respiratory tract through inhalation, fresh soot or aged soot? Sensitivity of regional deposition to size distribution and hygroscopicity of aerosols, *J. Jpn. Soc. Atmos. Environ.*, 49(2), 101-108 (in Japanese).
- 9) Kajino, M. (2018) Model simulation of atmospheric aerosols, *Trans-Boundary Pollution in North-East Asia*, Eds. Hayakawa, K., Nagao, S., Inomata, Y., Inoue, M., and Matsuki, A., NOVA Science Publishers, ISBN:978-1-53614-742-2, 147-166.
- 10) Kajino, M., Deushi, M., Sekiyama, T.T., Oshima, N., Yumimoto, K., Tanaka, T. Y., Ching, J., Hashimoto, A., Yamamoto, T., Ikegami, M., Kamada, A., Miyashita, M., Inomata, Y., Shima, S., Takami, A., Shimizu, A., Hatakeyama, S., Sadanaga, Y., Irie, H., Adachi, K., Zaizen, Y., Igarashi, Y., Ueda, H., Maki, T., and Mikami, M. (2019) NHM-Chem, the Japan Meteorological Agency's regional meteorology – chemistry model: model evaluation toward the consistent predictions of the chemical, physical, and optical properties of aerosols, *J. Meteor. Soc. Japan*, 97, 337-374, doi:10.2151/jmsj.2019-020.
- 11) Kajino, M., Hagino, H., Fujitani, Y., Morikawa, T., Fukui, T., Onishi, K., Okuda, T., Igarashi, Y. (2019) Modeling transition metals in East Asia and Japan toward predictions of aerosol oxidative potential and its emission sources, *GeoHealth*, to be submitted.
- 12) Kameda, T., Azumi, E., Fukushima, A., Tang, N., Matsuki, A., Kamiya, Y., Toriba, A., and Hayakawa, K. (2016) Mineral dust aerosols promote the formation of toxic nitropolycyclic aromatic compounds, *Sci. Rep.*, 6:24427, doi:10.1038/srep24427.
- 13) Maher, B. A., Ahmed, I. A. M., Karloukovski, V., MacLaren, D. A., Foulds, P. G., ALIsop, D., Mann, D. M. A., Torres-Jardon, R., and Calderon-Garciduenas, L. (2016) Magnetite pollution nanoparticles in the human brain, *PNAS*, 113(39), 10797-10801, doi:10.1073/pnas.1605941113.
- 14) Moteki, N., Adachi, K., Ohata, S., Yoshida, A., Harigaya, T., Koike, M., and Kondo, Y. (2017) Anthropogenic iron oxide aerosols enhance atmospheric heating, *Nature Comm.*, 8:15329, doi:10.1038/ncomms15329, 11 pp.
- 15) Okuda, T., Nakao, S., Katsuno, M., and Tanaka, S. (2007) Source identification of nickel in TSP and PM_{2.5} in Tokyo, Japan, *Atmos. Environ.*, 41, 7642-7648, doi:10.1016/j.atmosenv.2007.08.050.
- 16) Onishi, K., Sekiyama, T. T., Nojima, M., Kurosaki, Y., Fujitani, Y., Otani, S., Maki, T., Shinoda, M., Kurozawa, Y., and Yamagata, Z. (2018) Prediction of health effect of cross-border atmospheric pollutants using an aerosol forecast model, *Environ. Int'l*, 117, 48-56.
- 17) Petters, M. D., and Kreidenweis, S. M. (2007) A single parameter representation of hygroscopic growth and cloud condensation nucleus activity, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 1961-1971, doi:10.5194/acp-7-1961-2007.

- 18) Riemer, N., and West, M. (2013) Quantifying aerosol mixing state with entropy and diversity measures, *Atmos. Chem. Phys.*, 13(22), 11423-11439, doi:10.5194/acp-13-11423-2013.
- 19) Saffari, A., Daher, N., Shafer, M. M., Schauer, J. J., Sioutas, C. (2014) Seasonal and spatial variation in dithiothreitol (DTT) activity of quasi-ultrafine particles in the Los Angeles Basin and its association with chemical species, *J. Environ. Sci. Health, Part A: Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.*, 49(4), 441-451.

Ⅱ-2 粒子酸化能の自動観測と原因物質の特定に関する研究

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

(サブテーマ代表者)

計量標準総合センター 物質計測標準研究部門 無機標準研究グループ 大畑昌輝

(研究協力者)

計量標準総合センター 物質計測標準研究部門 無機標準研究グループ チョン千香子

[要旨]

市販のPM_{2.5}自動分析装置を母材とした、DTTアッセイを用いたPM_{2.5}の有する酸化能の全自動・連続測定装置 (Full Automated DTT Assay System; FADAS) を開発し特許出願した (特願2018-152342)。時間解像度は2時間で、PM_{2.5}とPM₁₀の質量濃度と酸化能を同時に測定できる。2017年度夏のつくば市集中観測において試験運用を実施した後、2017年度冬 (2018年1-2月) および2018年度春 (2018年5月) の福岡市でFADASによる連続測定を実施し、時間変化と日内変動について質量濃度と酸化能、微小粒子と粗大粒子の挙動の違いをそれぞれ明らかにした。

1. 研究開発背景等

PM_{2.5}による健康影響が懸念されるが、環境基準は質量濃度のみの規定である。ところがPM_{2.5}を構成する成分は様々であり、化学成分によってPM_{2.5}の毒性が異なったり、健康影響が異なることが考えられるが、国内において十分な知見があるとは言えない。国内のPM_{2.5}は年平均濃度が概ね減少傾向にあるものの、環境基準の達成率は平成24年度において、一般環境大気測定局で43%、自動車排出ガス測定局で33%と低い状況にある。(中央環境審議会大気・騒音振動部会微小粒子状物質等専門委員会)。さらなるPM_{2.5}削減対策が必要であるが、毒性も加味した場合には発生源のPM_{2.5}削減対策も優先順位が変わるため、毒性情報に関する基本的なデータを整備する必要がある。

2. 研究開発目的

本研究(サブテーマ2)では、PM_{2.5}の有する酸化能を評価するための連続測定装置(Full Automated DTT Assay System: FADAS と命名)の開発およびその応用を目的とする。サブテーマ3と協力し、既法であるジチオスレイトール(DTT)アッセイとの比較・相関付等に関する検討も、本研究に含まれる。

既法であるDTTアッセイとは、フィルタ試料を抽出した溶液中に還元剤であるDTTを混合してDTT消費量を評価することで粒子状物質の酸化能を評価する手法である。この酸化能は、HO-1の遺伝子発現変化と強い相関を持つことから、生体内の酸化ストレスの指標になると言われている。また、粒子状物質の曝露と酸化ストレスに起因する喘息などの病気の関連を明らかにする疫学研究においてもDTT酸化能が良い指標になることが示されている。

本推進費ではリアルタイム測定に近い時間分解能で各種の連続測定が望まれている。ヒトが粒子状物質に曝露された際の酸化ストレスを評価するためには、細胞を用いた評価の方がより現実に近いと考えられるが、現時点では細胞を用いたHO-1アッセイの連続測定化は不可能である。

そこで本研究では、DTTアッセイを連続測定化することでPM_{2.5}に由来する酸化ストレスの指標となるPM_{2.5}の有する酸化能の連続データを取得するための、PM_{2.5}の酸化能連続測定装置(FADAS)の開発を行った。

3. 研究開発方法

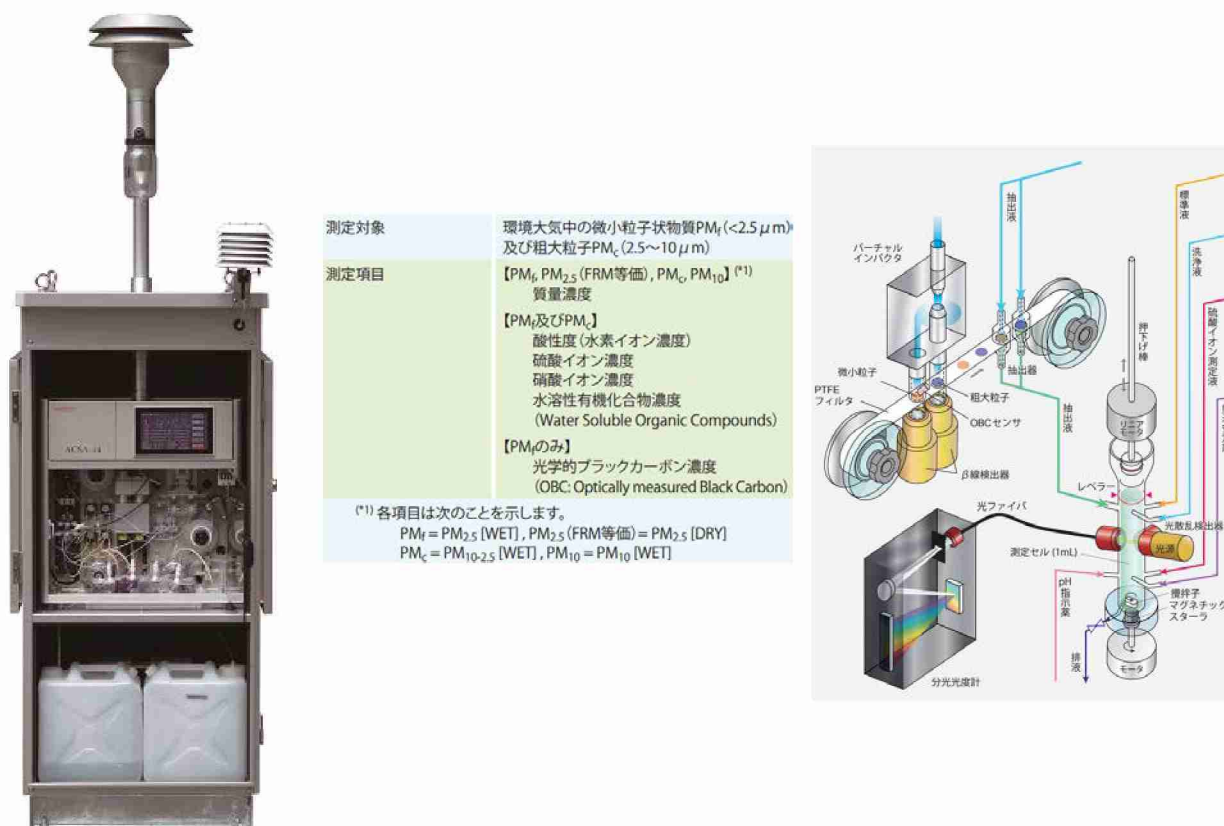
(2) 粒子酸化能の自動観測と原因物質の特定に関する研究 (サブテーマ 2)

(2-1) FADAS の開発 (案 1)

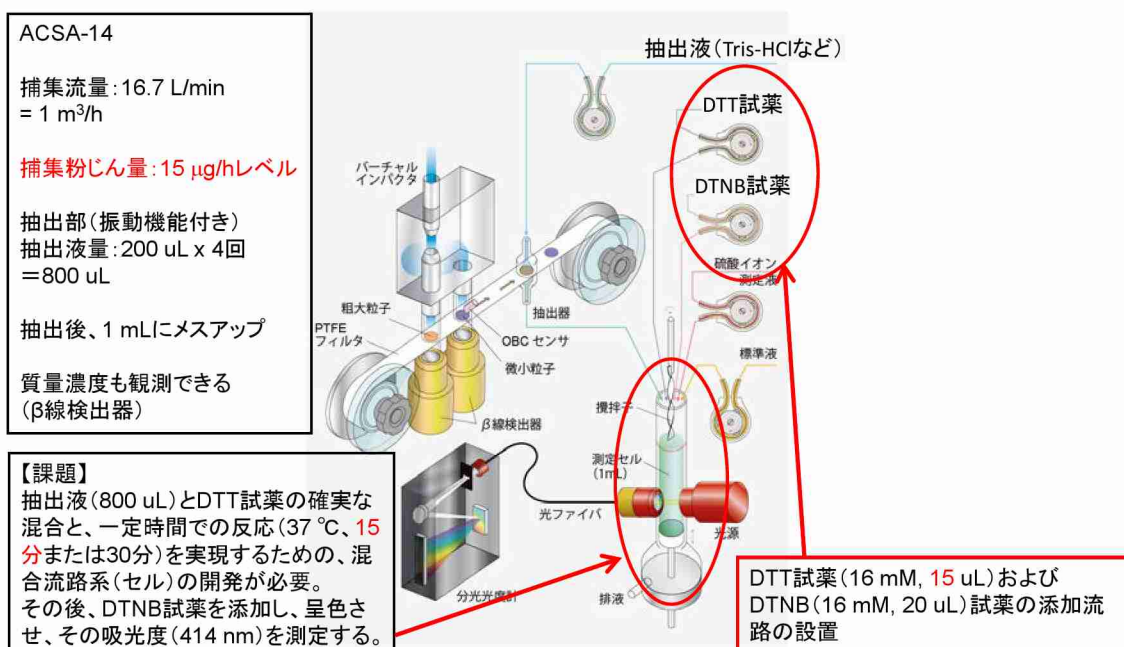
市販の PM_{2.5} 自動分析装置を母材として、DTT アッセイを用いた PM_{2.5} の有する酸化能を全自動・連続測定するための装置開発を行った。市販の PM_{2.5} 自動分析装置として選択されたのは、紀本電子工業株式会社製の ACSA-14 (大気エアロゾル化学成分連続自動分析装置) であった。図(2)-1 に ACSA-14 の外観、その測定項目などの仕様および装置構成を示す。当該装置 (ACSA-14) を選定した理由は、図(2)-2 に示す装置開発 (案 1) により、FADAS の開発が迅速に且つ費用対効果的にも効率的に行えると期待されたからである。

(2-2) FADAS の開発 (案 2)

後述するが、FADAS (案 1) の開発が可能であることが分かったので、紀本電子工業株式会社に FADAS 試作機の作製について打診を行った。しかしながら「FADAS 試作機作製のためには、ACSA-14 の大幅な改造が必要で、納期が間に合わない (2018 年 1 月くらいまでの納期で良いなら試作可能)」との見解が紀本電子工業株式会社から示されたため、やむなく FADAS (案 2) の検討も行った。



図(2)-1 ACSA-14 (紀本電子工業株式会社製) の外観、測定対象、測定項目および装置構成

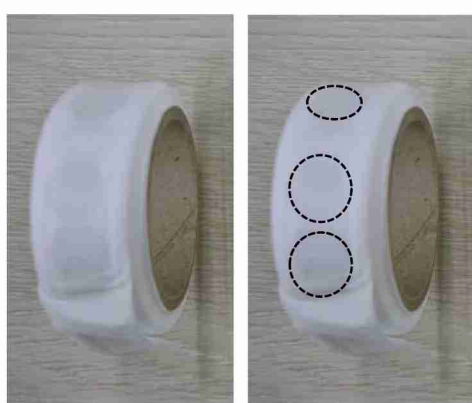


図(2)-2 FADAS (Full Automated DTT Assay System) の開発 (案 1)

4. 結果及び考察

(2) 粒子酸化能の自動観測と原因物質の特定に関する研究 (サブテーマ 2)

(2-1) FADSA 開発 (案 1) のための、少量 PM_{2.5} 試料を対象としたバッチ式 DTT アッセイ (既法) の検討
 FADSA 開発 (案 1) のために母材とした ACSA-14 で捕集される PM_{2.5} 試料は、約 15 µg/時と少量である。その少量試料を対象としても DTT アッセイが可能かどうか? 即ち FADAS の開発が可能であるかどうか? を判断するために、少量の PM 試料 (15 mg 程度) を用いたバッチ式の DTT assay が可能かどうか検討した。図(2)-3 に本検討で用いた試料 (PM_{2.5} および PM_{2.5}~10) とそれらの抽出条件を示す。また図(2)-4 にバッチ式 DTT アッセイで得られた呈色の様子を示す。PM 中の酸化能が高い場合には、図(2)-4 の黄色の呈色が薄くなるのだが、目視レベルでは判別はつかなかった。



<試料>

テフロンテープに捕集されたPM
 Fine (PM_{2.5}) と Coarse (PM_{2.5}~10)
 (JARI 萩野氏提供)
 採取場所: JARI (つくば)
 採取時期: 2016年2月頃
 採取粉じん量: 10~15 µg/m³ (推測)
 採取時間: 1時間 / 試料

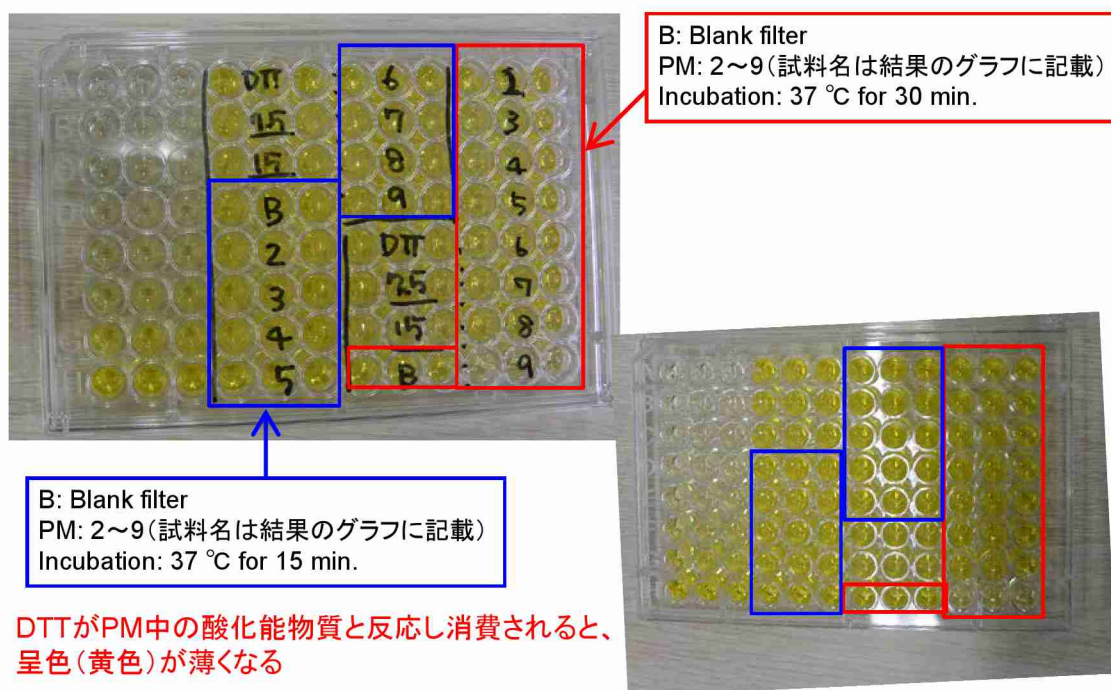
<抽出条件>

抽出液: Tris-HCl buffer (pH8.9)
 抽出量: 1.5 mL
 抽出法: 超音波抽出 (4 °C, 30 min)



粉じん捕集イメージ

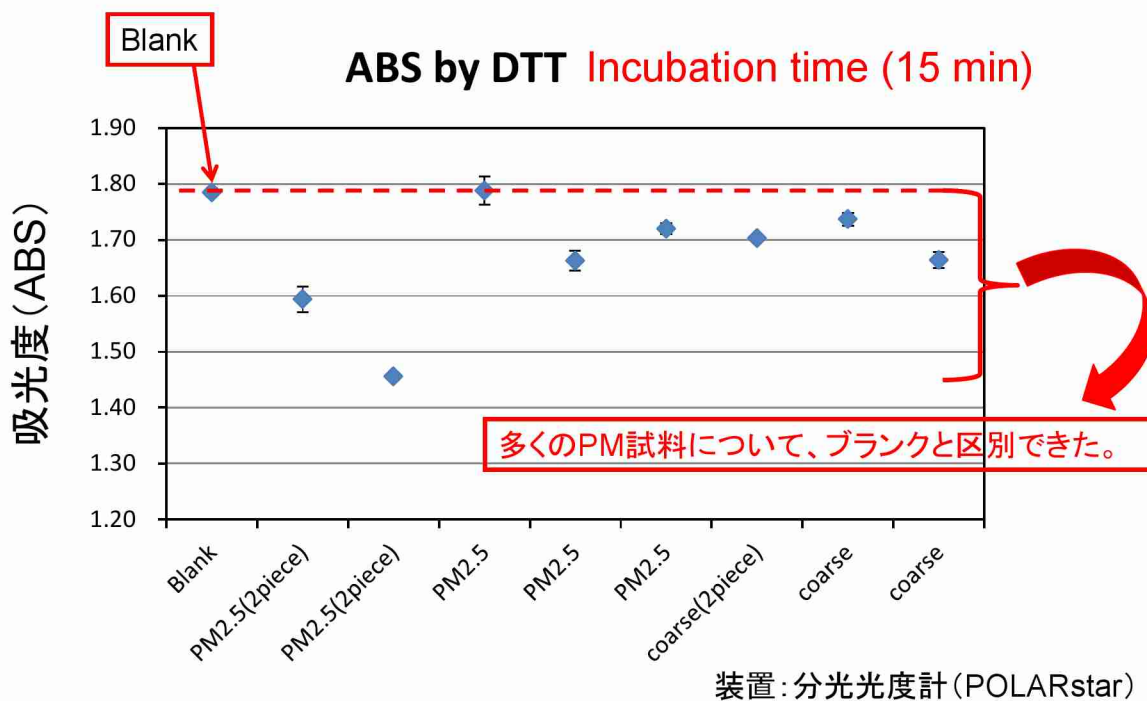
図(2)-3 本検討で使用した試料とバッチ式 DTT アッセイ (既法) のための試料抽出条件



目視レベルでの判別はつかなかったので、酸化能物質が少なく検出困難が予想された。

図(2)-4 バッチ式 DTT アッセイで得られた少量 PM 試料の呈色の様子

目視レベルでの判別が難しかったので、酸化能の評価が大変困難であることが予測されたが、既報（バッチ式の DTT アッセイ）の手順に従い、分光光度計を用いた測定を行った。その結果を図(2)-5 に示す。



図(2)-5 DTT アッセイ用試料 (図 4) から得られた吸光度

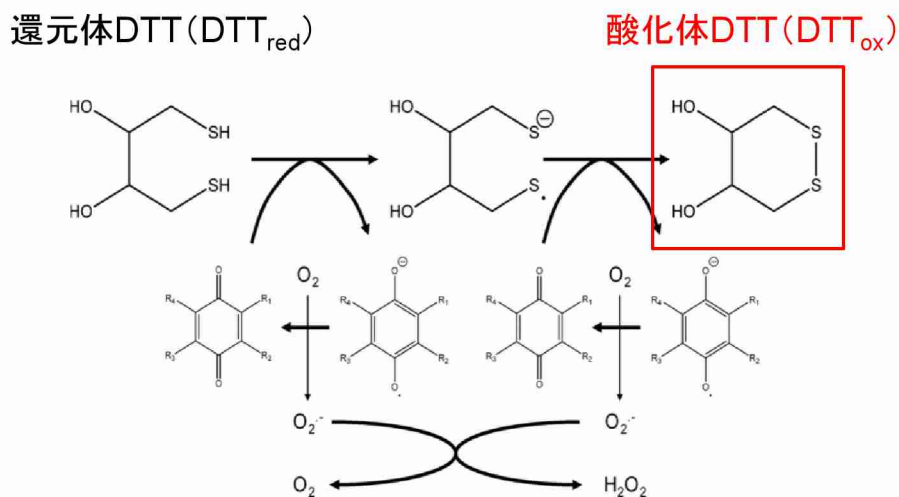
図(2)-5 の結果から、少量 PM 試料についてのバッチ式 DTT assay は実現可能である、即ちバッチ式 DTT アッセイの手順に沿った FADAS の開発が可能であることが分かった。

(2-2) FADAS の開発 (案 2)

FADAS (案 1) の開発が可能であることが分かったので、紀本電子工業株式会社にその打診を行った。しかしながら「FADAS 試作機作製のためには、ACSA-14 の大幅な改造が必要で、納期が間に合わない (2018 年 1 月くらいまでの納期で良いなら試作可能)」との見解が紀本電子工業株式会社から示された。

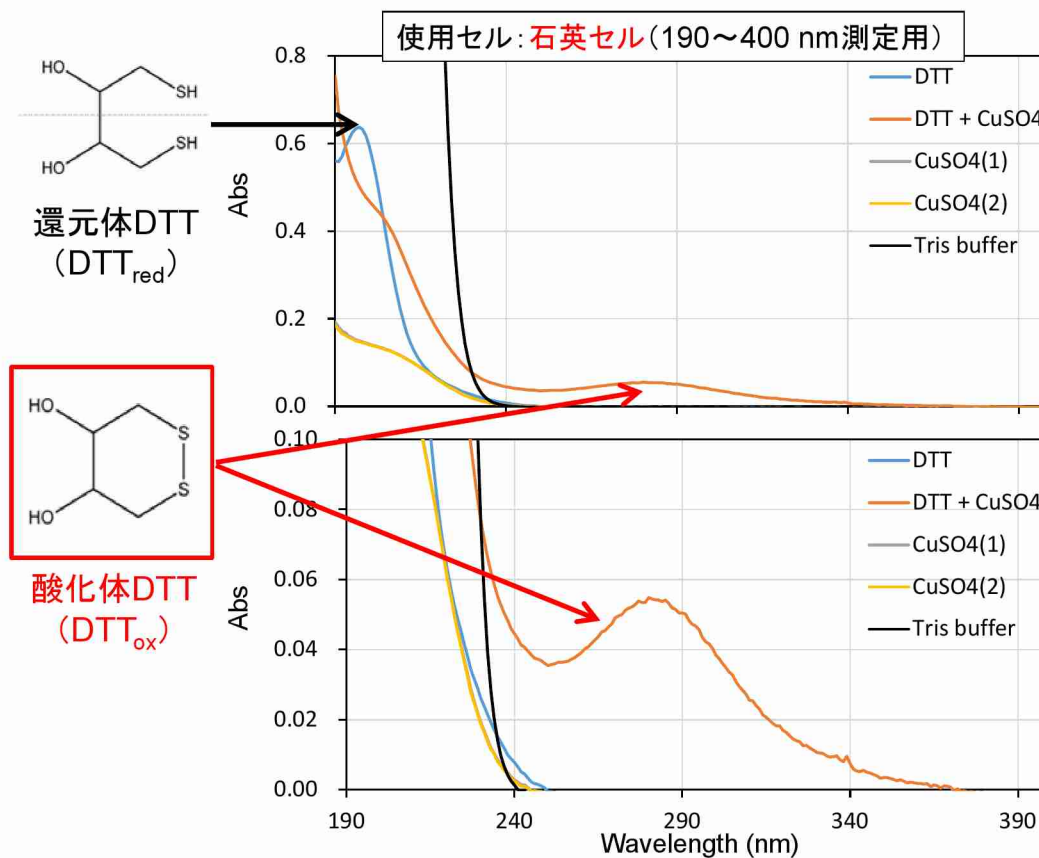
やむなく別法の検討を行ったところ、図(2)-6 に示す酸化体 DTT を測定する方法の可能性があることが既報 (Analytical and Bioanalytical Chemistry, (2013) Vol. 405, Issue 19, pp 6379-6384.) から分かったので、その方法について検討を行った。その結果を図(2)-7 に示す。

酸化反応した DTT (DTT_{ox}) を測定



図(2)-6 ACSA-DTT の開発 (案 2)

【参考文献】 Analytical and Bioanalytical Chemistry, (2013) Vol. 405, Issue 19, pp 6379-6384.



図(2)-7 模擬標準液についての酸化体 DTT 測定の検討結果

既報のバッチ式 DTT アッセイにおいて、銅 (Cu) は DTT アッセイに鋭敏である元素のひとつであることが知られていたため、Cu 標準液を用いた検討を行ったところ、図(2)-7 から分かるように、「銅 (Cu) 標準液+DTT 溶液」について酸化体 DTT に由来する 280 nm 付近の吸光スペクトルが観測された。この結果から、酸化体 DTT の測定が FADAS (案 2) として、適用できる可能性があることが分かった。本結果をもって、紀本電子工業株式会社から ACSA-14 を調達することとした。当該装置は 2017 年 1 月末に納品され、その後、図(2)-8 に示す様な FADAS (案 2) として検討を行った。図(2)-9 に FADAS (案 2) として装置が正常に動作しているかどうか確認を行った際の結果を示す。

ポイント
ACSA-14を上手に使用する

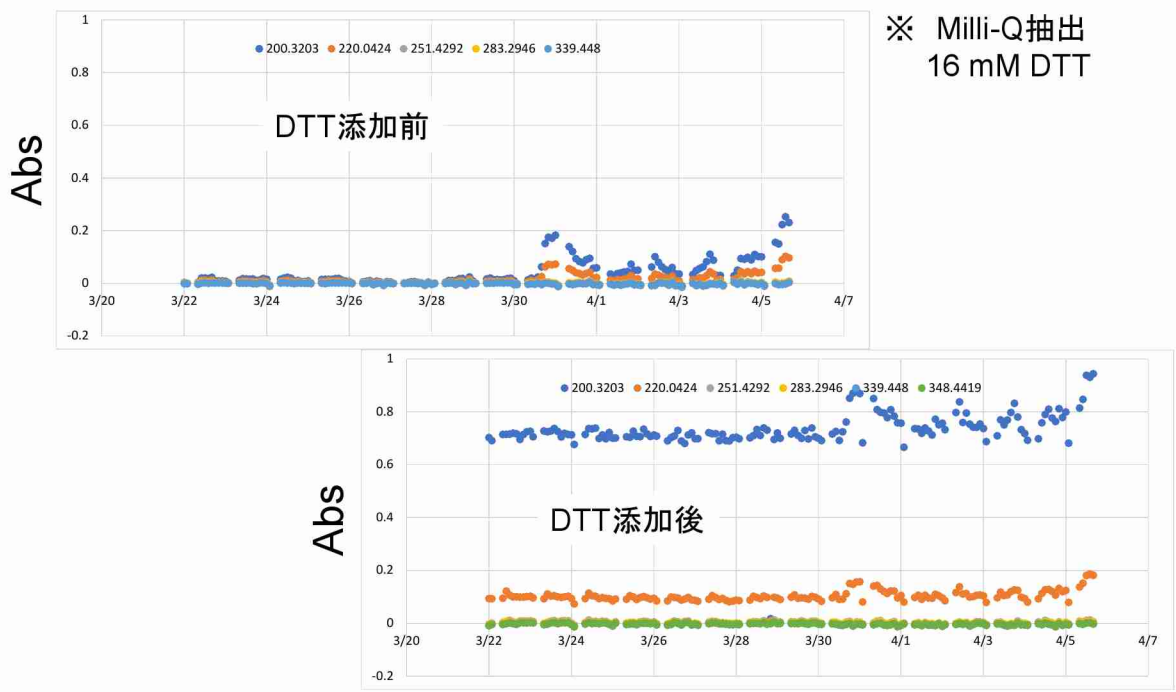
<検討結果>
PM_{2.5}およびPM₁₀ について、DTT反応後の吸光データを、**2時間毎**に得るための装置動作条件に設定でき、測定動作の確認ができた。

【課題】
抽出液(800 uL)とDTT試薬の混合と、一定時間での反応(理想的には37℃、**15分**または**30分**)を実現する。



DTT試薬(16 mM, 15 uL)添加

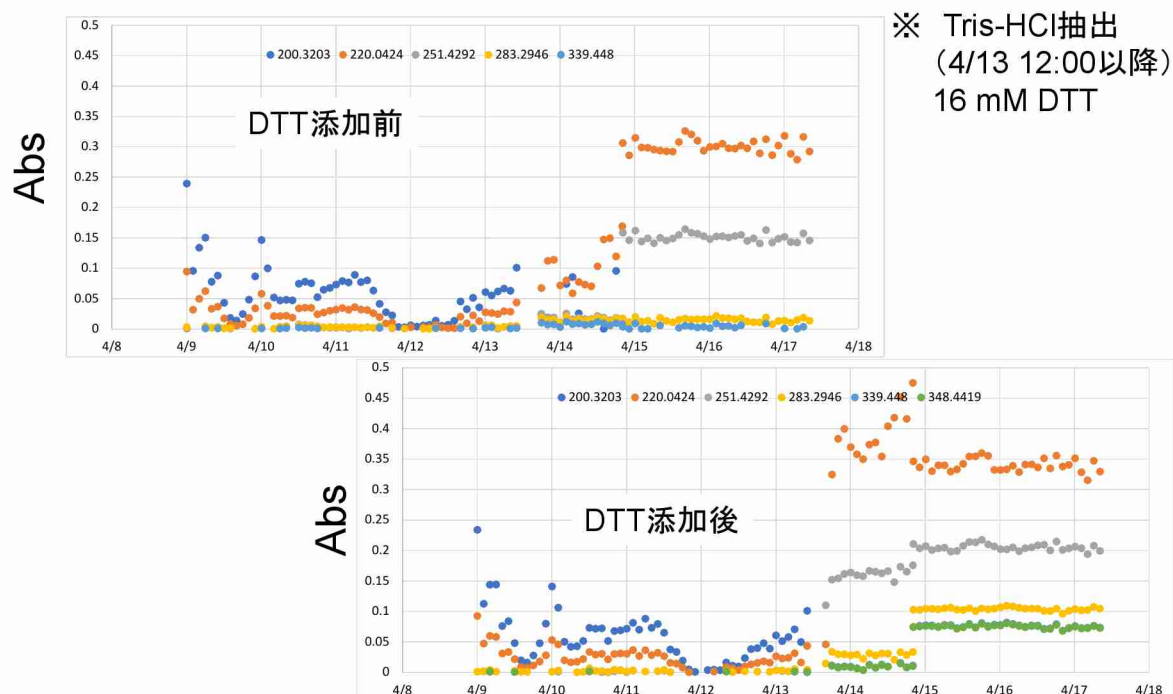
図(2)-8 FADAS (案2) の装置仕様と検討課題



図(2)-9 FADAS (案2) による DTT 添加前と添加後の吸光度の変化：抽出液は超純水 (Milli-Q)

図(2)-9 から、DTT 添加後に 200 nm の吸光度が大きくなっていることが確認できる。これは測定時に DTT が確実に反応セルに添加された証拠である。外気からの PM_{2.5} も捕集・抽出され DTT が添加されているはずであるが、283 nm の吸光度の変化が DTT 添加前後で見られなかったため、Milli-Q 抽出では ACSA-DTT として

PM2.5 の酸化能を評価することは出来なさそうであることが分かった。そこで抽出液に、バッチ式の DTT アッセイ（既報）で使用される Tris 緩衝液を採用し、測定を行った。その結果を図(2)-10 に示す。



図(2)-10 FADAS（案2）による DTT 添加前と添加後の吸光度の変化：抽出液は Tris 緩衝液

図(2)-10 から、DTT 添加前後で 283 nm の吸光度に変化が得られているのが分かる。PM2.5 に含まれる成分が DTT 試薬と反応した結果の吸光度の変化であると考えられるので、本 FADAS（案2）による PM2.5 の酸化能の全自動・連続測定のデモンストレーションに成功したと考えることができた。但し、本吸光度の変化と PM2.5 の変化の相関評価や、本吸光度の大きさとバッチ式 DTT アッセイ（既法）との相関評価など、が検討課題として考えられた。

(2-3) FADAS（案1）の開発

前述した通り、(2-2)で FADAS（案2）の開発が可能であることが実証できたものの、バッチ式の DTT アッセイ（既法）の連続自動測定装置化が実証できたわけではなかったため、引き続き、既法のバッチ式 DTT アッセイの連続自動測定装置化に拘り、その検討を継続した。

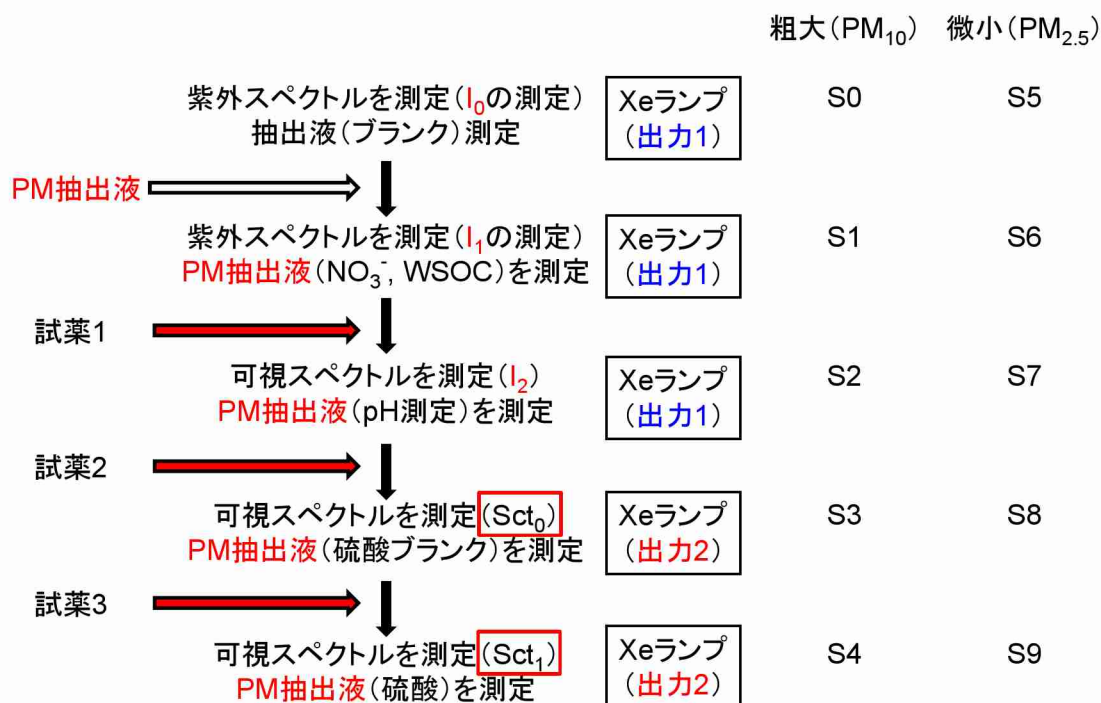
ACSA-14 の装置仕様の詳細について、紀本電子工業株式会社へ引き続きしつこく問い合わせしたところ、一つ一つではあったが、ACSA-14 の装置仕様の詳細が明らかになっていき、結果として、後述する既法のバッチ式 DTT アッセイを連続自動測定装置化した FADSA（案1）の開発とその実証に成功した。これまでの検討事項とその経緯を改めて次にまとめた。

これまでの検討事項とその経緯

- ① 少量試料でのDTT assayの検討(2016年度)
 - ・FADAS(案1)の装置化が可能かどうかを判断するため。
 - ・少量(ca. 15 μg)のPMでDTT assay(バッチ)が可能を旨を実証。
 - ⇒FADAS(案1)プロトタイプ機の開発が可能
- ② FADASプロトタイプ機の開発の検討(2016年度)
 - ・紀本電子工業に打診⇒1.5年超の開発期間を要する見積もり。
 - ・一方で、予算は次年度繰越などできない(納期も年度内)。
 - ⇒2016年度内の開発を断念。
 - ・DTT_{ox}でのDTT assayの見込み(FADAS(案2)に資する)を検討(以上を2016年8月22日アド会で報告)
- ③ ACSA-14を用いたDTT assayの検討(2016年度中盤～2017年度前半)
 - ・ACSA-14を調達し、DTT_{ox}を指標としたFADAS(案2)の検討・動作確認(2017年7月27日アド会で報告)
 - ・一方で、従来法のDTT_{red}を指標としたFADAS装置化について、あきらめず模索・検討⇒ACSA-14の動作でFADASを実施できることに気付く(2017年9月末)
- ④ ACSA-14を用いたFADAS(案1)の検討(2017年9月末～12月末)
 - ・FADAS(案1)による全自動DTT assayの動作を確認
- ⑤ FADAS(案1)を用いたPM_{2.5/10}の全自動DTT assay(2018年1月～)
 - ・連続観測@福大(1月および5月)を実施

下記に ACSA-14 の測定シーケンスを示す。

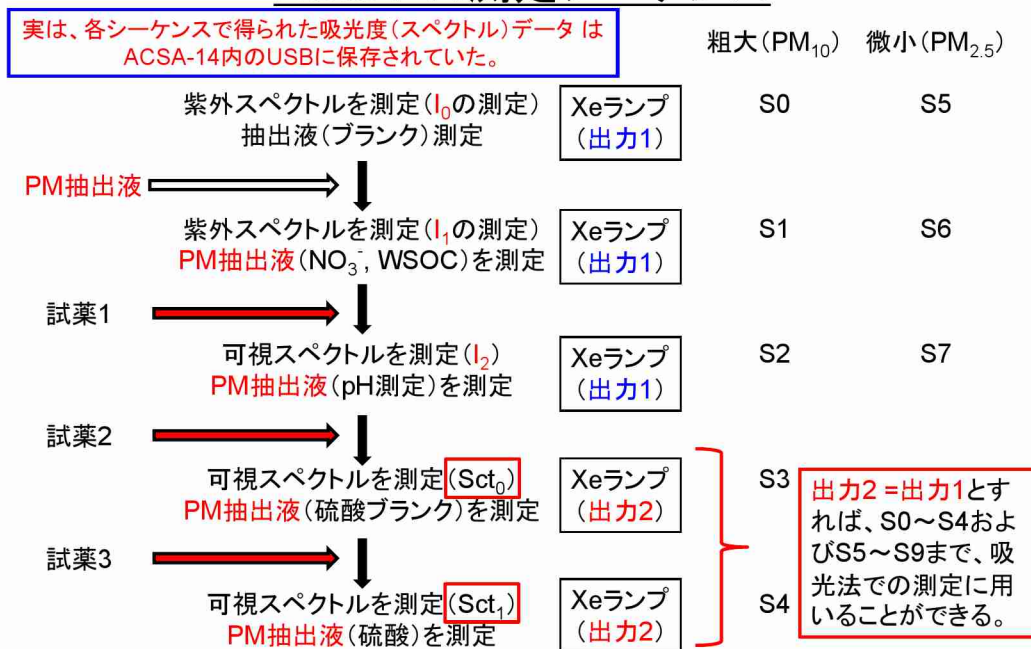
ACSA-14測定シーケンス



注) 上記中の I は吸光度を、Sc は散乱光強度を、S0～S9 は測定シーケンスを意味する。

上記の ACSA-14 の測定シーケンスに加え、紀本電子工業株式会社から聞き取りを行い判明した情報を次に示す。

ACSA-14測定シーケンス



上記中にあるように、ACSA-14 は各シーケンスで得られた吸光度データを ACSA-14 内の USB に保存しており、また Xe ランプの出力も全てのシーケンスで同一にできることも判明した。

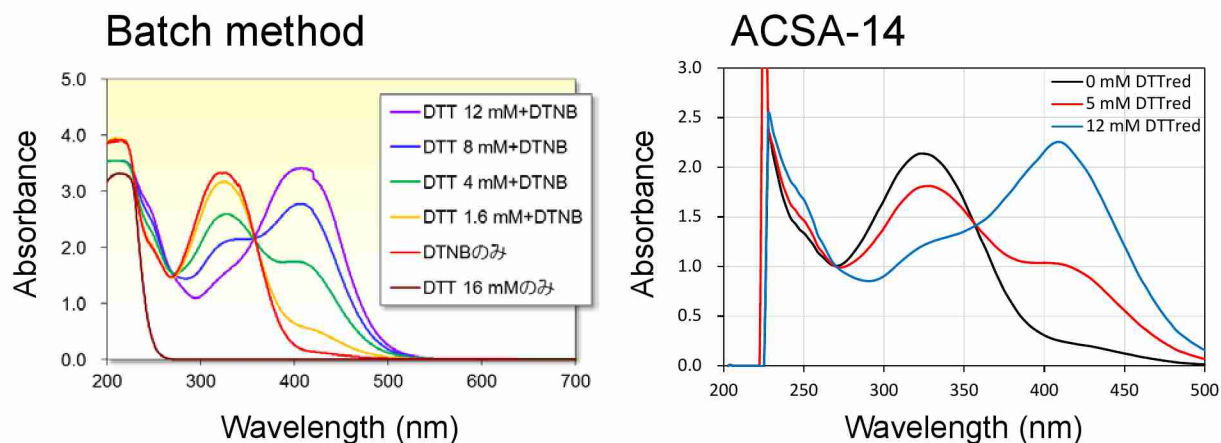
FADAS測定シーケンス



そこで前述に示した FADAS の測定シーケンスの通り、Xe ランプの出力を全測定シーケンスで同一にした条件下で USB に保存された吸光度データを FADAS に利用することとした。上記のシーケンスで ACSA-14 を利用することにより、本研究で目標としていた FADAS (案 1) を実施できることが判明した。

図(2)-11 に、バッチ式 DTT アッセイと ACSA-14 により得られた、吸光スペクトルを示す。FADAS (ACSA-14 を使用) によって得られた吸光スペクトルと、バッチ式 DTT アッセイで得られた吸光スペクトルが同様であることから、FADAS によって DTT アッセイが連続自動的に実施できることが確認できた。

Spectra observed for DTT assay between batch method and ACSA-14



付記: 図中の DTT_{red} 濃度は、装置反応セル内溶液 (1000 μ L) に添加した DTT_{red} 濃度 (10 μ L)

図(2)-11 バッチ式 DTT アッセイと FADAS (案 1) で得られた、DTT アッセイ時の吸光スペクトル

(2-4) FADAS による連続観測の実施

FADAS による PM 中の酸化能の連続観測を実施した。実施場所は福岡大学 18 号館屋上で、実施時期は 2018 年 1 月中旬～2 月前半の 3 週間程度と、2018 年 5 月前半から 5 月末までの 3 週間程度である。観測当時の福岡大学 18 号館屋上の風景は、次の写真の通りであった。

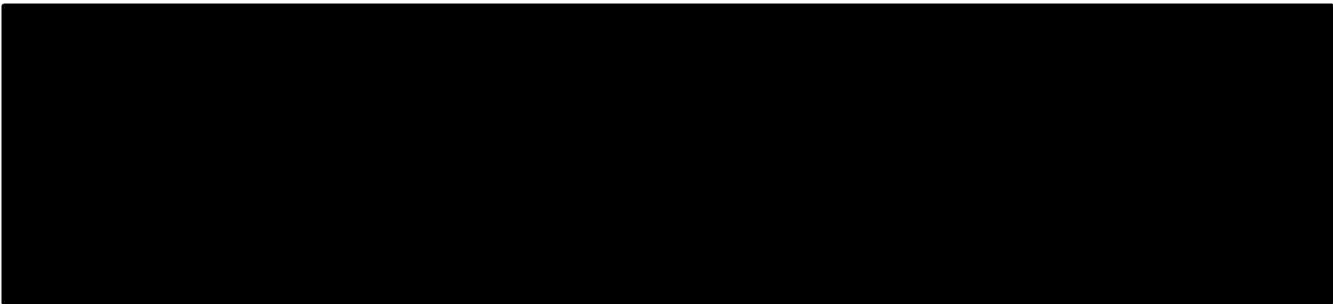
産総研のACSA-14

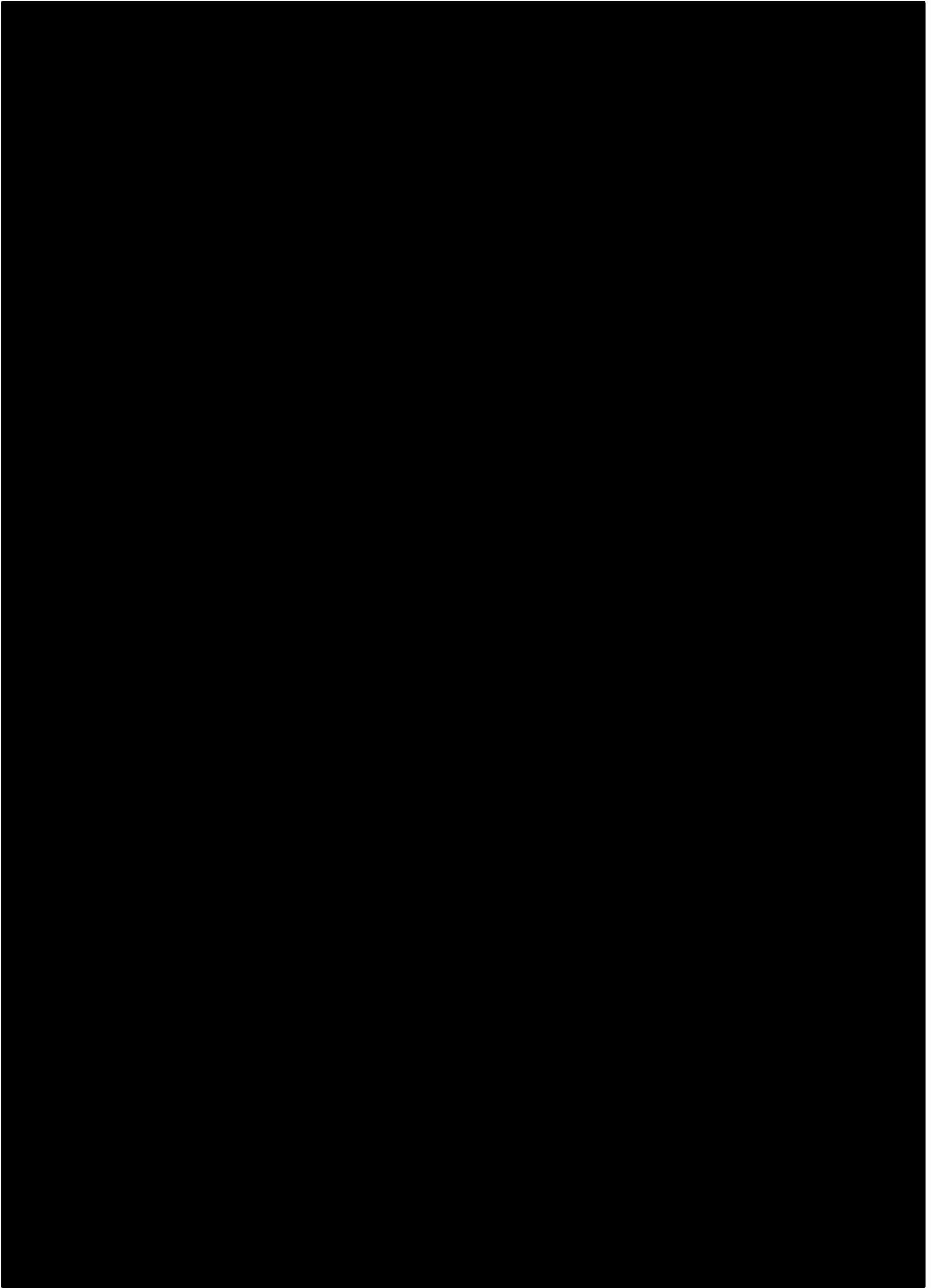


福岡大学18号館



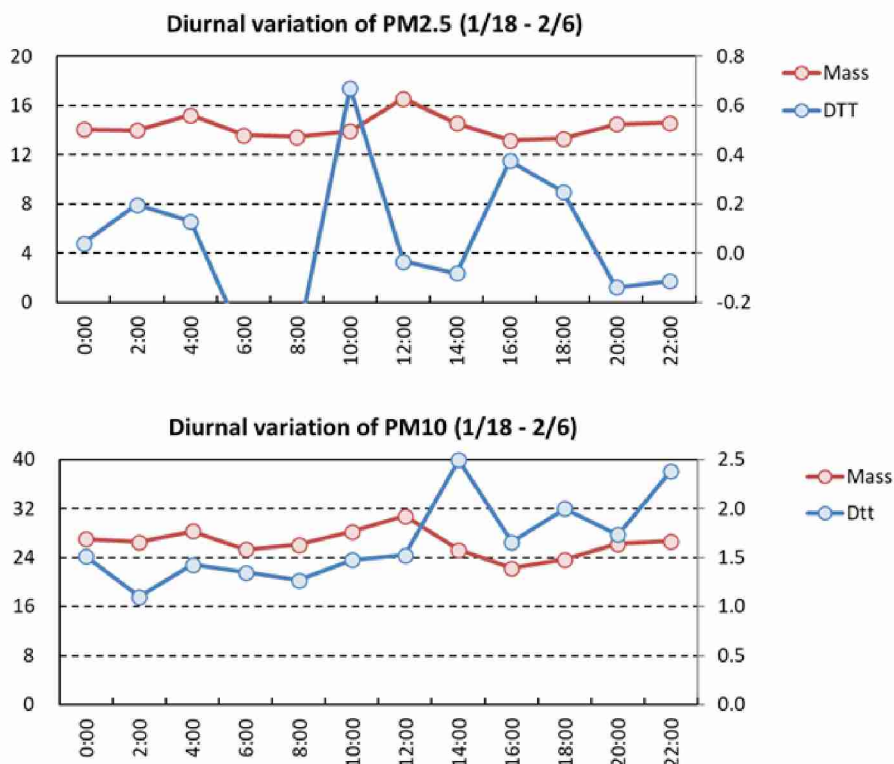
写真(2)-1 福岡大学 18 号館とその屋上の風景





(2-5) FADAS の時間分解能を生かした解析

従来の1日間隔の測定法に対して、FADASが可能とした高時間分解能測定の特長は大きい。たとえば、人間活動の時間スケールであり健康影響評価に適う、ナウキャストが可能で社会的に有用なデータを提供できる、気象場の変化を十分追従できるため発生源解析に必要、などが挙げられる。その特長を生かした解析の一つが日内変動解析である。その一例として、図(2)-15に2018年1月の福岡観測期間中のPM_{2.5}およびPM₁₀の質量濃度と酸化能の日内変動結果を示す。本観測期間中は越境汚染の寄与率が高いため(サブ1で実施したモデル試算では期間平均国内寄与率は15%未満)、越境汚染のイベントがあった時間にピークが表れてしまうため、この図に示される日内変化自体に大きな意味はない。しかし、質量濃度と酸化能の変動が顕著に異なる例も見られる。今後、ラッシュアワーや境界層高度の日変化等による明瞭な日内変動が期待される発生源近傍において同様の解析を実施し、健康影響評価に有用な情報を提供していきたい。



図(2)-15 2018年冬の福岡観測期間中のPM2.5およびPM10の質量濃度と酸化能の日内変動

ACSA-14による全自動DTT assayに成功

改善の余地はあるが基礎的な装置開発に成功！！

特許出願済み：特願2018-152342

【発明の名称】大気中に存在する粒子状物質の酸化能の測定装置および測定方法

現時点での測定対象

・PM_{2.5}およびPM₁₀のDTT_{red}消費量

改善の余地は？

- ・PM抽出率
- ・反応時間制御 (ACSAプログラムで調整可能もやや複雑)
- ・反応管の温度制御 ⇒ 装置本体の室内設置でそれなりに対応可能
- ・試薬 (DTT_{red}およびDTNB) の安定性について
⇒ 冷蔵保管が好ましいが、室内設置でそれなりに対応可能
- ・専用のソフトウェアとデータの出力・保存 (USBではなくPCに)
- ・測定対象物質の追加？
- ・その他(?)



本研究では諸事情により FADAS 専用機の試作には至らなかったが、相当の性能を有する装置 (ACSA-14) を適切に選択・調達し、その装置の仕様の詳細を突き止めることで、本研究の目的であった連続自動 DTT アッセイ装置、FADAS (Full Automated DTT Assay System) の開発に成功した。上記の通り改善の余地が多々あるが、仮題は明確になっているので、FADAS 専用機の開発を目指して、それら課題を解決した装置の試作・開発について、今後検討していきたい。

5. 本研究開発により得られた成果

(1) 科学的意義

市販の PM_{2.5} 自動分析装置を母材とした、DTT アッセイを用いた PM_{2.5} の有する酸化能の全自動・連続測定装置の開発を実現することができた。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

発生源の情報と PM_{2.5} の有する酸化能の情報が繋がれば、排出量のみで決まらない PM_{2.5} 削減対策が可能となる。

6. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表 (学会等)

1) 大畑昌輝：日本分析化学会第 65 年会 (2016)

微粒子化・ガス交換・ICPMS を用いた気中極微量ガス状元素化合物の直接分析

2) 梶野瑞王、五十嵐康人、財前祐二、足立光司、関山剛、大畑昌輝、藤谷雄二、古山昭子、萩野浩之：

2016 年福岡から診る大気環境研究所研究会 (2016) 観測・モデルを併用した粒子酸化能研究の立ち上げ

3) 大畑昌輝：2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2019)

ICPMS を用いた大気環境リアルタイムモニタリングの可能性

4) チョン千香子、大畑昌輝：2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2019)

粒子酸化能の変動を掴む全自動測定装置の開発

5) 梶野瑞王、Joseph Ching、足立光司、財前祐二、関山剛、木名瀬健、五十嵐康人、萩野浩之、森川多

津子、藤谷雄二、古山昭子、大畑昌輝、チョン千香子：2018 年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2019) 金属由来の酸化能に関する観測的および数値的研究

(3) 出願特許

特願2018-152342【発明の名称】大気中に存在する粒子状物質の酸化能の測定装置および測定方法

(4) シンポジウム、セミナーの開催 (主催のもの)

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

Ⅱ-3 呼吸器炎症に関連する粒子酸化能評価に関する研究

国立研究開発法人国立環境研究所

(サブテーマ代表者)

環境リスク・健康研究センター

統合化健康リスク研究室 藤谷雄二

(研究分担者)

環境リスク・健康研究センター

統合化健康リスク研究室 古山昭子

[要旨]

PM_{2.5}による健康影響が懸念されるが、環境基準は質量濃度のみの規定である。ところがPM_{2.5}を構成する成分は様々であり、化学成分によってPM_{2.5}の毒性が異なり、健康影響も異なることが考えられるが、国内において十分な知見があるとは言えない。さらなるPM_{2.5}削減対策が必要であるが、毒性も加味した場合には発生源のPM_{2.5}削減対策も優先順位が変わるため、毒性情報に関する基本的なデータを整備する必要がある。

酸化ストレスは健康影響のエンドポイントの一つである。本研究では国内2地点（つくば、福岡）それぞれ2季節のPM_{2.5}環境試料を対象に、ジチオスレイトール（DTT）アッセイによる粒子状物質の酸化能とともに、ヘムオキシゲナーゼ-1（HO-1）の遺伝子発現変化により酸化ストレスの誘導能を評価した。また、酸化能と酸化ストレスの関係、化学成分と酸化能あるいは酸化ストレスの関係、季節や場所の特徴について明らかにした。また、粒子状物質に含まれている化学成分（遷移金属、キノン類等）について、試薬による試験を行い、各成分の応答性を評価した。

水抽出試料について、単位気中あたりの酸化能は福岡春季試料が高く、単位質量当たりの酸化能はつくば夏季試料が高かった。酸化ストレスは福岡冬季試料が高かった。DCM抽出試料について、単位気中あたりの酸化能および単位質量当たりの酸化能、および酸化ストレスはつくば冬季が高かった。水抽出試料については水溶性銅成分が全体の20-30%程度の消費量を占めていた。つくば冬季と福岡冬季の差は水溶性銅成分濃度の差による消費量の違いで説明できた。DCM抽出試料についてはキノン類がつくば冬季で高く、成分との対応関係が一貫していた。これらの成分の含有量が多い場合に単位PM量当たりのDTT消費量が多い傾向が確認された。また銅のうち、水溶性画分は酸性度と相関が見られた。以上のように季節、場所、評価指標により特徴が異なった。

酸化能はPM_{2.5}濃度と相関があり酸化ストレスとも相関が見られた。ただしDTTを消費しないがHO-1を誘導する成分（Cd, Pb等）の含有量が多い場合には酸化能が低い酸化ストレスが高くなる傾向がみられた。

[キーワード]

PM_{2.5}、酸化ストレス、酸化能、HO-1、DTTアッセイ

1. はじめに

PM_{2.5}による健康影響が懸念されるが、環境基準は質量濃度のみの規定である。ところがPM_{2.5}を構成する成分は様々であり、化学成分によってPM_{2.5}の毒性が異なり、健康影響も異なることが考えられるが、国内において十分な知見があるとは言えない。国内のPM_{2.5}は年平均濃度が概ね減少傾向にあるものの、環境基準の達成率は平成24年度において、一般環境大気測定局で43%、自動車排出ガス測定局で33%と低い状況にある。

(中央環境審議会大気・騒音振動部会微小粒子状物質等専門委員会)。さらなるPM_{2.5}削減対策が必要であるが、毒性も加味した場合には発生源のPM_{2.5}削減対策も優先順位が変わるため、毒性情報に関する基本的なデータを整備する必要がある。

2. 研究開発目的

本研究ではPM_{2.5}について化学成分と、酸化能、酸化ストレスの関係を明らかにすることを目的とする。酸化能の評価には試薬を用いた試験法であるジチオスレイトール (DTT) アッセイを行った。また、酸化ストレスの評価には細胞を用いたヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) アッセイを行った。

DTT アッセイとは、フィルタ試料を抽出した溶液中に還元剤である DTT を混合して DTT 消費量を評価することで粒子状物質の酸化能を評価する手法である (Kumagai et al., 2002)。この酸化能は、HO-1 の遺伝子発現変化と強い相関を持つことから、生体内の酸化ストレスの指標になると言われている (Li et al., 2003)。また、粒子状物質の曝露と酸化ストレスに起因する喘息などの病気の関連を明らかにする疫学研究においても DTT 酸化能が良い指標になることが示されている。さらに、細胞を用いて、粒子状物質の溶液を細胞に曝露して生存率の評価および HO-1 遺伝子発現変化の評価も行った。細胞は金属や脂溶性有機物・それらの曝露により発生する活性酸素によって生じる酸化ストレスに対する防御系を持っており、グルタチオンなどの抗酸化成分や HO-1 をはじめとする抗酸化酵素である。よって抗酸化酵素 HO-1 の誘導は酸化ストレスの指標となる。大気中粒子の酸化能そのものと、元々金属を利用して防御系を持っている細胞が受ける酸化ストレスが一致するかどうかを比較する必要がある。

本推進費ではリアルタイム測定に近い時間分解能で各種の連続測定が望まれている。ヒトが粒子状物質に曝露された際の酸化ストレスを評価するためには、細胞を用いた評価の方がより現実に近いと考えられるが、現時点では細胞を用いた HO-1 アッセイの連続測定化は不可能である。そこで本研究では DTT アッセイを連続測定化することにより、酸化ストレスの指標となる酸化能の連続データを取得することとした。そして DTT アッセイの連続データとフィルタ試料によるオフラインデータの相対化、さらにはフィルタ試料の DTT アッセイと HO-1 アッセイの結果を比較することで DTT アッセイの連続データの有効性を担保することとした。これによりサブテーマ2で行う DTT アッセイの連続測定結果と細胞を用いた酸化ストレス評価のオフライン測定結果を関連づけることができると考えられる。酸化能と酸化ストレスの関係性から適応可能な状況を明らかにする必要がある。

また DTT アッセイおよび HO-1 アッセイに用いた試料はバッファーあるいは超純水 (DDW) とジクロロメタン (DCM) により抽出されたものを使用した。これは体内に沈着した後の粒子の挙動は、水溶性物質と脂溶性物質の総和と考えられるためである。これらの抽出法で同時に両アッセイを比較した研究例はないと考えられる。

3. 研究開発方法

(3-1) 試薬試験

PM_{2.5}に含まれていると考えられる成分について試薬を用いて DTT アッセイおよび細胞アッセイを行い、化学成分の酸化能および酸化ストレス誘導能を評価した。対象とした元素および有機物を表(3)-1 に示す。のべ66の文献から各成分のPM含有量あるいは大気中濃度を調べ、1.5 mlの溶媒に溶解させた場合の溶液濃度を求めた。本研究で行った試験の濃度範囲はおおむね現実的な濃度範囲で行った。試薬試験の DTT アッセイおよびHO-1 アッセイの手順は(3-2)に記す環境試料の場合と同じとした。ただし、試薬アッセイ時のDMSO濃度としては0.1%となるように調整した。対象成分の濃度は表(3)-1に示す間の濃度を数点に振って評価した。

表(3)-1 試薬試験に用いた試薬と濃度範囲および反応性

	使用試薬	対象物質としての試験範囲			反応性			
		分子式	最小値	最大値	抽出液	DTT	細胞毒性	HO-1
			mg/l	mg/l				
Mn ²⁺	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.0114	2.2831	Aquatic	○	○	△	
Fe ³⁺	FeCl ₃	0.0142	55.8500	Aquatic	○	×	×	
Ni ²⁺	NiSO ₄ · 6H ₂ O	0.0017	0.3468	Aquatic	○	×	△	
Cu ²⁺	CuSO ₄	0.0032	0.6418	Aquatic	○	○	○	
Zn ²⁺	ZnSO ₄	0.0033	0.6536	Aquatic	×	○	○	
Cd ²⁺	CdCl ₂ · 2.5H ₂ O	0.0006	11.1987	Aquatic	×	○	○	
Pb ²⁺	(CH ₃ COO) ₂ Pb	0.0104	20.7129	Aquatic	×	○	○	
As ⁵⁺	Na ₂ HAsO ₄ · 7H ₂ O	0.0004	7.7948	Aquatic	×	○	○	
Fe ²⁺	FeCl ₂	0.0138	2.7584	Aquatic	○	-	-	
Sc ³⁺	Sc ₂ (SO ₄) ₃ · 8H ₂ O	0.0004	8.9576	Aquatic	×	-	-	
Co ²⁺	CoSO ₄ · 7H ₂ O	0.0003	5.9203	Aquatic	○	○	×	
V ⁵⁺	V ₂ O ₅	0.0051	1.0290	Aquatic	×	×	△	
Cr ⁶⁺	CrO ₃	0.0025	0.5024	Aquatic	×	-	-	
Fe	Mixture of FeO and Fe ₂ O ₃	0.0500	10.0000	Aquatic	×	×	×	
9,10-フェナントラキノン	C ₁₄ H ₈ O ₂	0.0051	0.5150	DCM	○	○	○	
		0.0051	0.0505	Aquatic	×	-	-	
1-ニトロピレン	C ₁₆ H ₉ NO ₂	0.0053	0.5250	DCM	×	×	○	
		0.0052	0.5200	Aquatic	×	-	-	
ベンゾピレン	C ₂₀ H ₁₂	0.0063	0.6250	DCM	×	×	×	
		0.0625	0.6250	Aquatic	×	-	-	
シュウ酸	C ₂ H ₂ O ₄	0.0900	9.0000	DCM	-	×	×	
		0.0900	1.8000	Aquatic	×	-	-	
アゼライン酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	0.0940	0.9400	DCM	×	-	-	
		0.0188	1.8820	Aquatic	×	-	-	
1,4-ベンゾキノン	C ₆ H ₄ O ₂	0.0620	1.0800	DCM	○	-	○	
2-メチル-1,4-ナフトキノン	C ₁₁ H ₈ O ₂	0.01	0.63	DCM	○	-	-	
ピレン	C ₁₆ H ₁₀	0.01	0.62	DCM	×	-	-	
1,2-ナフトキノン	C ₁₀ H ₆ O ₂	0.01	0.63	DCM	○	-	-	
ベンゾ[b,j,k]フルオランテン	C ₂₀ H ₁₂	0.06	0.64	DCM	×	-	-	
6-ニトロベンゾaピレン	C ₂₀ H ₁₁ NO ₂	0.0005	0.05	DCM	○	-	-	
フルオランテン	C ₁₆ H ₁₀	0.06	0.65	DCM	×	-	-	

Aquatic: Tris-HCl buffer for DTT and distilled water for cellular study
DCM: Dichloromethane

○: 反応有かつ濃度依存性有
△: 反応有だが濃度依存性無
×: 反応無 -: 未実施

(3-2) 環境中のPM_{2.5}捕集および環境試料分析

PM_{2.5}について化学成分と酸化能、酸化ストレスの関係を明らかにするために、2017年1月10日から1月30日、2017年7月20日から8月9日まで、国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験棟の裏において、PM_{2.5}のフィルタ捕集を行った。また、2018年1月18日から2月7日、2018年5月10日から5月30日に福岡大理学部屋上においてPM_{2.5}のフィルタ捕集を行った。図(3)-1および図(3)-2にそれぞれの測定地点における写真を示す。表(3)-2に本研究で得た全試料のIDおよび捕集日等の情報を示す。本研究ではPM_{2.5}の捕集はFRM サンプラ (Thermo 社製あるいはR&P 社製、Model 2000) を2台用いて行った。本体は屋外に設置し、つくばの観測ではSPMインレットを地面から3mの高さになるように設置した。福岡大は屋上であったため、SPMインレットを地上から2.1mの高さになるように設置した。その下流にPM_{2.5}カット用のVSCサイクロンを経てフィルタに捕集した。サンプリング開始時刻は11時、終了時刻は次の日の10時半とし、23.5時間、16.7 L min⁻¹で採気した。また同時にハイボリューム (HV) サンプラ (SIBATA, HR-1000R 型) 1台を使用して、23.5時間、流量は520 L min⁻¹で採気した。採気口の高さはつくば、福岡いずれも1.4mとした。PM_{2.5}カットインパクタは新型の兼保式とし、粗大粒子の跳ね返りを防ぐ目的でジェルシートを使用して粗大粒子を捕捉した。週末は両サンプラとも、金曜日の11時から翌週月曜日の10時半までの捕集とし、71.5時間の捕集時間とした。FRM サンプラではテフロンフィルタ (FP-500、住友電工：47 mm φ)、石英フィルタ (2500QAT-UP、Pallflex：47 mm φ) にそれぞれ捕集した。HV サンプラではテフロンフィルタ (WP-500-50、住友電工：8×10inch) を用いて粒子を捕集した。



図(3)-1 つくば観測地点の様子



図(3)-2 福岡観測地点の様子

表(3)-2 サンプル ID およびサンプリング記録

捕集開始日時	捕集終了日時	場所	テフロンフィルタFRM	石英フィルタFRM	テフロンフィルタHV	付記
2017/1/10 11:00	2017/1/11 10:30	つくば	TKB-49	TKB-Q01	HV51	
2017/1/11 11:00	2017/1/12 10:30	つくば	TKB-50	TKB-Q02	HV52	
2017/1/12 11:00	2017/1/13 10:30	つくば	TKB-51	TKB-Q03	HV53	
2017/1/13 11:00	2017/1/16 10:30	つくば	TKB-52	TKB-Q04	HV54	
2017/1/16 11:00	2017/1/17 10:30	つくば	TKB-53	TKB-Q05	HV55	Q05: サンプラのトラブルにより欠測
2017/1/17 11:00	2017/1/18 10:30	つくば	TKB-54	TKB-Q06	HV56	
2017/1/18 11:00	2017/1/19 10:30	つくば	TKB-55	TKB-Q07	HV57	
2017/1/19 11:00	2017/1/20 10:30	つくば	TKB-56	TKB-Q08	HV58	
2017/1/20 11:00	2017/1/23 10:30	つくば	TKB-57	TKB-Q09	HV59	
2017/1/23 11:00	2017/1/24 10:31	つくば	TKB-58	TKB-Q10	HV60	
2017/1/24 11:00	2017/1/25 10:30	つくば	TKB-59	TKB-Q11	HV61	
2017/1/25 11:00	2017/1/26 10:30	つくば	TKB-60	TKB-Q12	HV62	
2017/1/26 11:00	2017/1/27 10:30	つくば	TKB-61	TKB-Q13	HV63	
2017/1/27 11:00	2017/1/30 10:30	つくば	TKB-62	TKB-Q14	HV64	
		ブランク1	TKB-63	TKB-Q15	HV50	
		ブランク2	TKB-64	TKB-Q16	HV65	
		ブランク3	TKB-65	TKB-Q17	HV66	
		ブランク4			HV66	

捕集開始日時	捕集終了日時	場所	テフロンフィルタFRM	石英フィルタFRM	テフロンフィルタHV	付記
2017/7/20 11:00	2017/7/21 10:30	つくば	TKB-66	TKB-Q18	HV67	
2017/7/21 11:00	2017/7/24 10:30	つくば	TKB-67	TKB-Q19	HV68	
2017/7/24 11:00	2017/7/25 10:30	つくば	TKB-68	TKB-Q20	HV69	
2017/7/25 11:00	2017/7/26 10:30	つくば	TKB-69	TKB-Q21	HV70	
2017/7/26 11:00	2017/7/27 10:30	つくば	TKB-70	TKB-Q22	HV71	
2017/7/27 11:10	2017/7/28 10:30	つくば	TKB-71	TKB-Q23	HV72	
2017/7/28 11:00	2017/7/31 10:30	つくば	TKB-72	TKB-Q24	HV73	
2017/7/31 11:00	2017/8/1 10:30	つくば	TKB-73	TKB-Q25	HV74	
2017/8/1 11:00	2017/8/2 10:30	つくば	TKB-74	TKB-Q26	HV75	
2017/8/2 11:00	2017/8/3 10:30	つくば	TKB-75	TKB-Q27	HV76	
2017/8/3 11:00	2017/8/4 10:30	つくば	TKB-76	TKB-Q28	HV77	
2017/8/4 11:00	2017/8/7 10:30	つくば	TKB-77	TKB-Q29	HV78	
2017/8/7 11:00	2017/8/8 10:30	つくば	TKB-78	TKB-Q30	HV79	
2017/8/8 11:00	2017/8/9 10:30	つくば	TKB-79	TKB-Q31	HV80	
		ブランク5	TKB-80	TKB-Q32	HV81	
		ブランク6	TKB-81	TKB-Q33	HV82	
		ブランク7	TKB-82	TKB-Q34	HV83	

FRM サンプラのテフロンフィルタ試料は捕集された粒子質量を求めるために用いた。質量はサンプリング前後の捕集材の秤量値の差から算出した。秤量は温度 21.5°C、相対湿度 35%に調整されたチャンバー (CHAM-1000、HORIBA) 内で、電子天秤 (UMX2、Mettler Toledo、最小表示 0.1 µg) を用いて行った。1 つの試料につき 2 回秤量を行い、その平均値を秤量値とした。ただし、2 回の秤量値の差が 2 µg を超えた場合には再度秤量を行い、許容誤差以下となった 2 つの秤量値を平均した。捕集量を採気量で除して大気中濃度を得た。

石英フィルタ試料は元素状炭素 (EC) と有機炭素 (OC) の炭素分析に用いた。炭素分析は、熱分離・光学補正式炭素分析計 (DRI Model 2001 Carbon Analyzer) を用いて行った。Carbon Analyzer では段階的に試料を加熱し、揮発温度の差を利用して EC と OC を分離・定量する。分析中に試料の反射光・透過光をモニターすることで、OC の炭化を補正した。分析条件には IMPROVE プロトコル (OC1: 120° C、OC2: 250° C、OC3: 450° C、OC4: 550° C (以上、He 雰囲気)、EC1: 550° C、EC2: 700° C、EC3: 800° C (以上、2%O₂/98%He 雰囲気)) を用いた。なお、OC = OC1 + OC2 + OC3 + OC4、EC = EC1 + EC2 + EC3、TC = OC + EC とする。また、水溶性有機炭素 (WSOC) は、8mm φ にポンチで打ち抜いた試料 4 枚を純水 400 µl で 30 分間超音波抽出後、450°C で燃焼させた石英繊維フィルタに抽出液を 60 µl 滴下し、同様に熱光学式炭素分析計を用いて分析した。また非水溶性 OC (ISOC) = OC-WSOC とする。

HV テフロンフィルタ試料はその他の分析に用いた。47mm φ にポンチで打ち抜き、それぞれの分析に供した。水溶性のイオン成分はイオンクロマトグラフィーにより分析した。元素成分は ICP-MS 法により定量した。いずれも環境省の分析マニュアルに基づいて分析した。ただし水溶性金属の定量は超純水による抽出試料で得

た。有機分析は成分に応じて前処理を行ったのちにソックスレー抽出を行い、GC-MS、LC-MS により分析を行った。

表(3)-2 続き サンプル ID およびサンプリング記録

捕集開始日時	捕集終了日時	場所	テフロンフィルタFRM	石英フィルタFRM	テフロンフィルタHV	付記
2018/1/18 11:00	2018/1/19 10:30	福岡	HKT-T01	HKT-Q01	HV84	
2018/1/19 11:00	2018/1/22 10:30	福岡	HKT-T02	HKT-Q02	HV85	
2018/1/22 11:00	2018/1/23 10:30	福岡	HKT-T03	HKT-Q03	HV86	
2018/1/23 11:00	2018/1/24 10:30	福岡	HKT-T04	HKT-Q04	HV87	
2018/1/24 11:10	2018/1/25 10:30	福岡	HKT-T05	HKT-Q05	HV88	
2018/1/25 11:00	2018/1/26 10:30	福岡	HKT-T06	HKT-Q06	HV89	
2018/1/26 11:00	2018/1/29 10:30	福岡	HKT-T07	HKT-Q07	HV90	
2018/1/29 11:00	2018/1/30 10:30	福岡	HKT-T08	HKT-Q08	HV91	
2018/1/30 11:00	2018/1/31 10:30	福岡	HKT-T09	HKT-Q09	HV92	
2018/1/31 11:00	2018/2/1 10:30	福岡	HKT-T10	HKT-Q10	HV93	
2018/2/1 11:00	2018/2/2 10:30	福岡	HKT-T11	HKT-Q11	HV94	
2018/2/2 11:00	2018/2/5 10:30	福岡	HKT-T12	HKT-Q12	HV95	
2018/2/5 11:00	2018/2/6 10:30	福岡	HKT-T13	HKT-Q13	HV96	
2018/2/6 11:00	2018/2/7 10:30	福岡	HKT-T14	HKT-Q14	HV97	
		ブランク8	HKT-T15	HKT-Q15	HV98	
		ブランク9	HKT-T16	HKT-Q16	HV99	
		ブランク10	HKT-T17	HKT-Q17	HV100	
<hr/>						
捕集開始日時	捕集終了日時	場所	テフロンフィルタFRM	石英フィルタFRM	テフロンフィルタHV	付記
2018/5/10 11:00	2018/5/11 10:30	福岡	HKT-T18	HKT-Q18	HV101	HV101: サンプラのトラブルにより欠測
2018/5/11 11:00	2018/5/14 10:30	福岡	HKT-T19	HKT-Q19	HV102	
2018/5/14 11:00	2018/5/15 10:30	福岡	HKT-T20	HKT-Q20	HV103	
2018/5/15 11:00	2018/5/16 10:30	福岡	HKT-T21	HKT-Q21	HV104	
2018/5/16 11:00	2018/5/17 10:30	福岡	HKT-T22	HKT-Q22	HV105	
2018/5/17 11:00	2018/5/18 10:30	福岡	HKT-T23	HKT-Q23	HV106	
2018/5/18 11:00	2018/5/21 10:30	福岡	HKT-T24	HKT-Q24	HV107	
2018/5/21 11:00	2018/5/22 10:30	福岡	HKT-T25	HKT-Q25	HV108	
2018/5/22 11:00	2018/5/23 10:30	福岡	HKT-T26	HKT-Q26	HV109	
2018/5/23 11:00	2018/5/24 10:30	福岡	HKT-T27	HKT-Q27	HV110	
2018/5/24 11:00	2018/5/25 10:30	福岡	HKT-T28	HKT-Q28	HV111	
2018/5/25 11:00	2018/5/28 10:30	福岡	HKT-T29	HKT-Q29	HV112	
2018/5/28 11:00	2018/5/29 10:30	福岡	HKT-T30	HKT-Q30	HV113	
2018/5/29 11:00	2018/5/30 10:30	福岡	HKT-T31	HKT-Q31	HV114	
		ブランク11	HKT-T32	HKT-Q32	HV115	
		ブランク12	HKT-T33	HKT-Q33	HV116	
		ブランク13	HKT-T34	HKT-Q34	HV117	

DTT アッセイは、HV テフロンフィルタを 47mmφ にポンチで打ち抜き、その 4 分の 1 を使用した。1.5 ml の Tris-HCl バッファー (pH8.9) により 30 分間、溶媒を 10°C 以下に保って超音波抽出した。その後溶液濃度を 30 $\mu\text{g ml}^{-1}$ となるように調整し、その溶液に DTT を 160 μM となるように添加した。また、Tris-HCl バッファー抽出物に加えて、ジクロロメタン (DCM) で抽出物によるアッセイも行った。47mmφ 試料をジクロロメタンで抽出したのちにエバポレータでジクロロメタンを蒸発させ、乾固した試料をジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解させた。フィルタ試料の濃度に応じて 50mg/ml となるように抽出枚数を決めた。DTT アッセイ時には、Tris-HCl バッファーで希釈し、アッセイ時の DMSO 濃度としては 0.5% となるように調整した。すなわち、試料濃度としては 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ でアッセイした。これらの溶液を 37°C の雰囲気中で 15 分間反応させ、反応液を遠心分離し、その遠心上清 1 ml に 5,5'-ジチオビス 2-ニトロ安息香酸を 320 μM となるように添加して 414 nm における吸光度を測定した。結果はブランクフィルタの値を差し引いて示した。

細胞を用いた評価には、アニック・クレモント教授 (パリ第 6 大学アーマンクレソー病院) が Sprague-Dawley 系ラットから採取した肺胞 II 型上皮細胞を SV40 により形質転換して樹立したラット肺胞上皮細胞株 (SV40-T2 細胞) を用いた。毒性試験には 10%FBS と 100 units/ml の penicillin と 100 $\mu\text{g/ml}$ streptomycin を含む DMEM 培地に細胞を懸濁して播種し、24 時間培養して細胞が密集する直前の細胞を用いた。HV テフロンフィルタに捕集した環境粒子試料は、47mmφ にポンチで打ち抜いた後に $\text{PM}_{2.5}$ 濃度として 1mg/mL になるよ

うに蒸留水を加えて 10°C以下に保ったまま 30 分超音波抽出して-80°Cで保存した。蒸留水抽出試料は浸透圧を調整した上で DMEM 培地に懸濁して細胞に曝露した。ジクロロメタン抽出の場合は、47mm φ にポンチで打ち抜いた HV テフロンフィルタ試料にジクロロメタンを加えて氷冷下で超音波抽出した後、エバポレータでジクロロメタンを蒸発させて乾固させた試料を DMSO に転溶した。試料は DMEM 培地に懸濁して細胞に曝露した (DMSO 濃度は最高で 0.2%)。細胞毒性は試料曝露 24 時間後の細胞生存率を Cell Counting Kit-8 (DOJINDO) を用いてマイクロプレートリーダー (POLARstar OPTIMA; BMG LABTECH) にて吸光度を測定した。酸化ストレスの指標であるヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) 遺伝子発現変化は細胞が死なない濃度レベルで行った。遺伝子発現のピークである試料曝露 3 時間後の細胞から mRNA を抽出し RNA の品質を検定した後、ReverTra Ace qPCR RT mix と THUNDERBIRD SYBR qPCR Mix (東洋紡) を用いて Thermal Cycler Dice RT system (TakaRa) により定量的 real time-RT-PCR 解析にて相対定量評価した。

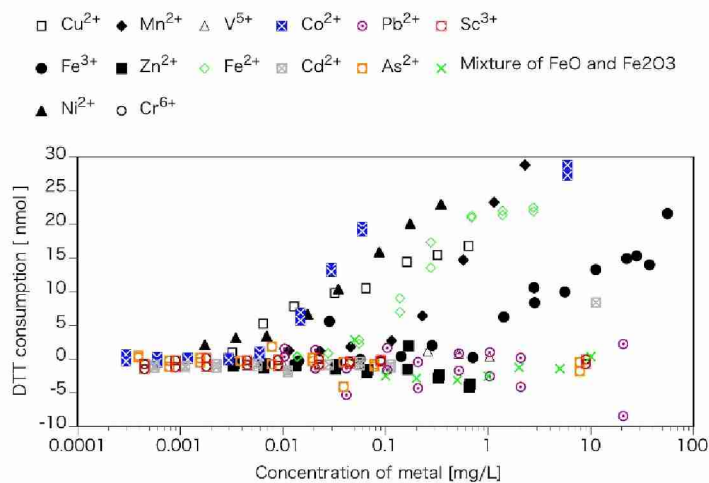
4. 結果及び考察

(4-1) 試薬試験

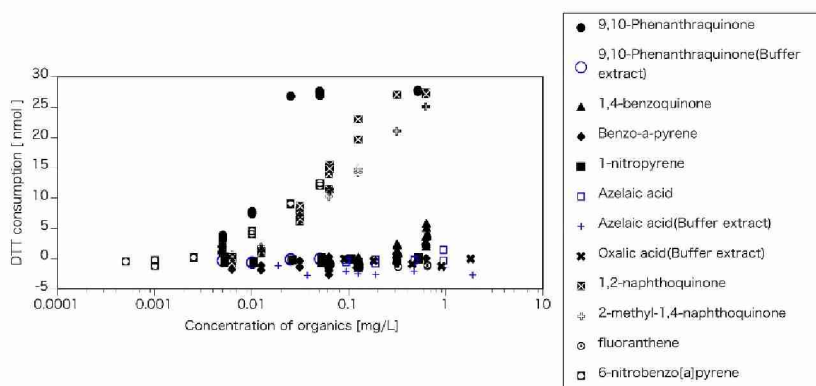
図 (3) -3 に金属溶液による DTT 消費量の結果を示す。いずれの成分も $1 \mu\text{g L}^{-1}$ 以下の濃度では反応しなかった。表 (3) -1 のうち、DTT で濃度依存的に反応した金属は Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} であった。これらの中でも Ni^{2+} 、 Co^{2+} が最も反応性が高いことが分かった。また鉄は二価、三価の両方を試験したが、二価の方が反応性が高い結果となった。酸化鉄は反応しなかったため、溶媒に溶けない場合は DTT を消費しないことが示唆された。また有機物は DCM 抽出による 9,10-フェナントラキノン、1,4-ベンゾキノン、2-メチル-1,4-ナフトキノン、1,2-ナフトキノン、6-ニトロベンゾ a ピレンが DTT を消費する結果となった (図 (3) -4)。9,10-フェナントラキノンについてはバッファー抽出系でもアッセイを行った。DCM 抽出系で消費した場合でも、バッファー抽出系では DTT を消費しない結果であった。環境試料もバッファー抽出時にはバッファーに溶解する成分のみが DTT の消費に寄与している可能性が考えられる。

図 (3) -5 に金属水溶液を曝露した場合の細胞生存率を示す。細胞生存率の値が低下するほど細胞生存率が低くなる、すなわち細胞毒性が高いことを示す。濃度依存的に細胞毒性を示した金属は Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 As^{2+} であった。これら金属を含め細胞毒性を示さない濃度で HO-1 遺伝子発現変化を測定した結果、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 As^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Ni^{2+} で遺伝子発現増加が認められ、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} で特に誘導が高い結果となった (図 (3) -7)。また図 (3) -6 および図 (3) -8 に示すように、有機物は 9,10-フェナントラキノンで細胞毒性が強く、かつ HO-1 遺伝子発現が誘導された。

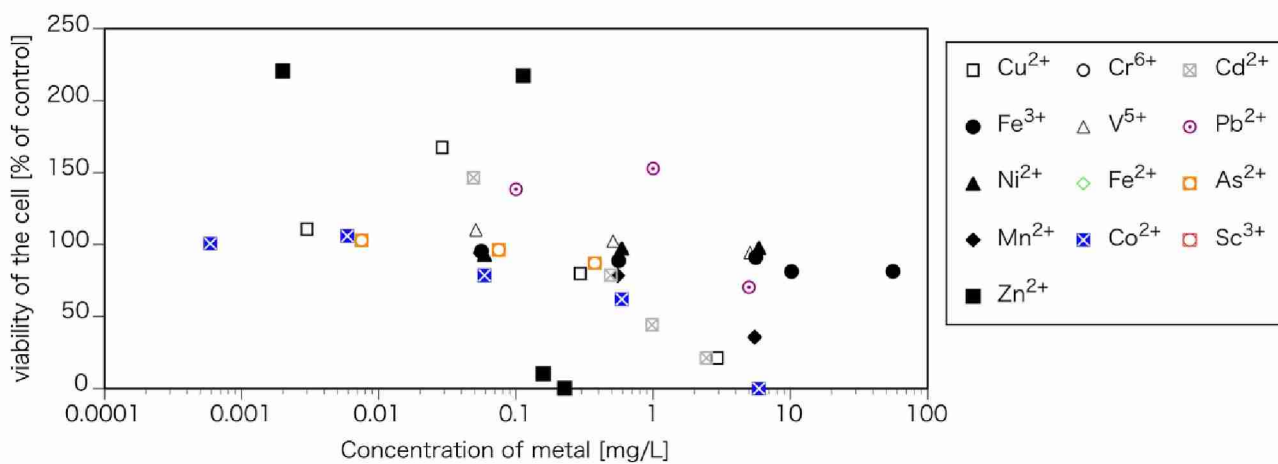
表 (3) -1 に示すように、DTT のみ反応した成分は Co^{2+} であり、HO-1 アッセイのみに反応した成分は Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 As^{2+} であった。HO-1 遺伝子は Keap1 分子が酸化・分解されることにより Nrf2 分子が核に移行して発現する。金属や有機物は細胞膜上のトランスポーターにより細胞内に取り込み・排出されるので、曝露量と細胞内濃度は必ずしも等しくない上、細胞内には Keap1 分子以外にもグルタチオンなどチオール基を持つ分子や金属を配位する分子が多く存在するので、すべてが Keap1 分子と反応するとは限らないため、DTT 消費量で評価する DDT アッセイの結果とは必ずしも一致しなかったと考えられる。



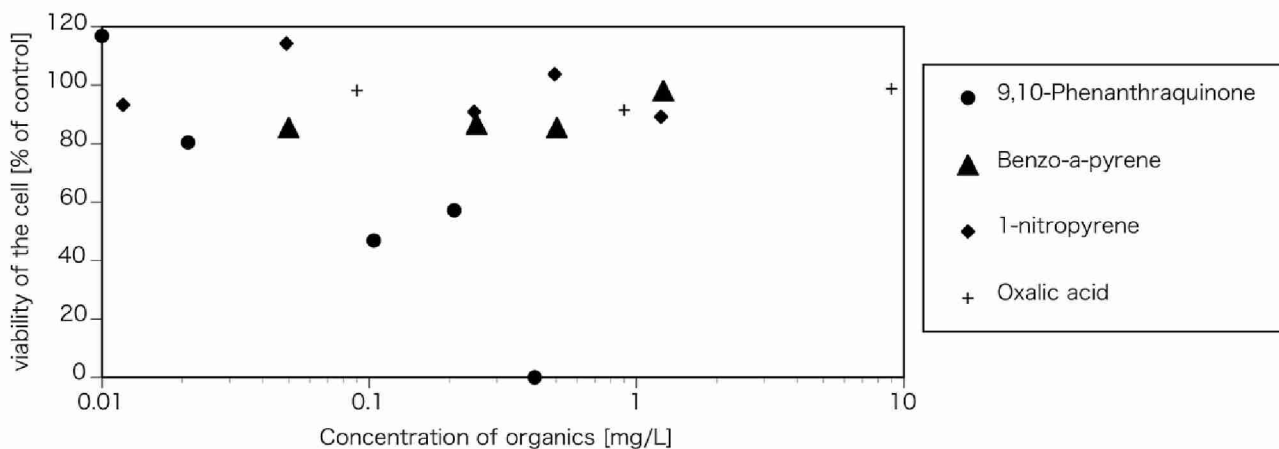
図(3)-3 試薬を用いた DTT アッセイの結果 (バッファー抽出物)



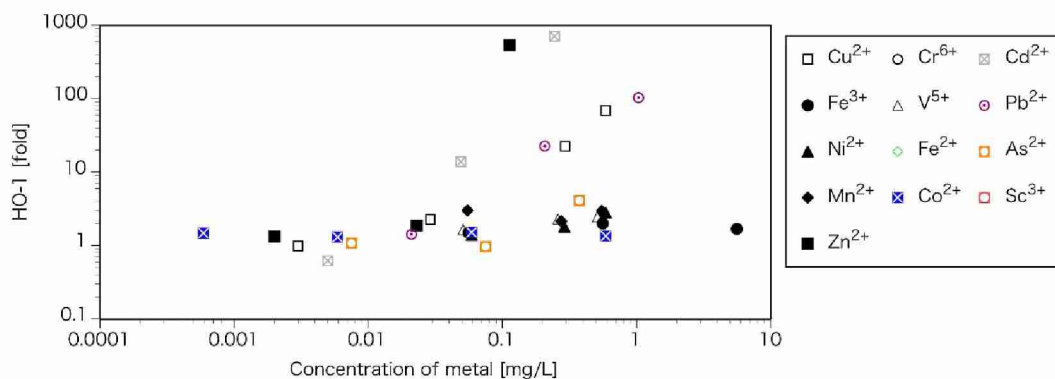
図(3)-4 試薬を用いた DTT アッセイの結果 (DCM 抽出物)



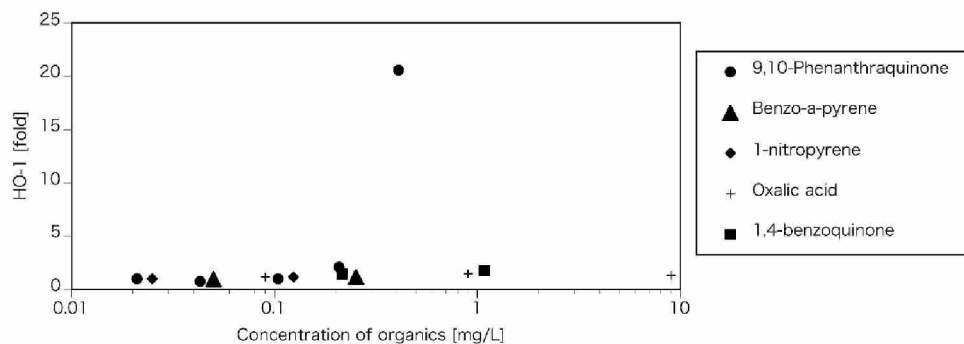
図(3)-5 試薬を用いた細胞毒性の結果 (水抽出物)



図(3)-6 試薬を用いた細胞毒性の結果 (DCM 抽出物)



図(3)-7 試薬を用いた HO-1 アッセイの結果 (水抽出物)



図(3)-8 試薬を用いた HO-1 アッセイの結果 (DCM 抽出物)

(4-2) 環境中の PM_{2.5} 捕集および環境試料分析

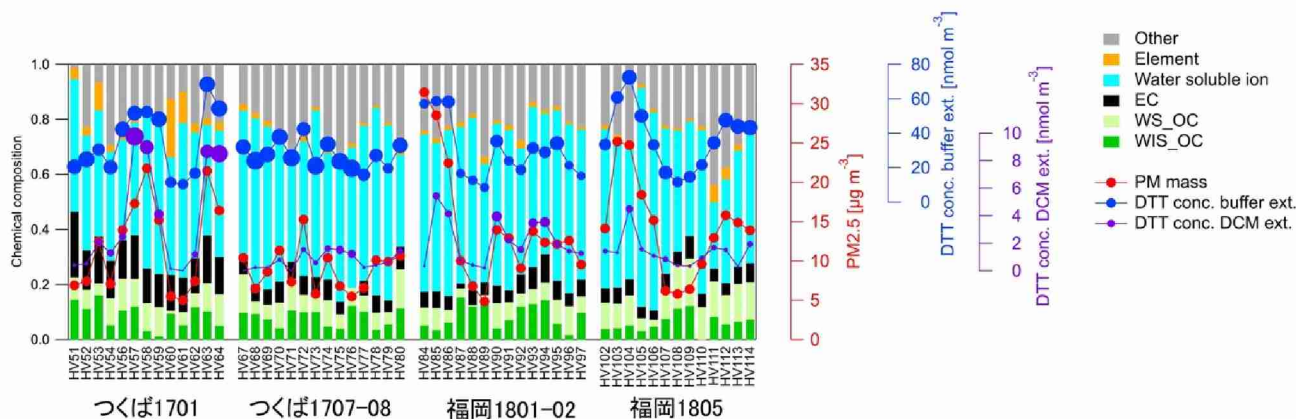
図(3)-9に、全フィルタ試料の分析結果を示す。この図には PM_{2.5} 濃度、化学組成、DTT アッセイの結果を示している。PM_{2.5} 濃度はいずれの試料においても環境基準を下回る結果となった。各観測期間の平均濃度は表(3)-3の通りとなり、福岡の方がつくばよりも濃度が高く、いずれの地点においても冬季の濃度の方が高い結果となった。また、つくば冬季を除いて、同一観測期間内の変動の方が観測間の変動よりも小さい傾向となった。地域差が大きく反映されていることが分かる。

表(3)-3 各観測期間の PM_{2.5} 濃度

	平均	標準偏差
つくば1701-02	11.6	6.1
つくば1707-08	8.9	0.7
福岡1801-02	14.3	0.9
福岡1805	14.1	0.4

μg/m³

化学組成をみると、いずれの試料も水溶性イオン成分が多く占める結果であった。つくば冬季は元素状炭素が他の観測期間に比べて組成割合が大きい結果となった。また、つくば冬季および福岡春季の一部の試料で元素成分（金属成分）の割合が大きい。特に福岡春季は黄砂イベントが見られたことから、その影響を受けたものと考えられる。



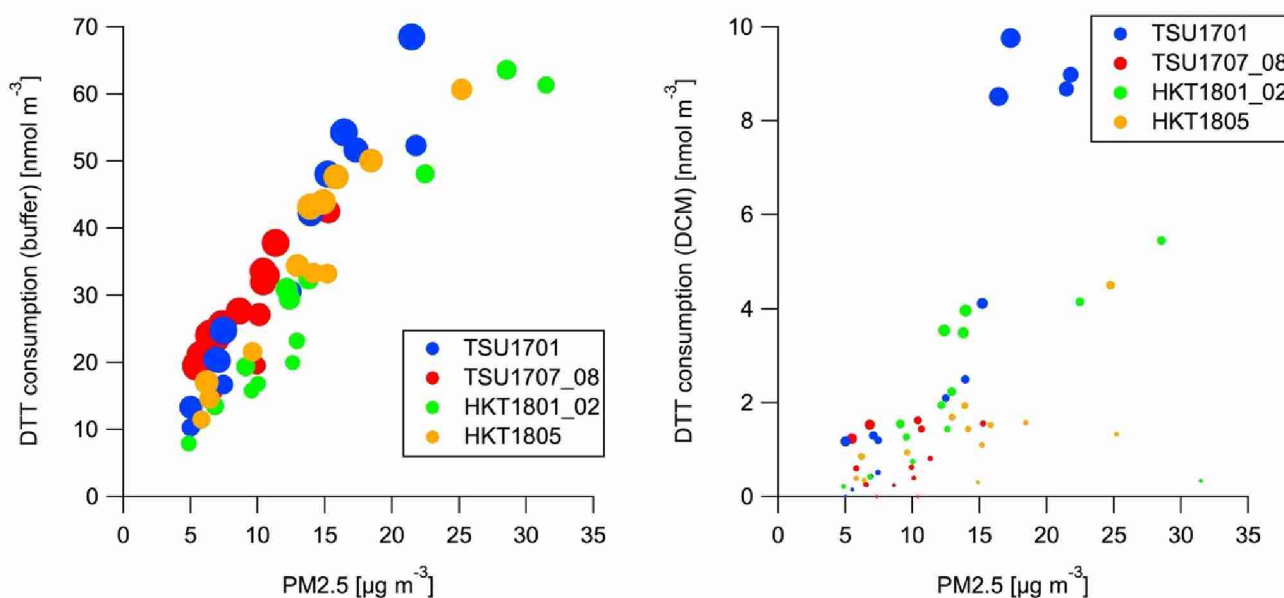
図(3)-9 全フィルタ試料の結果 化学分析と酸化能

図(3)-9にはDTTアッセイの結果も示しているが、プロットの大きさはPM_{2.5}の質量あたりでDTT消費量を規格化した値[nmol-DTT μg⁻¹]を相対的に示している。バッファー抽出試料においては気中あたりの消費量[nmol-DTT m⁻³] (= PM 気中濃度[μg m⁻³] × [nmol-DTT μg⁻¹]) では試料間の変化はPM_{2.5}濃度の変化に追従している。PM量当たりの値も試料によって値が異なるが、これは化学成分と関係があるためPM_{2.5}の大気中濃度とは関係がない。DCM抽出試料の方はバッファー抽出試料に比べて、気中あたり、PM量当たりの値について、試料間の変化は小さかった。表(3)-4にそれぞれの観測期間のDTTアッセイの平均値等を示す。気中あたり、PM量当たりでそれぞれ地域差、季節差、また抽出に用いた溶媒によって結果が異なった。化学成分が試料間で異なり、それが影響していることを示唆している。また、バッファー抽出の場合とDCM抽出の場合の比較では、バッファー抽出の場合の方がPM量当たりでは12-36倍の消費量であり、水溶性成分の方が大きなDTT消費量となる結果となった。

表(3)-4 DTTアッセイ結果 左：バッファー抽出試料 右：DCM抽出試料

	平均	標準偏差		平均	標準偏差
つくば1701-02	2.77	0.4	つくば1701-02	0.23	0.2
つくば1707-08	3.11	0.5	つくば1707-08	0.09	0.1
福岡1801-02	2.03	0.3	福岡1801-02	0.15	0.1
福岡1805	2.59	0.4	福岡1805	0.10	0.0
	nmol/μg			nmol/μg	
	平均	標準偏差		平均	標準偏差
つくば1701-02	33.2	19.2	つくば1701-02	3.5	3.7
つくば1707-08	27.3	7.6	つくば1707-08	0.8	0.6
福岡1801-02	29.7	17.2	福岡1801-02	2.2	1.7
福岡1805	37.2	18.3	福岡1805	1.4	1.1
	nmol/m ³			nmol/m ³	

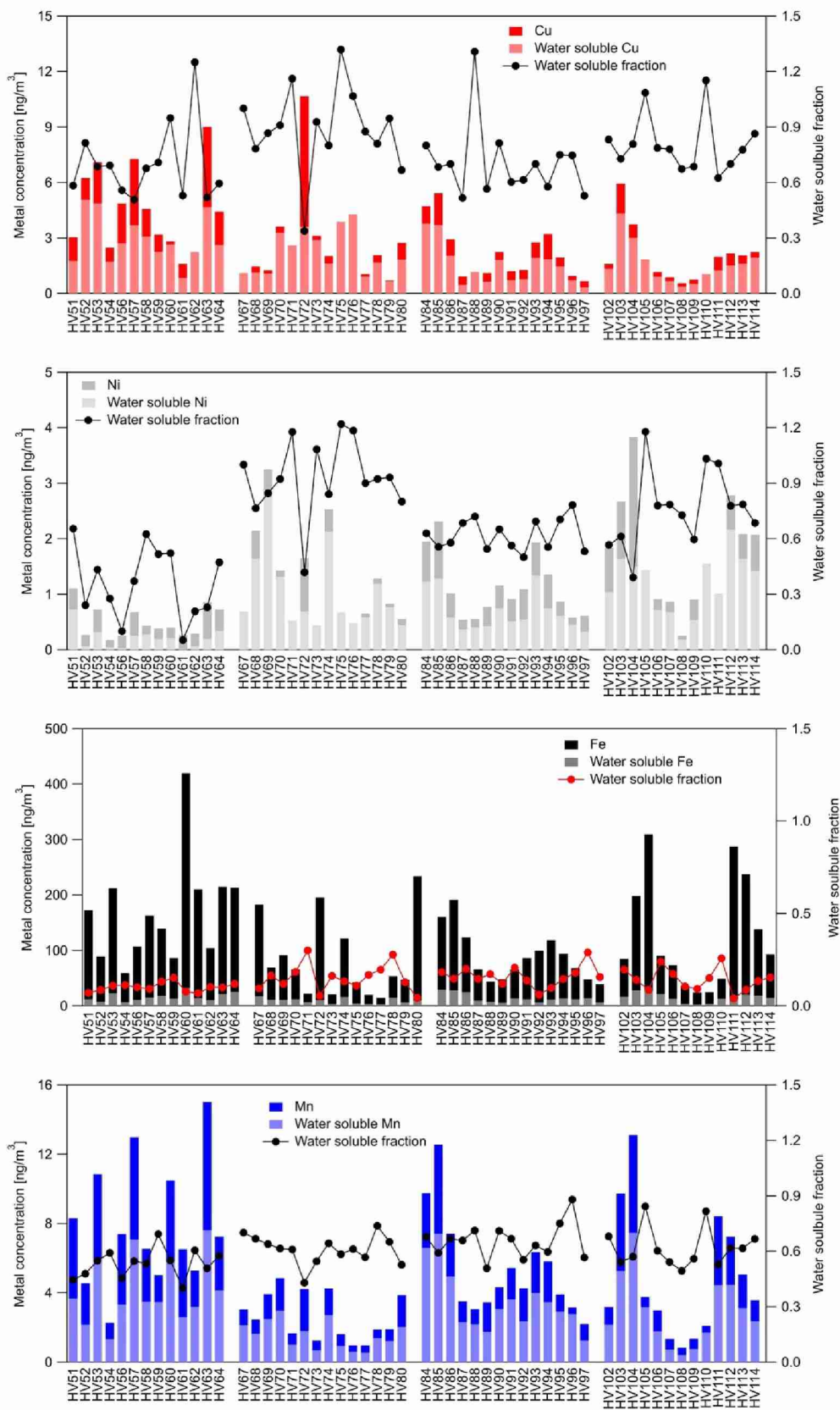
図(3)-10にPM_{2.5}濃度と気中あたりのDTT消費量を比較した結果を示す。プロットの大きさはPM_{2.5}の質量あたりでDTT消費量を規格化した値[nmol-DDT μg⁻¹]を相対的に示している。一部例外があるものの、全体としては気中あたりのDTT消費量はPM_{2.5}が高濃度ほど高い傾向にあり、おおむねPM_{2.5}濃度が支配的になっている事が分かる。ただし、化学成分が異なると考えられることから他の傾向からはずれる場合がある。したがって、より正確に酸化ストレスによる影響を評価するためには直接酸化能を測定する必要があるとあり、オンラインACSA-DDTにより酸化能の連続測定を行う意義はあると考えられる。



図(3)-10 PM_{2.5}とDTT結果の比較

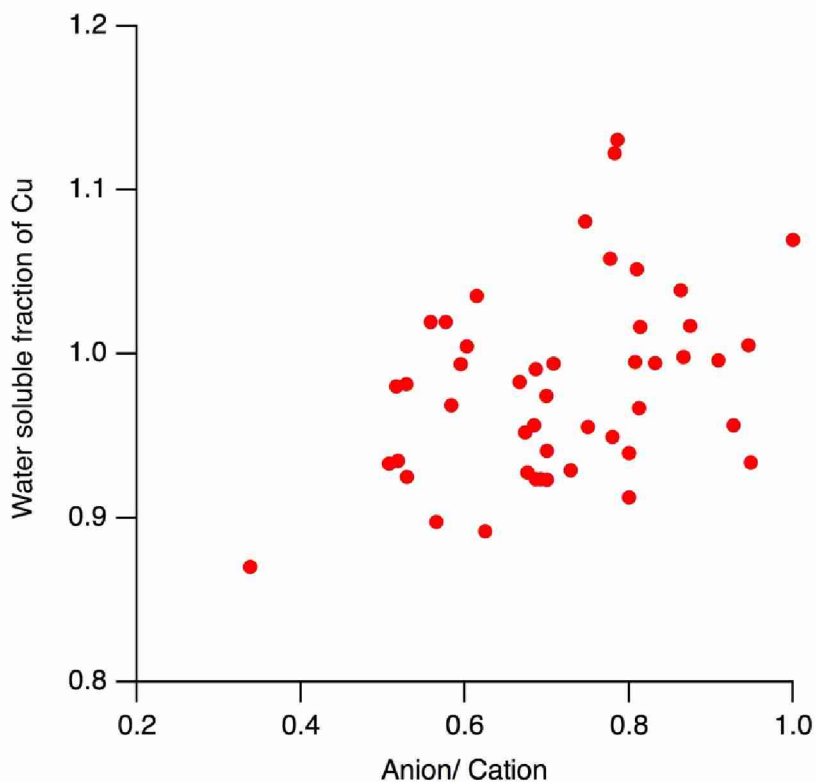
試薬試験で示したように、水溶性のアッセイ系では水溶性の画分、DCM系のアッセイ系では脂溶性の画分がDTT消費量に効いていたように、試験溶媒に溶けている部分がDTT消費に効くことが明らかになった。一般的に大気エアロゾル中の金属成分の分析は酸抽出によって全量が分析されることが多い。よって、水溶性系の酸化能の結果を考察する場合には、水溶性画分のみで評価する必要があると考えられる。図(3)-11に、試薬試験で酸化能に大きく効いていることが分かったCu、Ni、Mn、Feについて環境試料中の水溶性成分と非水溶性成分の濃度および水溶性成分の割合を示す。鉄は水溶性成分の割合が他の成分と比べて低かったが、酸化物が多いことが原因と考えられる。それぞれの成分でみると、試料間で水溶性成分の割合が異なっていた。また、平均的には同一地点同士の試料で比較した場合、暖候期(春季あるいは夏季)の試料の方が、冬季の試料に比べて水溶性成分の割合が高い結果となった。水溶性画分の割合は、発生源での特徴に影響されるだけでなく、共存する酸性物質によっても影響を受けていると考えられる。すなわち夏季は酸性物質の二次生成が多く、酸性側に傾き、金属が溶解しやすくなったことが原因と考えられる。

図(3)-12に、酸性度と銅の水溶性画分の割合の関係を示す。酸性度はイオンクロマトグラフの結果を用いている。すなわち陽イオンと陰イオンのバランスをとり、陰イオンが過剰になっている分は測定されていないH⁺が存在していたという仮定をとり、酸性度が高いとする。銅でみると酸性度が高くなると水溶性画分の割合が高くなる傾向にあった。今後は抽出液のpHを直接測る必要があると考えられる。ただし、DTT法は抽出液にバッファー液を用いており、多少の酸性度には影響を受けないとも考えられるため、今後の詳細な検証が必要と考えられる。

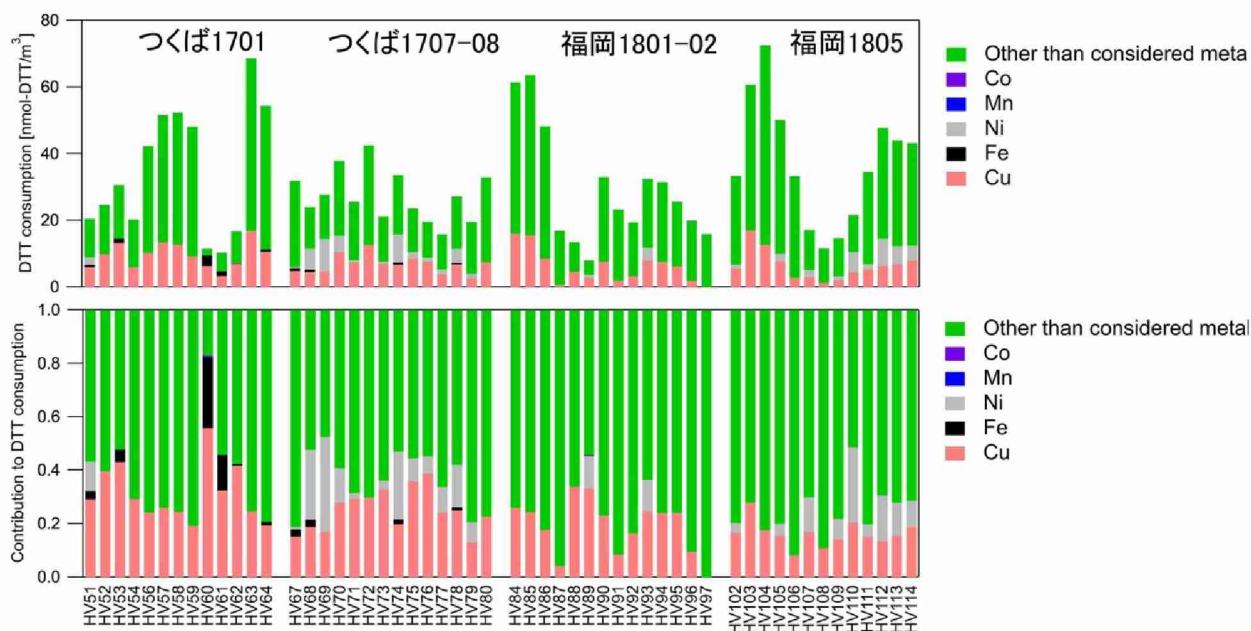


つくば1701 つくば1707-08 福岡1801-02 福岡1805

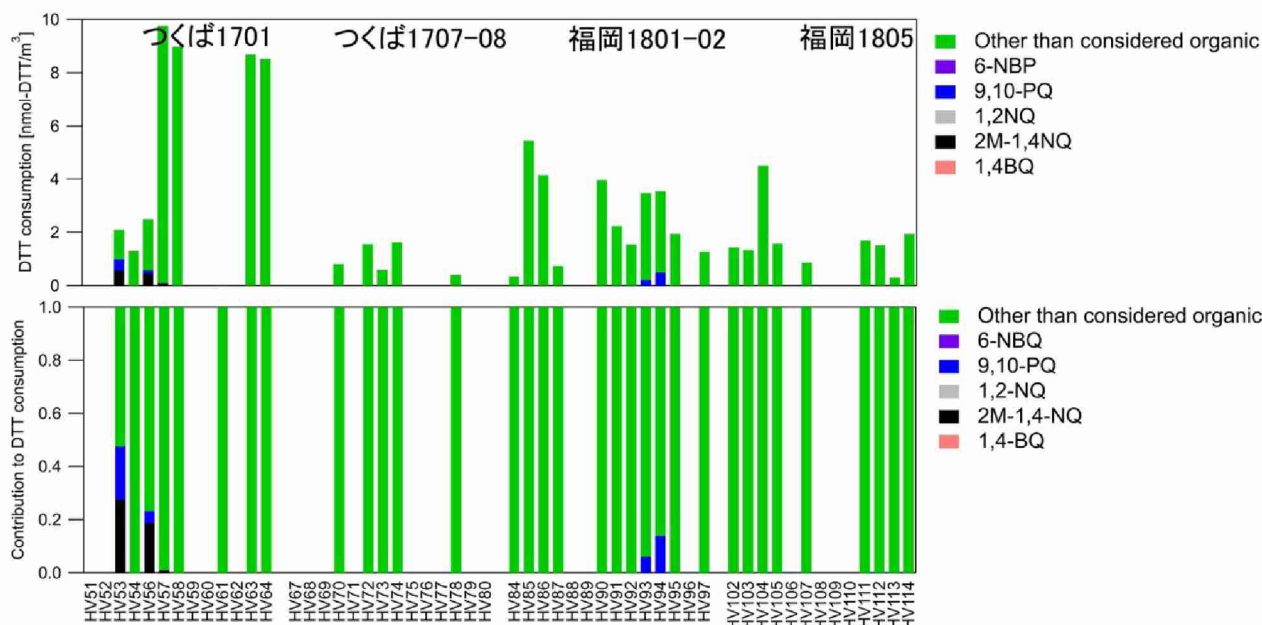
図(3)-11 酸化能における主要金属成分の水抽出と酸抽出結果の違い



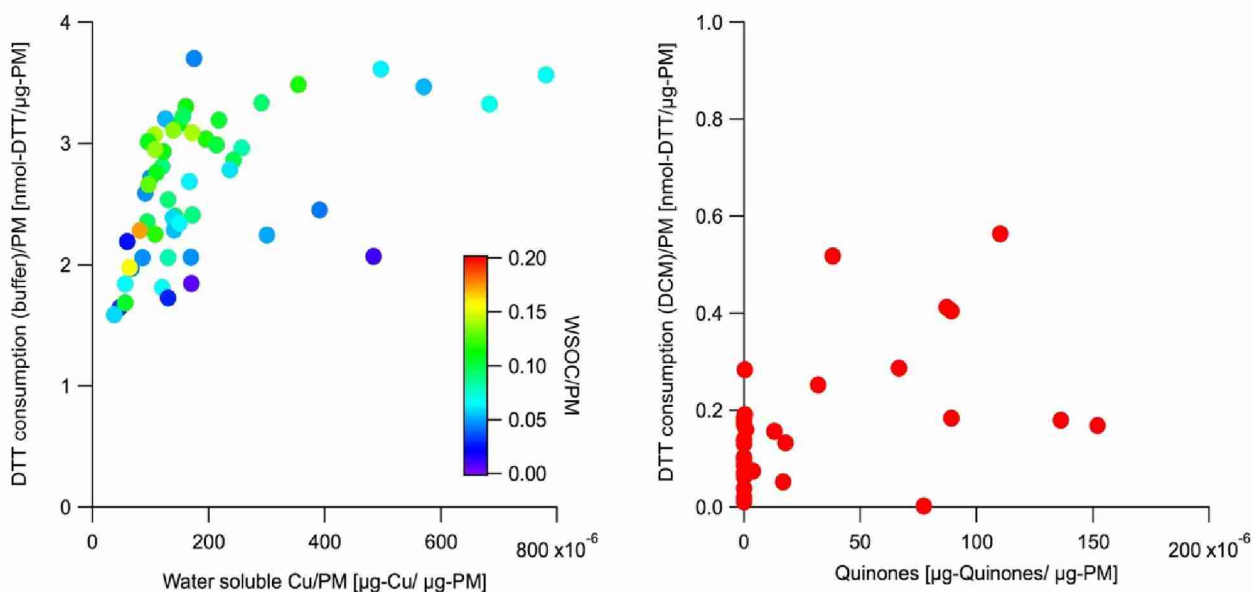
図(3)-12 酸化度と銅の水溶性画分の関係



図(3)-13 主要金属成分による酸化能 (バッファー抽出試料)



図(3)-14 有機成分による酸化能 (DCM 抽出試料)



図(3)-15 成分含有量と単位 PM 当たりの酸化能の関係 左：バッファー抽出試料 右：DCM 抽出試料

図(3)-13に、水溶性試料の水溶性成分による DTT 消費量の積み上げと DTT 消費に対する寄与内訳を示す。この結果は水溶性金属濃度と試薬試験から得られた単位濃度あたりの DTT 消費量の情報から得た。その他による寄与は、個々の金属成分の消費量を積み上げた結果と、直接の DTT 消費量の測定との差分から得た。水抽出試料については水溶性銅が全体の消費量の 20-30%程度の消費量を占めていた。ついでニッケルの寄与が高かった。つくば冬季試料では鉄成分が寄与する場合もあった。水溶性銅の寄与はつくば冬季試料で高く、福岡では低い傾向であった。冬季同士の試料を比較すると、つくば冬季と福岡冬季の全体の差 (2.8 nmol-DDT/m^3) は水溶性銅濃度の差による消費量の差 (3.5 nmol-DDT/m^3) でおおむね説明できた。

図(3)-14に、同様の手法で得られた DCM 抽出試料の有機成分による DTT 消費量の積み上げと消費に対する寄与内訳を示す。一部の試料で 9,10-フェナントラキノンと 2-メチル-1,4-ナフトキノンが消費量に寄与し

ていることが分かるが、全体的には分析対象となった有機物では、大部分の DTT 消費量を説明することができなかった。有機物は無数の種類があり、多くの種類の成分が少しずつ DTT 消費量に寄与していることも考えられる。有機物を包括的に評価することが必要であり、今後の課題と考えられる。

図 (3) -15 に、バッファー抽出試料および DCM 抽出試料について銅およびキノン類の PM 中の含有量と単位 PM 量あたりの DTT 消費量の関係を示す。また、バッファー抽出試料については、水溶性有機炭素の含有量を色別に示した。ここでキノン類とは便宜的に 9,10-フェナントラキノン、1,4-ベンゾキノン、2-メチル-1,4-ナフトキノン、1,2-ナフトキノン、6-ニトロベンゾ a ピレンとし、試薬試験によればこれらの成分は DTT を消費する成分である。バッファー抽出試料については水溶性銅の含有量が高いほど、また水溶性有機炭素の含有量が高いほど、単位 PM 量あたりの DTT 消費量は高まっていた。また、DCM 抽出試料についてはキノン類の含有量が高いほど、単位 PM 量あたりの DTT 消費量が高まる傾向にあった。それぞれの成分が単位 PM 量あたりの消費量の増大に寄与していることが、この解析結果からも示唆された。水溶性の有機炭素にはジカルボン酸類が含まれていると考えられる。ジカルボン酸類の含有量はつくば冬季の試料でみると水溶性有機炭素のうちの平均 1.3%と少なく、かつ、試薬試験ではジカルボン酸は DTT を消費しなかったため、他の未同定成分による寄与と考えられる。こちらの分析を進めることも今後の課題である。

図 (3) -16 に、全フィルタ試料の分析結果とともに HO-1 アッセイの結果を示す。HO-1 アッセイのプロットの大きさは細胞毒性の結果を相対化している。すなわち、プロットが大きい方が低い生存率であり、細胞毒性が高いことを示している。なお、HO-1 アッセイは水抽出と DCM 抽出で値が大きくことなるが、それぞれのコントロールに対する倍率で表しているため、水抽出試料と DCM 抽出試料間の相対的な評価はできないことに注意が必要である。DMSO は弱いラジカルスカベンジャーであり、DCM 抽出では水抽出のコントロールより若干低く出るため、HO-1 の値が上がる傾向にある。

環境試料抽出物は測定したいずれの試料も 100 μ g/mL までの曝露濃度では強い細胞毒性は示さなかった。細胞生存率に若干の増加が認められたことから、弱い酸化ストレス影響による細胞応答が推測された。水抽出試料の HO-1 アッセイの結果は試料によって大きく変化している。また、DCM 抽出試料は変化は小さいが、いくつかの試料で大きく変化している。表 (3) -5 に各観測期間の平均値等を示す。水抽出試料では福岡冬季試料が、DCM 抽出試料ではつくば冬季が、最も酸化ストレスを誘導する結果となった。水抽出は DTT アッセイの結果と異なったが、DCM 抽出試料はつくば冬季が最も高い結果となったことは DTT アッセイの結果と同じであった。

図 (3) -17 に DTT アッセイと HO-1 アッセイの結果を比較した結果を示す。プロットの大きさは参考までに PM_{2.5} 濃度を示す。いずれの抽出試料の場合もおおむね両アッセイの結果に相関関係が見られた。よってオンライン ACSA-DTT により酸化能の連続測定を行えば、酸化ストレスの影響の程度を連続的に測定できることに繋がると考えられる。ただしやはり一部の試料で傾向が異なり、これは試薬試験で見られたような両アッセイで挙動が異なる成分が原因と考えられる。例えば鉛やカドミウムは、DTT を消費しなかったが、HO-1 では酸化ストレスを誘導した成分であった。これらの成分の PM 中の含有量に対して色分けした結果を図 (3) -18 に示す。福岡春期試料は他の観測期間の傾向から外れていたが、水溶性の鉛、カドミウムの含有量が他の観測期間に比べて大きい傾向にある。化学組成の相違によって両アッセイの関係性が変わることが示唆された。

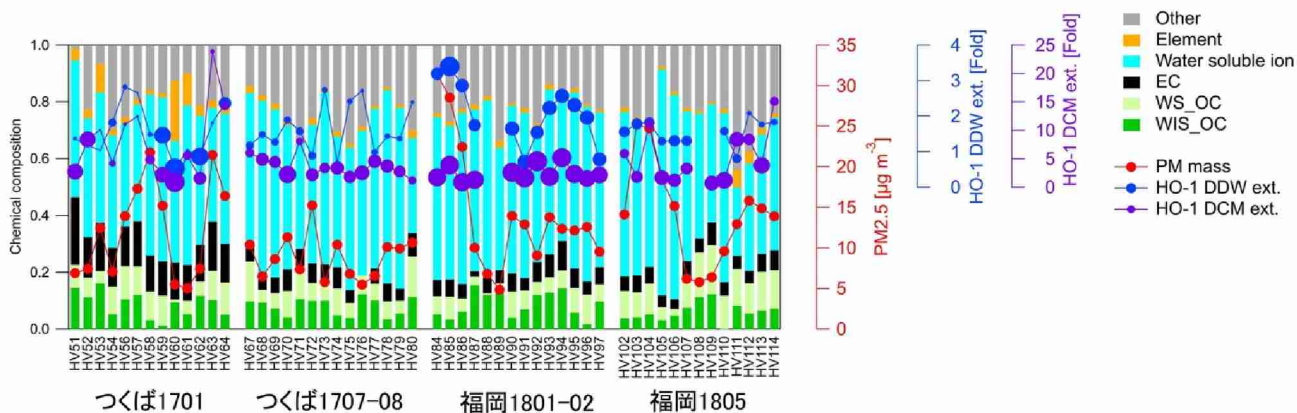


図 (3) -16 全フィルタ試料の結果 化学分析と細胞アッセイ

表 (3) -5 HO-1アッセイ結果 左：水抽出試料 右：DCM抽出試料

	平均	標準偏差
つくば1701-02	1.57	0.7
つくば1707-08	1.64	0.7
福岡1801-02	2.08	0.9
福岡1805	1.55	0.4

	平均	標準偏差
つくば1701-02	7.8	6.5
つくば1707-08	3.6	1.9
福岡1801-02	2.4	1.4
福岡1805	5.2	4.6

fold

fold

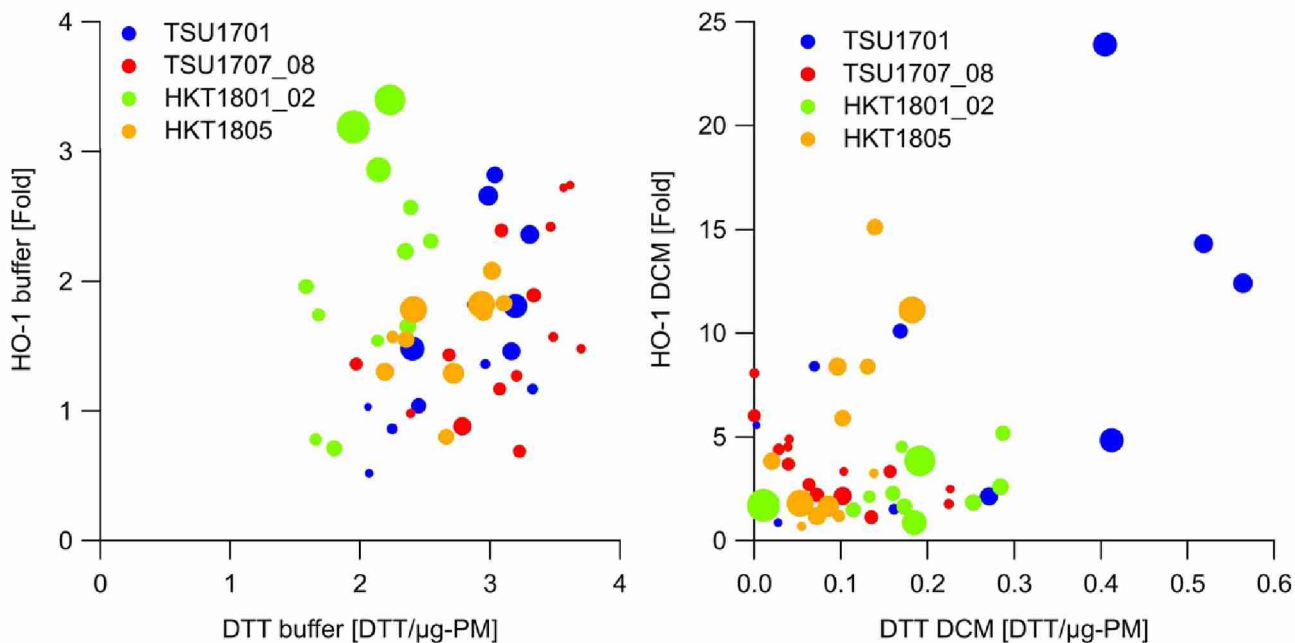
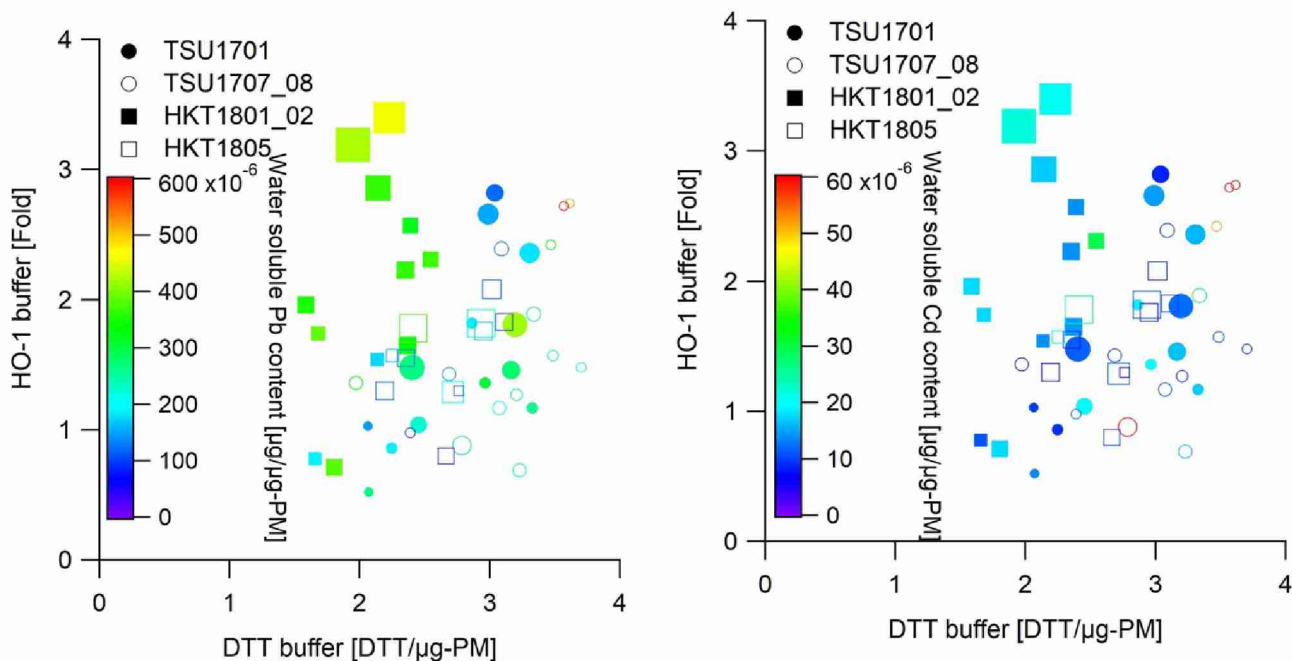


図 (3)-17 酸化能と酸化ストレスの関係 左：水系抽出試料 右：DCM 抽出試料



図(3)-18 水系抽出試料に関する酸化能と酸化ストレスの相違の原因の考察

表(3)-6に本研究課題全体のまとめを示す。各指標、各単位における観測期間間の大小関係を表している。本研究課題で扱った酸化ストレスは健康影響の一つのエンドポイントに過ぎない。今後とも慢性影響も含めて幅広く評価していく必要がある。また、疫学と毒性学が連携して多面的にPM_{2.5}の健康影響を評価していく必要がある。

表(3)-6 全体まとめ

	Water (buffer) extract			DCM extract			影響
	DTT		HO-1	DTT		HO-1	
	nmol/m3	nmol/μg	hold	nmol/m3	nmol/μg	hold	
つくば1701-02	Dark	Dark	Light	Black	Black	Black	大 ↑ ↓ 小
つくば1707-08	Light	Black	Dark	Light	Light	Dark	
福岡1801-02	Dark	Light	Black	Dark	Dark	Light	
福岡1805	Black	Light	Light	Light	Light	Dark	

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

水系、有機溶媒系それぞれにおいて、DTT アッセイ、HO-1 アッセイを同時実施し、両手法の関係性を同時に初めて明らかにした。また、水溶性の金属成分に着目して分析、解析を進めた上で、特定の成分によって両アッセイの関係が変化することが示唆される結果が得られた。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

地域や季節によって、粒子が持つ酸化能と吸入した場合の酸化ストレスが異なること、それらの関係が国内でも関連付けることができたことから、PM_{2.5}と言っても様々な成分の集合体であることが再認識された。国民へのPM_{2.5}に対する注意喚起において、科学的なリテラシーをもたらす知見として本研究結果の成果が活用される見込みである。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Fujitani Y., Furuyama A., Tanabe K., Hirano S. (2017) Comparison of Oxidative Abilities of PM_{2.5} Collected at Traffic and Residential Sites in Japan. Contribution of Transition Metals and Primary and Secondary Aerosols. *Aerosol and Air Quality Research*, 17, 574-587

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 藤谷雄二 (2016) 大気中超微小粒子(ナノ粒子)の測定技術と環境中の挙動. *環境技術*, 45, 564-570
- 2) 高橋克行, 山田丸, 藤谷雄二 (2016) 2. 質量濃度測定. *エアロゾル研究*, 31, 298-305
- 3) 藤谷雄二 (2017) 燃焼発生源における新たな課題. *大気環境学会誌*, 52, 1-11
- 4) 藤谷雄二 (2017) 特集にあたって:エアロゾルの毒性評価～曝露手法を中心に～. *エアロゾル研究*, 32, 150
- 5) 藤谷雄二 (2017) 種々のエアロゾル曝露実験手法によるスケールの違いと沈着量の推定. *エアロゾル研究*, 32, 151-156

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 藤谷雄二 (2016) ナノ粒子をはじめとするエアロゾルの測定およびエアロゾル化手法の開発. 第57回大気環境学会年会, 46-47
- 2) 古山昭子, 藤谷雄二, 平野靖史郎 (2016) ディーゼル排気由来二次有機エアロゾル(SOA)の細胞毒性比較. 第57回大気環境学会年会, 430
- 3) 藤谷雄二 (2017) PM_{2.5}の大気環境影響. 第30回環境工学連合講演会, 39-42
- 4) 藤谷雄二, 古山昭子 (2017) つくばにおける呼吸器炎症に関連する粒子酸化能評価に関する研究. 2017年度福岡から診る大気環境研究所研究会
- 5) 梶野瑞王, 五十嵐康人, 財前祐二, 足立光司, 関山剛, Joseph Ching, 大畑昌輝, チョン千香子, 藤谷雄二, 古山昭子, 萩野浩之, 須藤菜那, 亀田貴之, 猪股弥生, 大西一成 (2017) 粒子酸化能に着目した新健康影響指標の提案にむけて. 第58回大気環境学会年会, 366
- 6) 萩野浩之, 梶野瑞王, 大畑昌輝, 藤谷雄二 (2017) 一次粒子および二次粒子の酸化能に関する文献調査.

第58回大気環境学会年会, 365

- 7) 古山昭子, 藤谷雄二, 伏見暁洋, 佐藤圭, 平野靖史郎, 高見昭憲 (2018) PM_{2.5}の多面的な影響評価のためのバイオアッセイ系の開発. 第59回大気環境学会年会, 223
- 8) Kajino, M.; Ching, J.; Igarashi, Y.; Adachi, K.; Zaizen, Y.; Sekiyama, T. T.; Hagino, H.; Morikawa, T.; Fujitani, Y.; Furuyama, A.; Ohata, M.; Cheong, C. (2018) Simulation of transition metals toward the prediction of oxidative potential and health hazard of aerosols in East Asia. American Geophysical Union, Fall Meeting 2018, abstract #GH13B-0939

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 藤谷雄二, 国立研究開発法人国立環境研究所・夏の大公開・展示・研究紹介「粒子をみてみよう！」(28年7月23日(土)、国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験棟、見学者400名以上)
- 2) 藤谷雄二, 大気汚染とPM_{2.5}を考える～PM_{2.5}を正しく知ることで見えてくるもの～第7回低炭素まちづくりフォーラムin埼玉～つながろう広がろうエコの輪～(平成28年12月10日(土)、埼玉大学、聴講者約20名)
- 3) 藤谷雄二, 国立研究開発法人国立環境研究所・夏の大公開・展示・研究紹介「粒子をみてみよう！」(29年7月22日(土)、国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験棟、見学者400名以上)
- 4) 藤谷雄二, 国立環境研究所公開シンポジウム2018 ディーゼル排ガスはきれいになったのか? -交差点での長期大気観測から分かったこと- (30年6月15日(金)、神戸松方ホール、参加者300名以上; 30年6月22日(金)、東京メルパルクホール、参加者600名以上)
- 5) 藤谷雄二, 国立研究開発法人国立環境研究所・夏の大公開・展示・研究紹介「粒子をみてみよう！」(30年7月21日(土)、国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験棟、見学者400名以上)
- 6) 足立光司, 梶野瑞王, 財前祐二, 木名瀬健, 五十嵐康人, 大畑昌輝, チョン千香子, 藤谷雄二, 古山昭子, 高見昭憲, 吉野彩子, 萩野浩之, 林政彦, 原圭一郎, 空に浮かぶ小さな金属粒子. 市民公開講座大気エアロゾルの環境管理・改善に関する研究最前線 (30年8月2日(木)、名古屋大学、参加者50名以上)
- 7) 藤谷雄二, 燃焼発生源におけるPM_{2.5}の未把握成分の測定手法の開発. 市民公開講座大気エアロゾルの環境管理・改善に関する研究最前線 (30年8月2日(木)、名古屋大学、参加者50名以上)

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

- 1) 藤谷雄二、エアロゾル学会奨励賞
- 2) 藤谷雄二、大気環境学会進歩賞
- 3) 藤谷雄二、NIES 賞

8. 引用文献

- Kumagai, Y., Koide, S., Taguchi, K., Endo, A., Nakai, Y., Yoshikawa, T., and Shimojo, N.: Oxidation of Proximal Protein Sulfhydryls by Phenanthraquinone, a Component of Diesel Exhaust Particles, *Chem. Res. Toxicol.*, 15, 483-489, 2002.
- Li, N., Sioutas, C., Cho, A., Schmitz, D., Misra, C., Sempf, J., Wang, M. Y., Oberley, T., Froines, J., and Nel, A.: Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage, *Environ. Health Perspect.*, 111, 455-460, Doi 10.1289/Ehp.6000, 2003.

II-4 原因物質と酸化能の発生源同定に関する研究

一般財団法人 日本自動車研究所

(サブテーマ代表者)

エネルギー・環境研究部

萩野浩之

(研究協力者)

エネルギー・環境研究部

森川多津子

エネルギー・環境研究部

須藤菜那

[要旨]

発生源から直接排出される $PM_{2.5}$ の排出が年々低下していることは、広く知られるようになってきたが、 $PM_{2.5}$ の主要な構成要素である二次粒子など、発生源の寄与度については不明な点が多く、 $PM_{2.5}$ の発生源同定のみならず、酸化能に起因する無機元素の大気中での動態、各発生源の酸化能に関し、国内における知見は非常に乏しく、動態解明のために必要な観測データ拡充を行うことが必要な状況にある。本研究では、 $PM_{2.5}$ に代わる新指標化へ向けた解析に資するデータを集積するため、酸化能に起因する無機元素の大気中での動態解明、各発生源の酸化能に関し、国内における知見を集積することを目的とした。まず、本研究では、すべての発生源に対する $PM_{2.5}$ 試料に対する酸化能を計測することは、本研究の範疇を超えるため、文献による調査を中心に発生源と酸化能に関する調査を行った。酸化能については、粒子質量あたりのジチオトレイトール (DTT) 消費速度を単位として取りまとめた。次に、 $PM_{2.5}$ 酸化能の要因物質を含む微量成分の自動測定による大気動態を調査することで、必ずしも健康影響指標とする $PM_{2.5}$ 濃度の変動と微量元素や酸化能 (DTT 消費量) が一致するものではなかった。次に、酸化能要因物質である大気粒子中の Cu 元素の発生源を現状の解析技術で同定した結果、不明分とプレーキ粉塵の寄与が極めて高いことが分かった。Cu 元素については、環境行政が本来目的とする、事業者の化学物質管理を促進したり、化学物質リスクコミュニケーションの基礎資料とするために情報を集積することになっているが、 $PM_{2.5}$ による酸化能原因物質である Cu 元素 (特に水溶性の Cu 元素) に対して、移動発生源からの排出量が整備されておらず、リスク管理するべく物質としての情報が欠落しているおそれがあることが、本研究を実施することで分かった。

[キーワード]

リアルタイム計測、発生源同定、酸化能、DTT アッセイ、銅元素

1. はじめに

微小粒子状物質 ($PM_{2.5}$) は、健康影響が懸念されるとして環境基準が 2009 年に設定され、未達成の測定局が残されている。発生源から直接排出される $PM_{2.5}$ の排出が年々低下していることは、広く知られるようになってきたが、 $PM_{2.5}$ の主要な構成要素である二次粒子など、発生源の寄与度については不明な点が多く、発生源寄与度の解明に必要な観測データ拡充を行うことが必要な状況にある。

$PM_{2.5}$ は複数の化合物から構成され、無害なものから有害なものが含まれる。また、成分の構成比率は、時空間分布の変動は大きいことが知られている。このことから、 $PM_{2.5}$ は健康への影響を知るための代理的な指標 (Proxy、プロキシ) である。先行の疫学研究では、緊急外来患者 (喘息患者やうつ血性心不全患者) に対し、 $PM_{2.5}$ よりも $PM_{2.5}$ の酸化能 (ジチオトレイトール (Dithiothreitol; DTT) アッセイ)¹⁾ を

指標とした場合に、リスク比が高くなることが報告されており²⁾、PM_{2.5}に代わる健康影響への新指標として注目されはじめている。

PM_{2.5}に含まれる酸化能が高くなる要因となる物質は、キノン類 (Kumagai et al)¹⁾、水に可溶性の無機元素 (特に Cu や Fe)³⁾、有機物 (水溶性/非水溶性の有機物、ホパン類)⁴⁾、表面化学構造が酸化された状態にある元素状炭素 (EC) など⁵⁾が報告されている。酸化能に対する発生源は、観測された酸化能と成分分析から同定された発生源寄与濃度に対し、統計解析により酸化能の発生源寄与度の解析が試みがなされている²⁾。

このように、PM_{2.5}の発生源同定のみならず、酸化能に起因する無機元素の大気中での動態、各発生源の酸化能に関し、国内における知見は非常に乏しく、動態解明のために必要な観測データ拡充を行うことが必要な状況にある。

2. 研究開発目的

本研究では、PM_{2.5}に代わる新指標化へ向けた解析に資するデータを集積するため、酸化能に起因する無機元素の大気中での動態解明、各発生源の酸化能に関し、国内における知見を集積することを目的とする。

3. 研究開発方法

(1) 発生源と酸化能に関する文献調査

本研究では、すべての発生源に対する PM_{2.5} 試料に対する酸化能を計測することは、本研究の範疇を超えるため、文献による調査を中心に発生源と酸化能に関する調査を行った。酸化能については、粒子質量あたりの DTT 消費速度を単位として取りまとめた。

(2) PM_{2.5}酸化能の要因物質を含む微量成分の自動測定による大気動態調査

微量無機元素の自動計測は、PM_{2.5}用サイクロンとガス交換器を装着した誘導プラズマ飛行時間型質量分析計 (Aerosol-icpTOF)⁶⁾、蛍光 X 線により元素濃度を自動測定することが可能な PM_{2.5}自動成分分析装置 (PX375)⁷⁾により計測した。また、PM_{2.5}の主要成分である有機エアロゾル (OA)、硫酸イオン、硝酸イオン、塩化物イオン、アンモニウムイオンについても、PM_{2.5}用空気動力学レンズを搭載したエアロゾル質量分析計 (PM_{2.5}-AMS)⁸⁾により計測した。観測期間は、環境省より通知された PM_{2.5}成分測定の試料捕集期間 (コア期間 2017 年 1 月 23 日から 30 日)に合わせ、2017 年 1 月 18 日から 2 月 4 日の期間に観測を行った。観測用の計測機器は、自動車研究所の構内にある環境実験棟内 (地上 1 階) に設置して観測を行った。

(3) PM_{2.5}酸化能の自動測定による大気動態調査

PM_{2.5}酸化能の自動計測は、2019 年度にサブテーマ 2 で開発した全自動 DTT アッセイ装置 (Full Automated DTT-Assay System, FADAS) を用いて、2019 年 3 月 19 日から 3 月 30 日の期間に、自動車研究所の構内にある環境実験棟内 (地上 1 階) に計測機器を設置して PM_{2.5}の質量濃度と DTT 消費量の観測を行った。

(4) 酸化能の原因物質の発生源同定解析

本研究では、ケミカルマスバランス (CMB) 法により、サブテーマ 3 で実施した観測において酸化能に対して寄与が高い Cu 元素の発生源寄与解析を行った。環境省より報告されている微小粒子状物質に関する発生源調査のうち、粗大粒子と微小粒子の両方が測定されている調査報告データを用いて⁹⁾、ケミカルマスバランス (CMB) 法により、酸化能の原因物質の一つである大気粒子中の Cu 元素に対する発生源解析

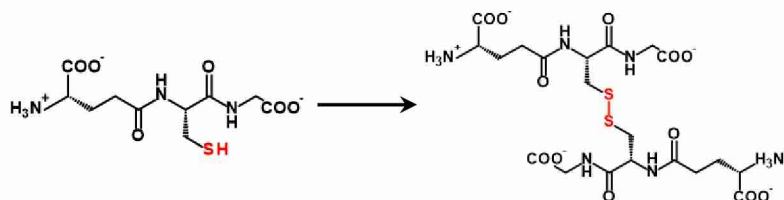
を行った。CMB 法による解析に用いた発生源プロファイルは、同調査報告書⁹⁾に記載される道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却、自動車排気、ブレーキ粉塵を用いた。

4. 結果及び考察

(1) 発生源と酸化能に関する文献調査

酸化ストレス(Oxidative Stress)は、「生体内において酸化力(pro-oxidant)が抗酸化力(anti-oxidant)を上回った状態」と定義される¹⁰⁾。生体内での酸化ストレスは、スーパーオキシドラジカルや過酸化水素、ヒドロキシラジカルのような活性酸素種(Reactive Oxygen Species; ROS)の過剰な生成あるいはそれらを消去する抗酸化能力の欠損により引き起こされる¹¹⁾。酸化ストレスを受けると、核酸(DNA)、タンパク質、脂質などが損傷し、細胞機能をも障害され、さまざまな病態と深くかかわる。

生体内還元物質であるグルタチオンは、グルタチオンが有するチオール基の化学的反応性により(図(4)-1)、ROSの除去(抗酸化)や求電子的な化合物、重金属など生体異物(毒物)の解毒、すなわち細胞を保護する補助的役割を有する極めて重要な分子である。



図(4)-1 グルタチオンの化学構造と酸化体

酸化能は、ROSが生体内の還元物質(抗酸化物質)を酸化する能力を言い、グルタチオンやアスコルビン酸が酸化された量を測定する、化学反応を測定する方法により、細胞毒性の評価指標として用いられることがある。

大気中のPM_{2.5}の酸化能に関する研究では、グルタチオンに代わり、ジチオトレイトール(dithiothreitol; DTT)といった低分子酸化還元剤を用いた評価が行われる¹⁾(図(4)-2(a))。

DTTは、分子内ジスルフィド結合による6員環を形成する傾向が強く、チオール-ジスルフィド交換反応により還元される。チオール基のpKaは通常8.3程度であり、負に帯電したチオレート型の-S⁻だけが反応性を持っているため、DTTの還元力はpHが7以上の場合に限られる。

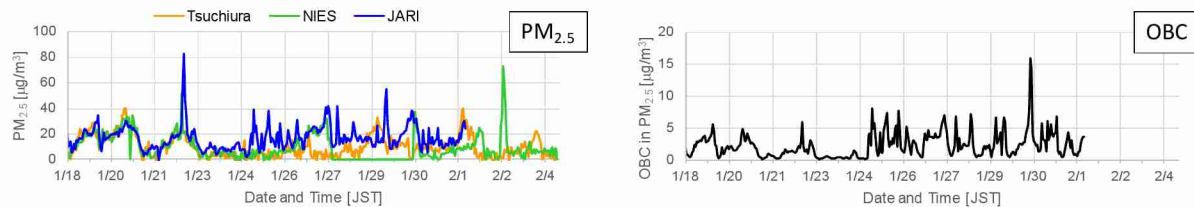
DTTによる酸化能の測定では、DTTと試料を一定の温度と時間で反応させ、残存したDTTを測定する(図(4)-2(a))。このとき、DTTにより5,5-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)のジスルフィド結合を開裂し、2-ニトロ-5-メルカプト安息香酸(TNB)を生成させ、TNBの吸光度(412nm)を測定することで、DTT濃度を測定する。チオール基の化学的反応性は、ラジカルによる脱プロトン反応、金属酸化物との反応により消費され、化学種によって反応速度が大きく異なる。キノン型多環芳香族炭化水素は、高い求核性を示すSH基と選択的に酸化還元サイクルを介して化学量論を遥かに超えたROSを産生する(図(4)-2(b))¹⁾。また、DTTの消費量をDTTの酸化体(4,5-ジヒドロキシ-1,2-ジチアン)¹²⁾を測定して評価する場合もある。SH基は、過酸化水素や電子求引性基と反応することが指摘されている¹³⁾。またSH基は、金属カチオンに著しい親和力をもっているため、ヒ素、アンチモン、カドミウム、亜鉛、鉛、銅、水銀、銀、金のカチオンは容易にSH基と反応し、メルカプチド(mercaptide)を形成することも知られている¹⁴⁾。特に遷移金属は、チオールとの錯体(transition metal thiolate complex)を形成することも知られている。生体内における酸化還元反応を化学反応により定量する場合、チオールのSH基を用いた反応だけ

表(4)-1 粒子質量当たりの DTT 消費量として計測した各発生源の酸化能

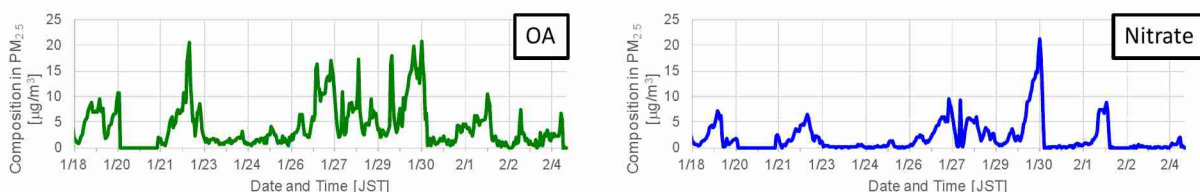
	Sources	nmol-DTT/min/ μg	Refs.
Emission Sources	Diesel Exhaust without After treatment	0.005 – 0.39	19, 20, 21,
	Bio-Diesel Exhaust without	0.023 – 0.027	21
	Diesel Exhaust with DOC+DPF	0.01 – 0.19	19, 20, 21,
	Gasoline Exhaust	0.011 – 0.012	21, 22
	Automotive Brake Wear Particles	0.05 – 12	24
	Rice straw	0.018 – 0.024	25
	Rice husk	0.0056 – 0.021	25
	Barley straw	0.0079 – 0.0099	25
	Wheat straw	0.016 – 0.044	25
	Gobi Kosa (SRM 30)	1.1 – 1.8	This Study
Secondary Organic Aerosol (Smog Chamber Study)	Isoprene SOA	0.01 – 0.055	22, 26
	α -pinene SOA	0.02–0.03	22, 26
	β -caryophyllene SOA	0.015–0.025	26
	Pentadecane SOA	0.02–0.03	26
	m-xylene SOA	0.015–0.04	22, 26
	Naphthalene SOA	0.09–0.24	26
Field Study (Assigned by Ambient Data)	Light-Duty Gasoline Vehicles	0.09 – 0.13	2
	Biomass Burning	0.067– 0.071	2
	Heavy-Duty Diesel Vehicles	0.051 – 0.054	2
	Isoprene-OA	0.001–0.004	26
	More-Oxidized Oxygenated OA	0.015–0.06	26
	Biomass Burning OA	0.13–0.17	26
	Cooking OA	0.004–0.14	26

(2) PM_{2.5}酸化能の要因物質を含む微量成分の自動測定による大気動態調査

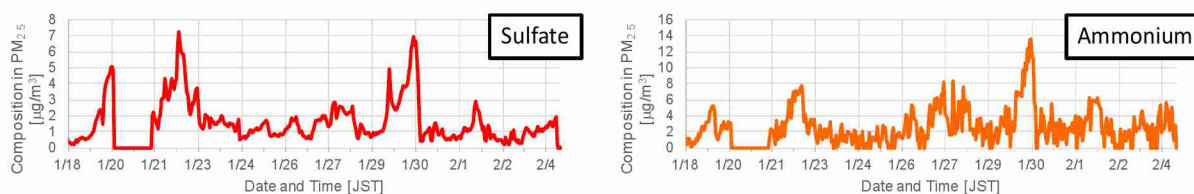
2017年1～2月にPM_{2.5}質量と各成分の自動測定を行った。図(4)-3から図(4)-31には、近隣の一般大気観測局(土浦保健所)、環境研究所(NIES)、自動車研究所(JARI)で観測したPM_{2.5}濃度(図(4)-3)、自動車研究所(JARI)で観測した、光学的ブラックカーボン(OBC)濃度(図(4)-3)、PM_{2.5}の無機・有機成分(図(4)-4から図(4)-6)、微量無機元素(図(4)-7から図(4)-31)を測定した結果をそれぞれ時系列で示す。このうち、微量無機元素は、環境省が実施するPM_{2.5}の24時間観測では実施することが困難である、1時間観測を48元素を同時に自動測定が可能であった。本観測期間で、PM_{2.5}の1時間値で70 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えた高濃度のイベントは、1月22日の日中ならびに2月2日の早朝であった。1月22日において濃度が増加した成分は、有機エアロゾル(OA)、硝酸イオン、硫酸イオン、アンモニウムイオン、塩化物、無機元素では、K、Cd、Pdなどである。同日にはつくば市内で野焼きが行われており、その影響を受けていたものと考えられる。2月2日において濃度が増加した成分は、OA、微量無機元素ではAl、Si、Ca、Ti、Fe、Co、Mn、Y、Nb、Sm、Eu、Gd、Dy、Ho、Er、Tm、Uなどである。2月2日は、乾燥が続いた気候に加え、強い北風が起きたため、関東で田畑からの土壌粉塵の巻上げが観測されたことから、土壌成分や土壌中の肥料成分による影響を受けていたことが示唆された。1月24日の日中におけるPM_{2.5}濃度増加については、各地点での濃度の傾向が異なっており、PM_{2.5}は広域的な汚染物質であることが知られているが、時間分解能を上げて観測を行うことで、空間分布のばらつきが大きいことが考えられた。一方で、近隣の一般大気観測局(土浦保健所)で測定したPM_{2.5}自動計測器(PM377)は、加熱による湿度調整、環境研究所(NIES)、自動車研究所(JARI)で用いたPM_{2.5}自動計測器(PM712)は加熱を行わない計測方法であり、これら測定原理の差異による可能性も無視できるものではなかった。



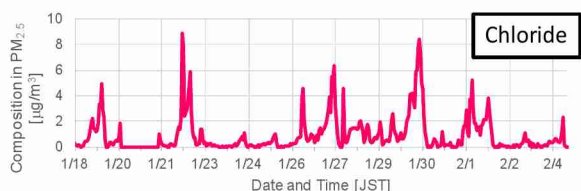
図(4)-3 2017年1~2月に観測されたPM_{2.5}質量濃度(左) OBC濃度(右)



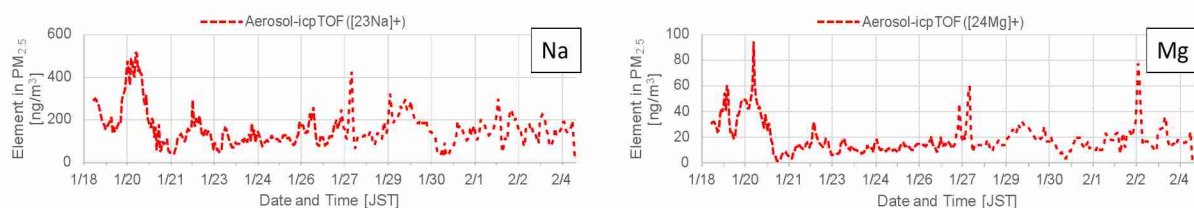
図(4)-4 2017年1~2月に観測されたOA濃度(左)と硝酸イオン濃度(右)



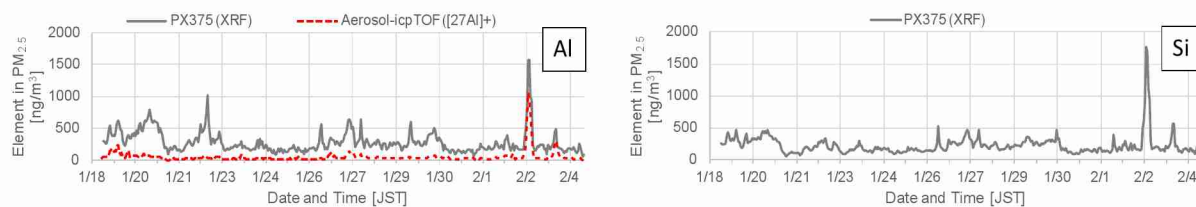
図(4)-5 2017年1~2月に観測された硫酸イオン濃度(左)とアンモニウムイオン濃度(右)



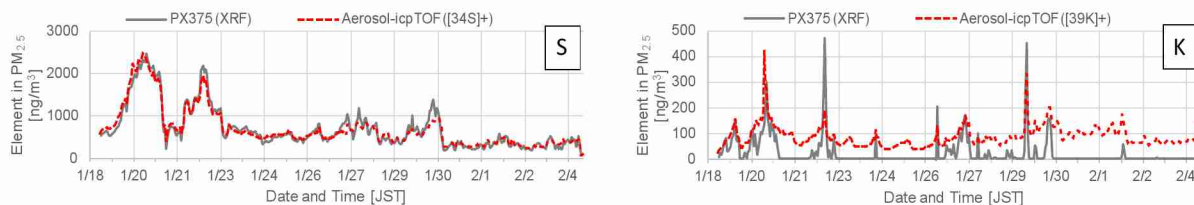
図(4)-6 2017年1~2月に観測された塩化物イオン濃度



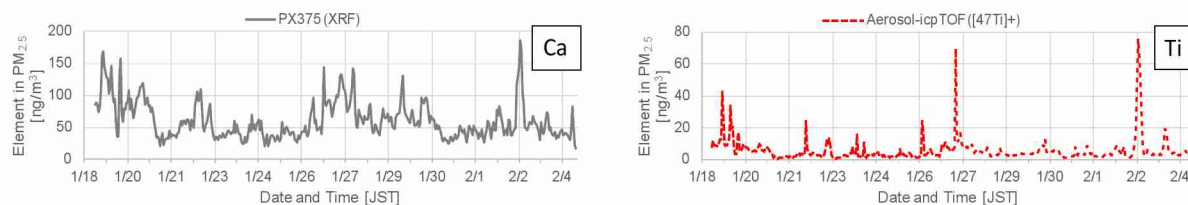
図(4)-7 2017年1~2月に観測されたNa元素濃度(左)とMg元素濃度(右)



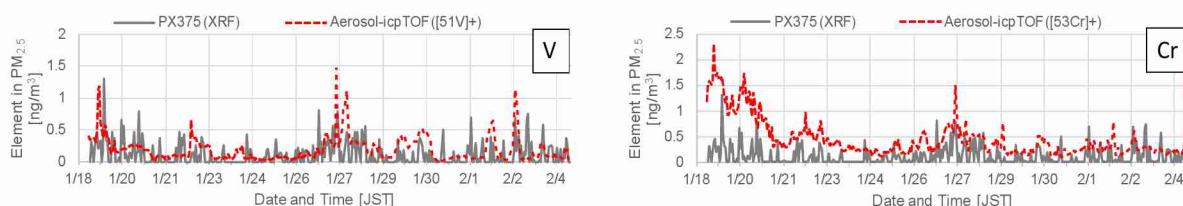
図(4)-8 2017年1~2月に観測されたAl元素濃度(左)とSi元素濃度(右)



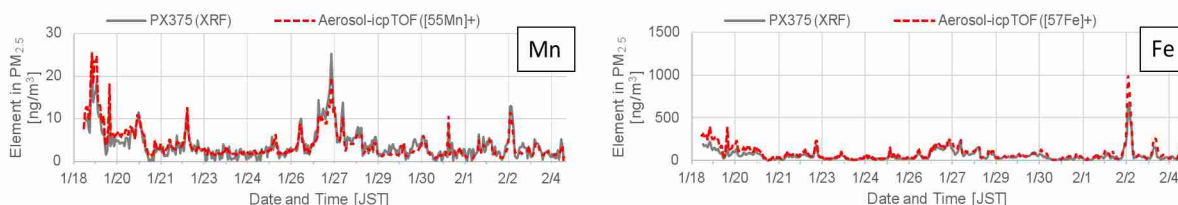
図(4)-9 2017年1~2月に観測されたNa元素濃度(左)とMg元素濃度(右)



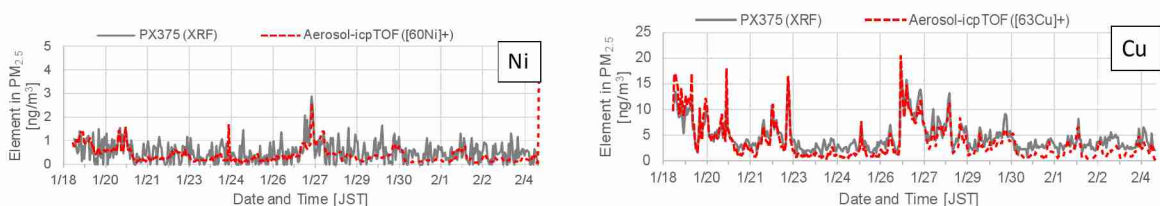
図(4)-10 2017年1~2月に観測されたCa元素濃度(左)とTi元素濃度(右)



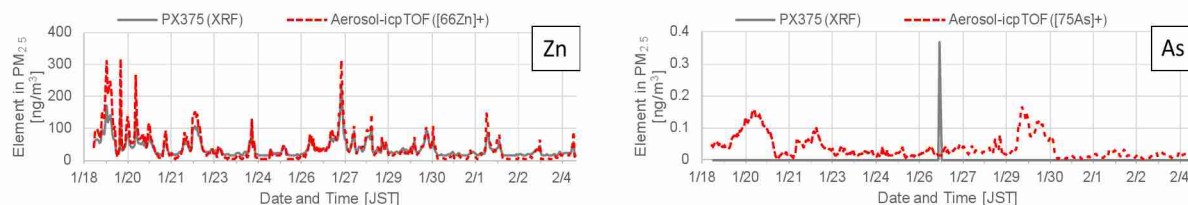
図(4)-11 2017年1~2月に観測されたV元素濃度(左)とCr元素濃度(右)



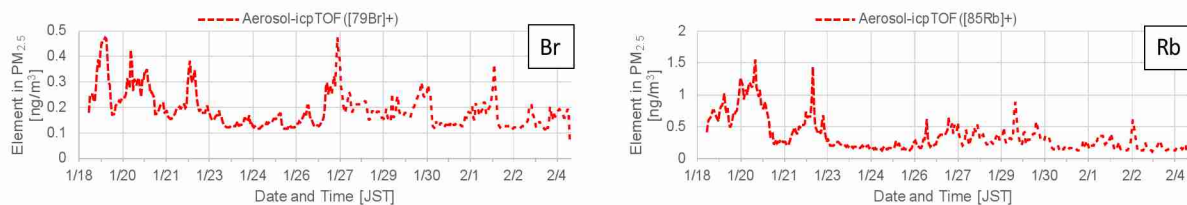
図(4)-12 2017年1~2月に観測されたMn元素濃度(左)とFe元素濃度(右)



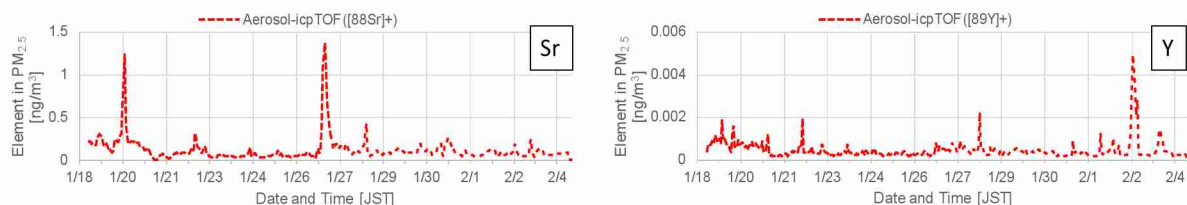
図(4)-13 2017年1~2月に観測されたNi元素濃度(左)とCu元素濃度(右)



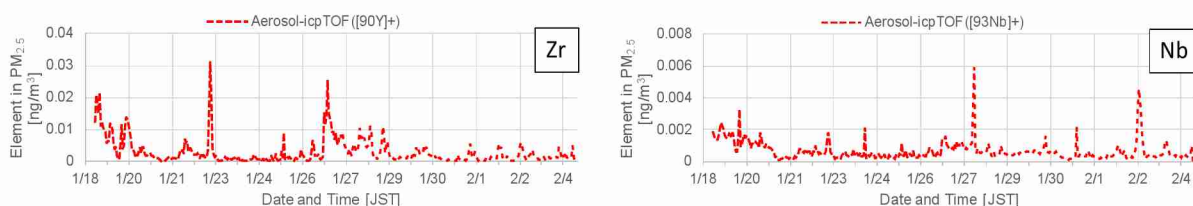
図(4)-14 2017年1~2月に観測されたZn元素濃度(左)とAs元素濃度(右)



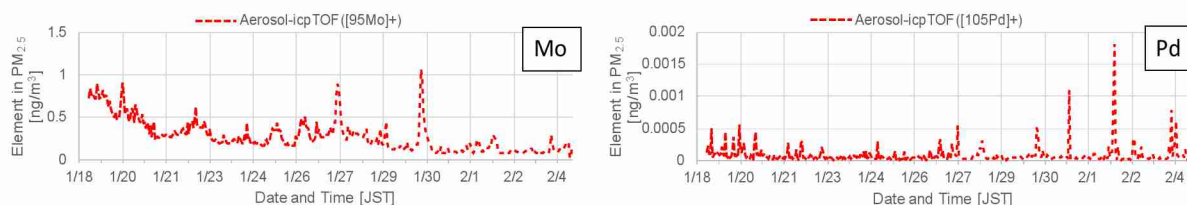
図(4)-15 2017年1~2月に観測されたBr元素濃度(左)とRb元素濃度(右)



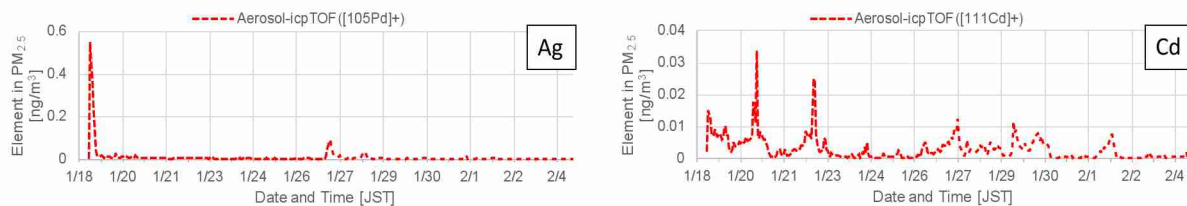
図(4)-16 2017年1~2月に観測されたSr元素濃度(左)とY元素濃度(右)



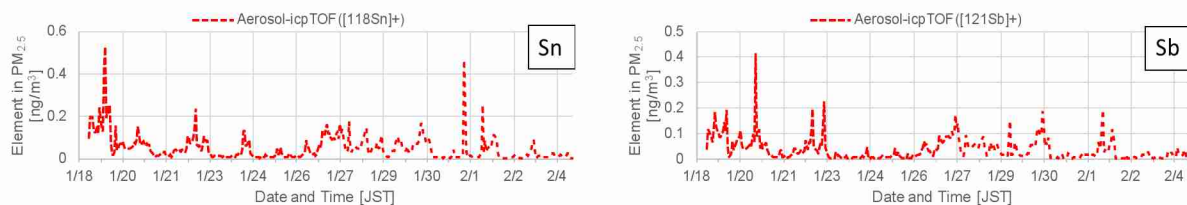
図(4)-17 2017年1~2月に観測されたZr元素濃度(左)とNb元素濃度(右)



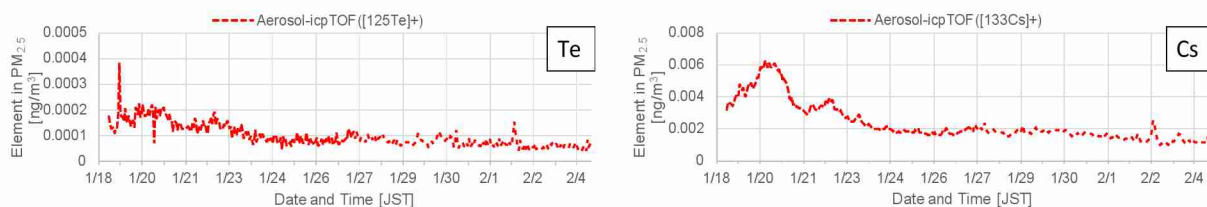
図(4)-18 2017年1~2月に観測されたMo元素濃度(左)とPd元素濃度(右)



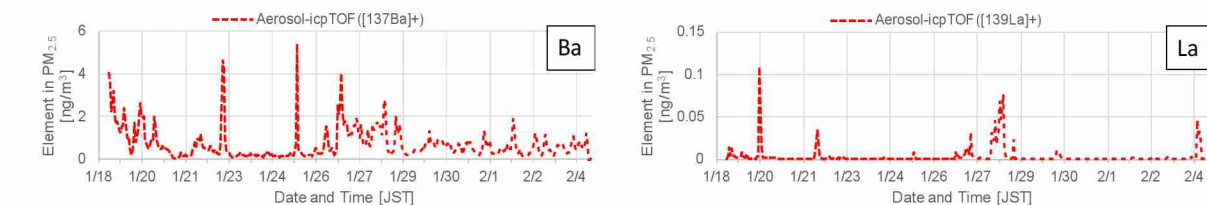
図(4)-19 2017年1~2月に観測されたAg元素濃度(左)とCd元素濃度(右)



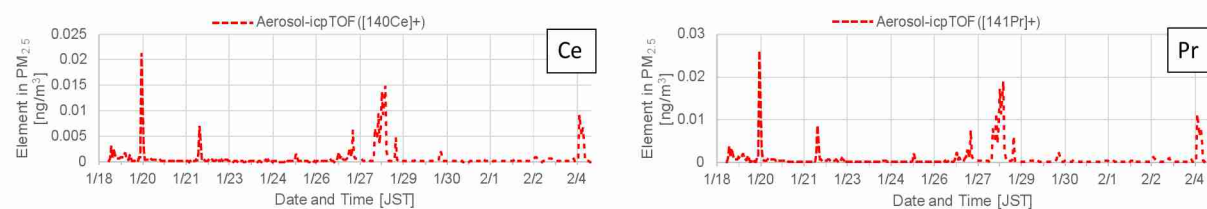
図(4)-20 2017年1~2月に観測されたSn元素濃度(左)とSb元素濃度(右)



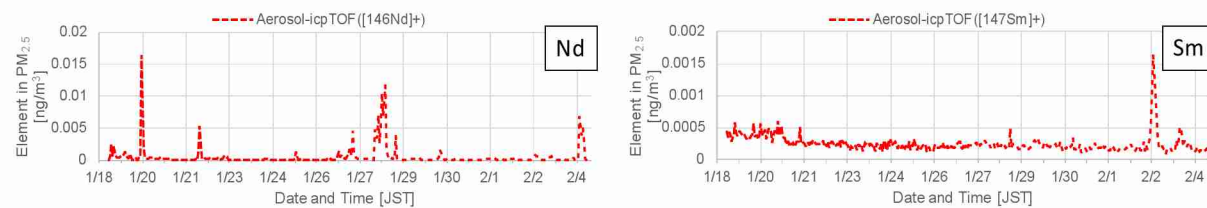
図(4)-21 2017年1~2月に観測されたTe元素濃度(左)とCs元素濃度(右)



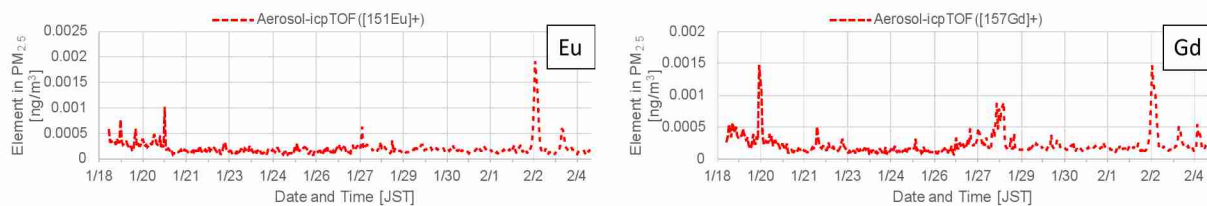
図(4)-22 2017年1~2月に観測されたBa元素濃度(左)とLa元素濃度(右)



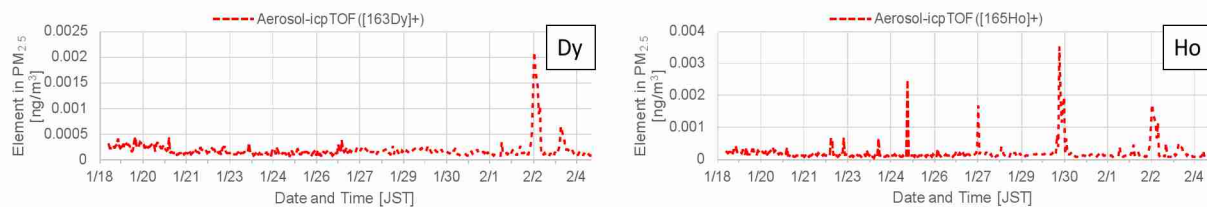
図(4)-23 2017年1~2月に観測されたCe元素濃度(左)とPr元素濃度(右)



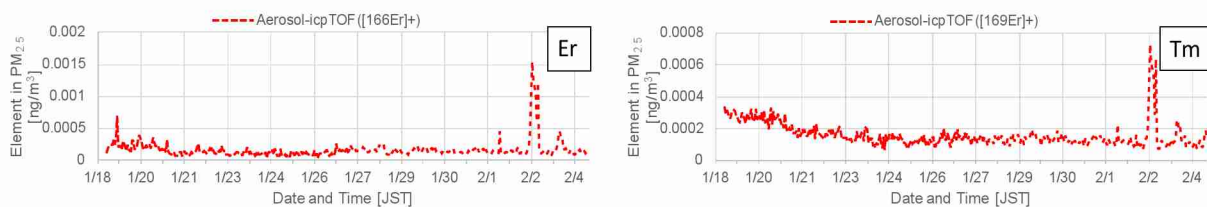
図(4)-24 2017年1~2月に観測されたNd元素濃度(左)とSm元素濃度(右)



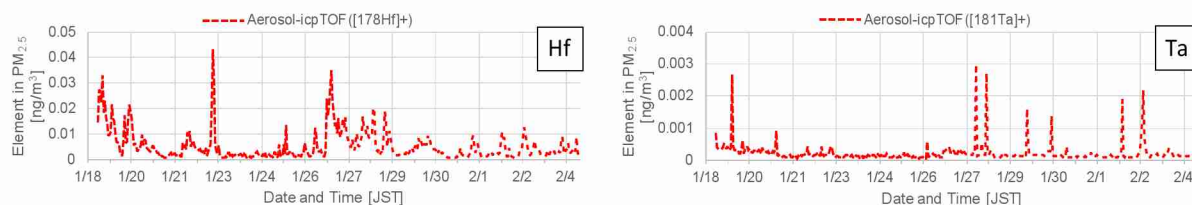
図(4)-25 2017年1~2月に観測されたEu元素濃度(左)とGd元素濃度(右)



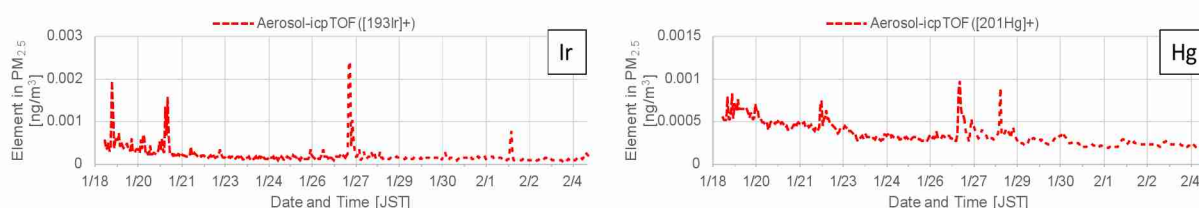
図(4)-26 2017年1~2月に観測されたDy元素濃度(左)とHo元素濃度(右)



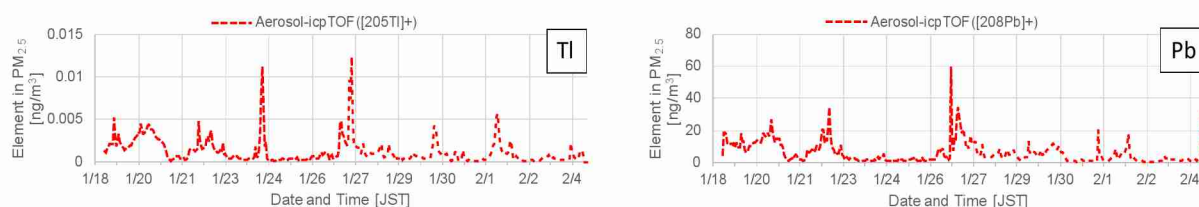
図(4)-27 2017年1~2月に観測されたEr元素濃度(左)とTm元素濃度(右)



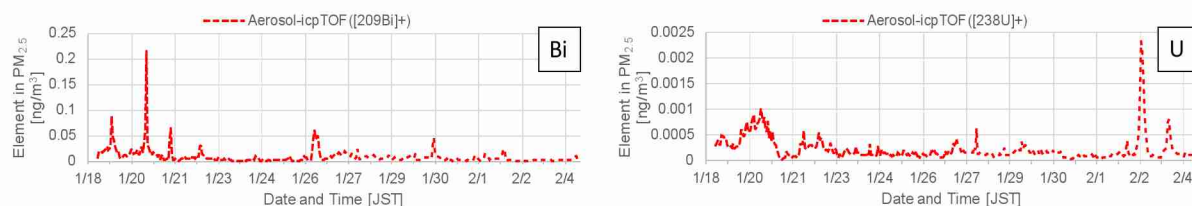
図(4)-28 2017年1~2月に観測されたHf元素濃度(左)とTa元素濃度(右)



図(4)-29 2017年1~2月に観測されたIr元素濃度(左)とHg元素濃度(右)



図(4)-30 2017年1~2月に観測されたTl元素濃度(左)とPb元素濃度(右)

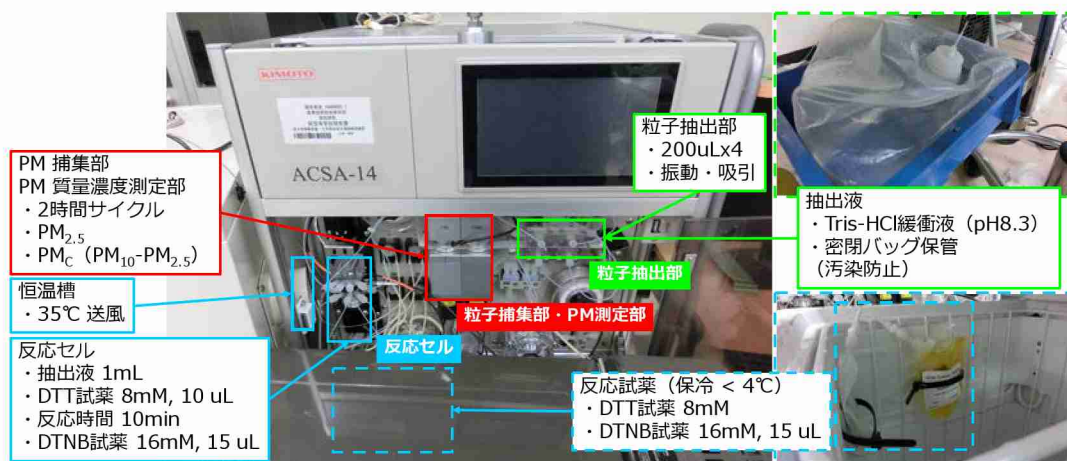


図(4)-31 2017年1~2月に観測されたBi元素濃度(左)とU元素濃度(右)

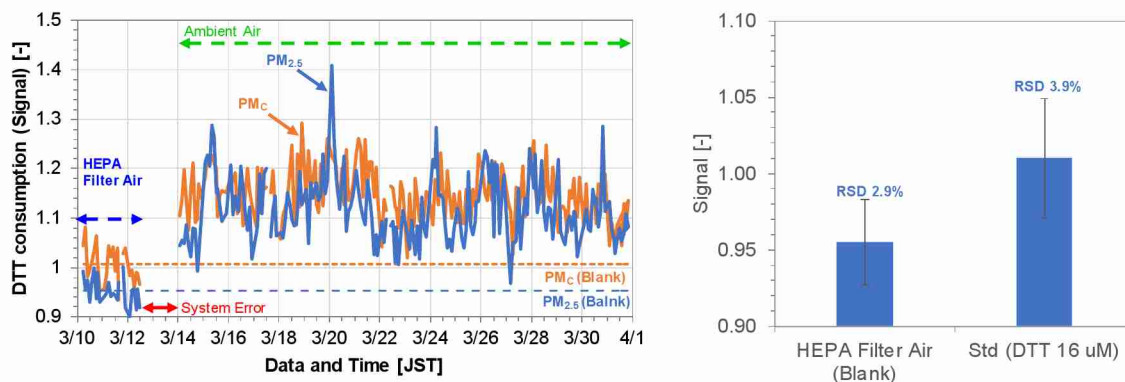
(3) PM_{2.5}酸化能の自動測定による大気動態調査

2019年3月にFADAS(図(4)-32)を用いて、PM_{2.5}とPM_c(PM₁₀-PM_{2.5})とに対するDTT消費量の自動測定を行った。つくばの観測では、反応セルの温度を極力一定にするため、35℃に高温された空気を反応セルに送風して保温し、DTT試薬とDTNB試薬は冷蔵保管(<4℃)し、抽出液(Tris-HCl緩衝液)は室内空気による汚染を避けるために密閉容器(20Lバロンボックス)に保管して連続運転を行った。図(4)-33にDTT消費量を測定したシグナル値の時系列データと、HEPAフィルターを通気させた装置ブランクと既知量(16μM)のDTTを標準として測定した結果を示す。3月10日から14日の期間は、HEPAフィルターを通気させた装置ブランクを測定し、3月14日から外気を測定した。DTT消費量は、装置ブランクを測定した期間と比べて、外気を測定した期間の方が高く推移したことから、FADASにより大気粒子のDTT消費量を

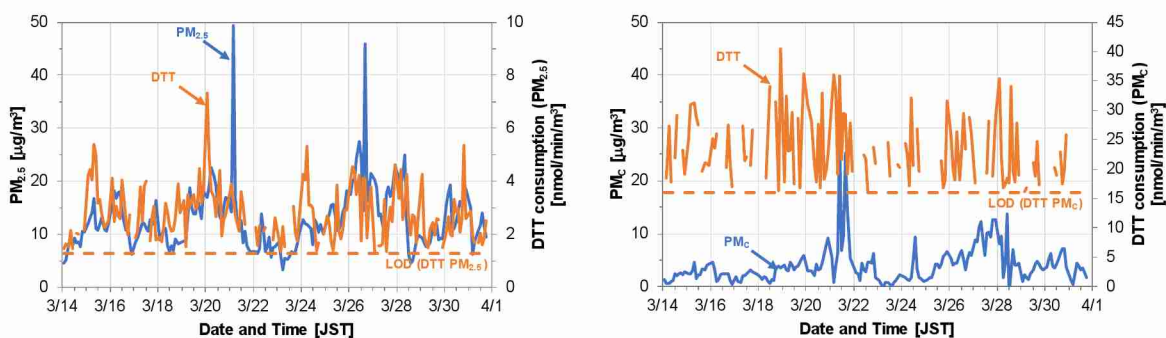
測定することが可能であることが分かった。装置ブランクを測定した時の標準偏差 (σ) より求めた検出限界 (3σ) は、 $PM_{2.5}$ で 1.3 nmol/min/m^3 (2.3 nmol/min/m^3)、 PM_C で 16 nmol/min/m^3 (3.3 nmol/min) であった。先行研究において、ミストチャンバーを用いた $PM_{2.5}$ の水溶性酸化能のオンライン分析 (DTT アッセイのフローインジェクション分析 (FIA)) では、検出限界が 0.24 nmol/min (装置ブランク σ 値の3倍) と報告されており²⁸⁾、本研究で得られた結果は検出感度が低かった。低濃度の $PM_{2.5}$ に対してより感度良く検出するためには、試薬濃度 (DTT や DTNB) や反応セル温度や反応時間の最適化を行うことが必要である。DTT 消費量のばらつきは、標準試料で 3.9% であり、FADAS による計測における抽出効率の再現性 (誤差) については、本研究では調査していない。図(4)-34 に $PM_{2.5}$ と PM_C それぞれの質量濃度、DTT 消費量を時系列で示す。 $PM_{2.5}$ の DTT 消費量は、 $1.3 \sim 7.3 \text{ nmol/min/m}^3$ の範囲で推移した。つくばと福岡において観測された (サブテーマ 3)、フィルター法による $PM_{2.5}$ の水溶性物質に対する酸化能 (DTT 消費量) は、概ね 5 nmol/min/m^3 未満であったことから、本研究で FADAS による自動計測で観測された DTT 消費量は比較可能なレベルにあったものと考えられる。 $PM_{2.5}$ と DTT 消費量の変動は一概に一致しておらず、図(4)-35 に示す 2 時間平均および 24 時間平均でみて、 $PM_{2.5}$ と DTT 消費量は、高い相関が得られなかった。24 時間平均で $PM_{2.5}$ 濃度と DTT 消費量の相関が得られない結果は、つくばと福岡において観測されたサブテーマ 3 による観測と異なるものであった。FADAS による DTT 自動アッセイは、粒子捕集の 4 時間後に分析を開始するため、短寿命の酸化能要因物質²⁹⁾を計測したことが要因の一つと思われる。DTT 消費量を単位体積で示しているため、混合層高度の変化や希釈や拡散により容易に変化する。このため、DTT 消費量を発生源や組成に起因する粒子の質としても評価するため、 $PM_{2.5}$ 質量あたりの DTT 消費量 (DTT 消費量/ $PM_{2.5}$ 比)、燃焼起源の一次粒子の指標である OBC 質量あたりの DTT 消費量 (DTT 消費量/OBC 比) として、日内の変化 (二次粒子生成など) を調べた。その結果を図(4)-36 に示す。DTT 消費量/ $PM_{2.5}$ 比と DTT 消費量/OBC 比のいずれも日中に高い傾向であり、二次生成²⁶⁾やエージングしたスス粒子⁵⁾などにより DTT 消費量が増加した可能性が示唆された。



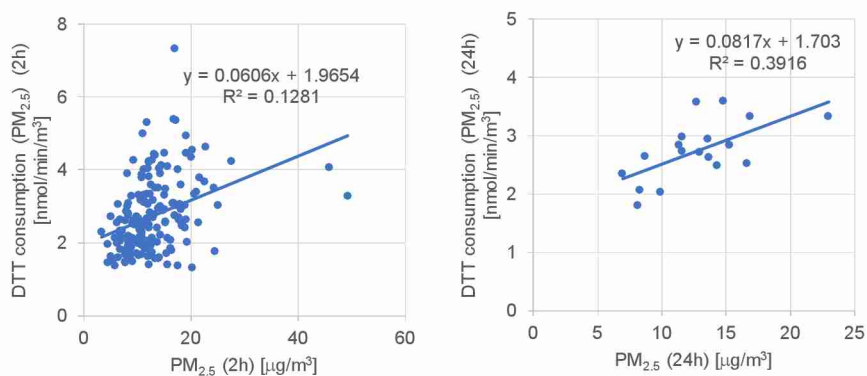
図(4)-32 FADAS を用いた DTT 自動アッセイ



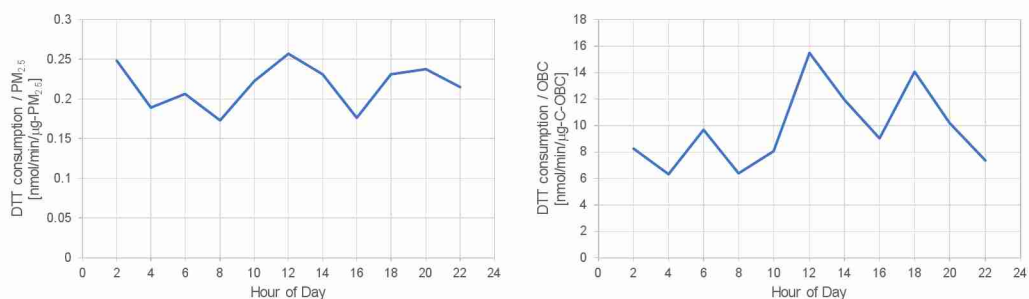
図(4)-33 FADAS を用いた HEPA フィルターエアと外気の計測 (左) ならびに標準試料の計測 (右)



図(4)-34 FADAS で計測した $PM_{2.5}$ 質量と DTT 消費量 (左) ならびに PM_C 質量と DTT 消費量 (右)



図(4)-35 FADAS で計測した $PM_{2.5}$ 質量と DTT 消費量の相関 (2 時間平均) (左) と (24 時間平均) (右)

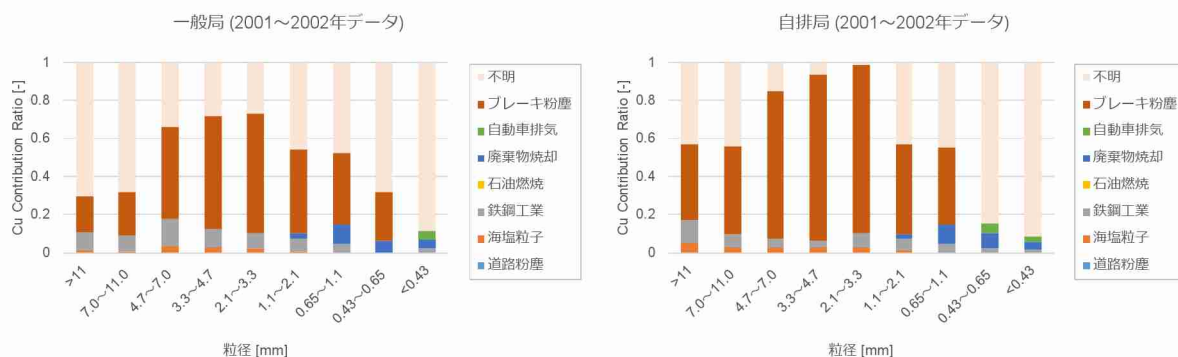


図(4)-36 $PM_{2.5}$ 質量あたりの DTT 消費量 (左) と OBC 質量あたりの DTT 消費量 (右) の日内変化

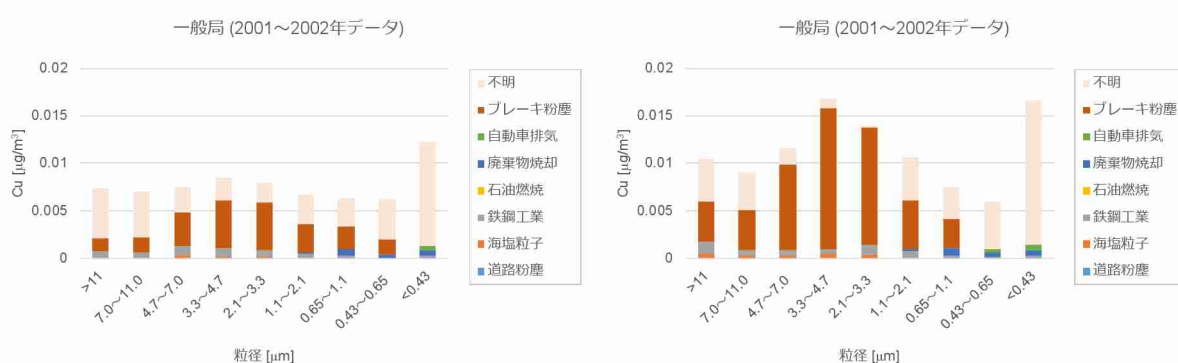
(3) 酸化能の原因物質の発生源同定解析

本研究では、ケミカルマスバランス (CMB) 法により、サブテーマ 3 で実施した観測において酸化能に対して寄与が高い Cu 元素に焦点をあてて、発生源の解析を行った。CMB 法による解析では、大気シミュレーションで用いられる排出インベントリのように、70 以上もの発生源プロファイル (各発生源の $PM_{2.5}$ に含まれる成分の割合) は整備されていない。また、CMB 法は観測データを発生源プロファイルと収支が合うように、発生源の比率を配分するよう連立方程式を最小二乗法などにより数学的に解く手法であるため、回帰分析において説明変数の間に線形な従属関係が存在すると、多重共線性を生じ、解が収束しない (発生源が分離できない) などの問題を生じる場合がある。このため、本研究における CMB 法による発生源解析は、主要な発生源のみを対象とした寄与度を推定することが前提となる。

粒形別に測定された大気粒子中の Cu 元素の発生源を解析した結果について、図(4)-37 に各発生源 (道路粉塵、海塩粒子、鉄鋼工業、石油燃焼、廃棄物焼却、自動車排気、ブレーキ粉塵) の寄与度、図(4)-38 に各発生源の寄与濃度として示す。解析に用いたデータは 2001 年～2002 年の 4 季節に国内で測定された一般局 (11 局) と自排局 (4 局) の平均値である。Cu 元素の発生源を解析した結果は、不明分とブレーキ粉塵の順に寄与が高く、不明分は粗大粒子 (粒径 2.1～11 μm) で 39 %、粗大粒子 (粒径 < 2.1 μm) で 73 %、ブレーキ粉塵は粗大粒子で 48%、微小粒子で 16%であった。ブレーキ粉塵の寄与度 (図(4)-37) や寄与濃度 (図(4)-37) は、粒径 2.1～3.5 μm に高い傾向にあり、国内のブレーキ粉塵の排出量を実験により計測された Cu 元素の粒形分布 (モード粒径 1～3 μm)³⁰⁾ と比べて、概ね一致する傾向であった。国内における Cu 元素の排出量について、PRTR (Pollutant Release and Transfer Register : 化学物質排出移動量届出制度) により、水溶性の Cu 元素については対象とされ、どのような発生源から、どれくらい環境中に排出されたか、あるいは廃棄物に含まれて事業所の外に運び出されたかというデータを把握し、集計し、公表されている³¹⁾。自動車も PRTR 制度の対象の発生源として排出量が把握されているが、対象となるデータは、アクロレイン、アセトアルデヒド、エチルベンゼン、キシレン、スチレン、1,3,5-トリメチルベンゼン、トルエン、1,3-ブタジエン、ベンズアルデヒド、ベンゼン、ホルムアルデヒドの 11 物質に限られており、ブレーキ粉塵からの排出については対象とされていない³¹⁾。このため、環境行政が目的とする、事業者の化学物質管理を促進したり、化学物質リスクコミュニケーションの基礎資料とするため、 $PM_{2.5}$ による酸化能原因物質である Cu 元素 (特に水溶性の Cu 元素) に対して、移動発生源からの排出量が整備されておらず、リスク管理するべく物質として、情報が欠落していることが、本研究を実施することで分かった。実際、サブテーマ 1 で示すように Cu のモデル再現精度は他の元素に比べてあまり高くなく、今後 Cu 排出量推計の高精度化が必要と考えられる。なお、 $PM_{2.5}$ の酸化能要因物質である Cu 元素など、微量元素に対するより精緻な発生源解析を行うためには、大気シミュレーションの発生源プロファイルに微量元素の情報を入力し、実測との整合性を評価しながらデータを解析を行う方法が挙げられる。大気シミュレーションによる方法は、サブテーマ 1 の方で実施した。ブレーキ粉塵が主要発生源であり、そのほか廃棄物焼却、自動車排気、鉄鋼業の寄与が見られる点などが、大気シミュレーションによる方法と整合的な結果であった。



図(4)-37 各粒径の Cu 元素に対する発生源寄与度：一般局（左）と自排局（右）



図(4)-38 各粒径の Cu 元素に対する発生源寄与濃度：一般局（左）と自排局（右）

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

これまでに、環境省が実施している PM_{2.5} 成分分析では 24 時間ごと、有害大気汚染物質では 48 時間もしくは 2 週間ごとであり、時間分解能の高い測定や解析が困難であった。特に微量無機元素は、環境省が実施する PM_{2.5} の 24 時間観測では実施することが困難であり、本研究では 1 時間ごとに 48 元素同時に測定データを得ることが可能となった。これにより、気象要因や疫学調査との直接比較など、要因解析に資する科学的な知見が得られるようになった。

(2) 環境政策への貢献

本研究における計測技術により、これまでに解析が困難であった、有害大気汚染物質に指定されている微量無機元素の濃度の 1 時間観測が可能となり、例えば、Mn が気象要因で増加する現象が観測されるなど、一概に環境基準による安全性を議論するだけでなく、自然現象と比較した要因解析を含めたデータ取得が可能となった。これにより、市民にとって安全な社会へ向けた情報発信に資する結果が得られるようになった。

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

環境省や自治体により、本研究の計測技術や解析技術を用いて、大気中の粒子状物質の要因解析とその対策のための調査が実施・推進され、今後の環境基準改定などの政策議論へ展開されることが見込まれる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

<論文（査読あり）>

- 1) H. HAGINO: Aerosol Sci. Tech., 51, 4, 323-326 (2017)

Laboratory evaluation of nanoparticle penetration efficiency in a cylindrical counter flow denuder for non-specific removal of trace gases.

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) 萩野浩之：JARI Research Journal, 1-4 (2017)

「PM_{2.5}発生源寄与度推定におけるPMFやCMBモデル解析の特性理解ー有機エアロゾル質量スペクトルを用いた合成データによる一次粒子と二次粒子の分離ー」

- 2) 萩野浩之、梶野瑞王、大畑昌輝、藤谷雄二：第48回大気環境学会年会講演要旨集, 365 (2017)

「一次粒子および二次粒子の酸化能に関する文献調査」

- 3) 萩野浩之：JARI Research Journal, 1-4 (2018)

「誘導結合プラズマ飛行時間型質量分析計を用いたリン、硫黄、ハロゲン元素の同時測定」

- 4) 須藤菜那、萩野浩之：第49回大気環境学会年会講演要旨集, 318 (2018)

「越境汚染地域における有機トレーサー成分の季節変動と特性」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 梶野瑞王、五十嵐康人、財前祐二、足立光司、関山剛、大畑昌輝、藤谷雄二、古山昭子、萩野浩之：2016年福岡から診る大気環境研究所研究会 (2016)

「観測・モデルを併用した粒子酸化能研究の立ち上げ」

- 2) 萩野浩之, M. TANNER, O. BOROVINSKAYA, 疋田利秀, 下野彰夫：自動車技術会学術講演会 (2017)

「自動車排出粒子に含まれる潤滑油、摩耗、揮散性元素のリアルタイム計測へ向けたICP-TOFMS技術の応用」

- 3) 梶野瑞王、五十嵐康人、財前祐二、足立光司、関山剛、Joseph Ching、大畑昌輝、チョン千香子、藤谷雄二、古山昭子、萩野浩之、須藤菜那、猪股弥生、大西一成、亀田貴之：2017年度福岡から診る大気環境研究所研究会 (2017)

「粒子酸化能と遷移金属に関する観測的および数値的研究」

- 4) 梶野瑞王、足立光司、Joseph Ching、木名瀬健、関山剛、財前祐二、五十嵐康人、大畑昌輝、チョン

千香子、藤谷雄二、古山昭子、萩野浩之、須藤菜那、大西一成、亀田貴之、猪股弥生、原圭一郎、西田千春、林政彦：第59回大気環境学会年会（2018）

「粒子酸化能に関する観測的および数値的研究」

- 5) 梶野瑞王、Joseph Ching、足立光司、財前祐二、関山剛、木名瀬健、五十嵐康人、萩野浩之、森川多津子、藤谷雄二、古山昭子、大畑昌輝、チョン千香子：2018年度福岡から診る大気環境研究所研究会（2019）

「金属由来の酸化能に関する観測的および数値的研究」

- 6) H. Hagino：Asian Aerosol Conference 2019（2019）

「Rapid and sensitive direct analysis of multi-elements in aerosol by ICP-TOFMS」

（3）知的財産権

特に記載すべき事項はない。

（4）「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 大気汚染とPM_{2.5}を考える～PM_{2.5}を正しく知ることで見えてくるもの～第7回低炭素まちづくりフォーラムin埼玉～つながろう広がろうエコの輪
（平成28年12月10日（土）、埼玉大学、聴講者約20名）
- 2) 一般財団法人日本自動車研究所、一般公開、展示・研究紹介「PM_{2.5}の発生源をリアルタイムに測定するために」
（平成29年4月22日（土）、日本自動車研究所大型ディーゼル研究棟、見学者500名以上）
- 3) 兵庫県立大学知の交流シンポジウム2017
（平成29年9月19日（火）、神戸商工会議所）
- 4) 気象研究所公開研究発表会
（平成29年12月2日（水）、一橋大学一橋講堂）
- 5) 第59回大気環境学会年会 特別集会開催（公開シンポジウム）
（平成30年9月6日（木）、九州大学筑紫キャンパス）

（5）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

（6）その他

日本エアロゾル学会 奨励賞、2018年9月、日本エアロゾル学会、萩野浩之

大気環境学会 進歩賞、2018年9月、大気環境学会、萩野浩之

一般財団法人日本自動車研究所 理事長賞、2018年10月、一般財団法人日本自動車研究所、萩野浩之

8. 引用文献

- 1) Y. Kumagai et al., Chem. Res. Toxicol., 15, 483-489 (2002) Oxidation of Proximal Protein Sulfhydryls by Phenanthraquinone, a Component of Diesel Exhaust Particles.
- 2) J.T. Bates et al.: Environ. Sci. Technol., 49, 13605-13612 (2015) Reactive Oxygen Species Generation Linked to Sources of Atmospheric Particulate Matter and Cardiorespiratory Effects.

- 3) J.G. Charrier and C. Anastasio, *Atmos. Chem. Phys.*, 12, 9321–9333 (2012) On Dithiothreitol (DTT) as a Measure of Oxidative Potential for Ambient Particles: Evidence for the Importance of Soluble Transition Metals.
- 4) A. Saffari et al.: *J. Environ. Sci. Health., A*, 49, 441–451 (2014) Seasonal and Spatial Variation in Dithiothreitol (DTT) Activity of Quasi-Ultrafine Particles in the Los Angeles Basin and its Association with Chemical Species.
- 5) J.J Sauvain and M. Rossi, *Environ. Sci. Technol.*, 50, 996–1004 (2016) Quantitative Aspects of the Interfacial Catalytic Oxidation of Dithiothreitol by Dissolved Oxygen in the Presence of Carbon Nanoparticles.
- 6) 萩野浩之 他: 自動車技術会論文集, 48, 1341–1346 (2017) 自動車排出粒子に含まれるエンジンオイル添加剤由来微量無機元素のリアルタイム計測へ向けた ICP-TOFMS 技術の応用.
- 7) HORIBA Ltd.: (2018) Ambient: Continuous Particulate Monitor with X-ray Fluorescence PX-375 Instruction Manual
- 8) L.R. Williams: *Atmos. Meas. Tech.*, 6, 3271–3280, (2013) Characterization of an Aerodynamic Lens for Transmitting Particles Greater than 1 Micrometer in Diameter into the Aerodyne Aerosol Mass Spectrometer.
- 9) 環境省: (2008) 平成 20 年度微小粒子状物質等実測調査 データ整理および解析 (その他の解析) 報告書
- 10) H. Sies: *Exp Physiol.*, 82, 291–295 (1997) Oxidative stress: oxidants and antioxidants.
- 11) J.G. Scandalios: *Genome Biology*, 3, 1019.1–1019.6 (2002) Oxidative Stress Responses – What have Genome-Scale Studies Taught Us?
- 12) Cleland, W.W.: *Biochem.*, 3, 480–482 (1964) Dithiothreitol, a New Protective Reagent for SH Groups.
- 13) H. Jiang, et al.: *Atmos. Chem. Phys.*, 17, 9965–9977 (2017). Dithiothreitol Activity by Particulate Oxidizers of SOA Produced from Photooxidation of Hydrocarbons under Varied NOx Levels.
- 14) 松本博: 化学と生物, 6, 318–326 (1965) SH 基の定量 I.
- 15) P.S.J. Lakey et al.: *Sci. Rep.*, 8, 6, 32916 (2016) Chemical Exposure-Response Relationship between Air Pollutants and Reactive Oxygen Species in the Human Respiratory Tract.
- 16) F. Hedayat et al.: *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 21, 201–210 (2015) Review-Evaluating the Molecular Assays for Measuring the Oxidative Potential of Particulate Matter.
- 17) J.G. Ayres et al.: *Inhal. Toxicol.*, 20, 75–99 (2008) Evaluating the Toxicity of Airborne Particulate Matter and Nanoparticles by Measuring Oxidative Stress Potential—a Workshop Report and Consensus Statement.
- 18) T. Fang et al.: *Environ. Sci. Technol.*, 51, 2611–2620 (2017) Highly Acidic Ambient Particles, Soluble Metals, and Oxidative Potential: A Link between Sulfate and Aerosol Toxicity.
- 19) M.D. Geller et al.: *Atmos. Environ.*, 40, 6988–7004 (2006) Physicochemical and Redox Characteristics of Particulate Matter (PM) Emitted from Gasoline and Diesel Passenger Cars.
- 20) S. Biswas et al., *Environ. Sci. Technol.*, 43, 3905–3912 (2009) Oxidative Potential of Semi-Volatile and Non-Volatile Particulate Matter (PM) from Heavy-Duty Vehicles Retrofitted

with Emission Control Technologies.

- 21) K.L. Cheung et al.: *Aerosol Sci. Technol.*, 44, 500-513 (2010) Emissions of Particulate Trace Elements, Metals and Organic Species from Gasoline, Diesel, and Biodiesel Passenger Vehicles and Their Relation to Oxidative Potential.
- 22) Y. Fujitani et al.: *Aerosol Air Qual. Res.*, 17, 574-587 (2017) Comparison of Oxidative Abilities of $PM_{2.5}$ Collected at Traffic and Residential Sites in Japan. Contribution of Transition Metals and Primary and Secondary Aerosols.
- 23) R.D. McWhinney et al.: *Environ. Sci. Technol.*, 47, 3362-3369 (2013) Filterable Redox Cycling Activity: A Comparison between Diesel Exhaust Particles and Secondary Organic Aerosol Constituents.
- 24) G.-M. Miriam: 19th ETH conference (2015) Hazard Assessment of Source-Specific Fine Particulate Matter
- 25) A. Fushimi et al.: *Atmos. Environ.*, 163, 118-127 (2017) Chemical Characterization and Oxidative Potential of Particles Emitted from Open Burning of Cereal Straws and Rice Husk under Flaming and Smoldering Conditions
- 26) W.Y. Tuet et al.: *Atmos. Chem. Phys.*, 17, 839-853 (2017) Chemical Oxidative Potential of Secondary Organic Aerosol (SOA) Generated from the Photooxidation of Biogenic and Anthropogenic Volatile Organic Compounds
- 27) V. Verma et al.: *Environ. Sci. Technol.*, 49, 4646-4656 (2015) Organic Aerosols Associated with the Generation of Reactive Oxygen Species (ROS) by Water-Soluble $PM_{2.5}$
- 28) J.V. Puthussery et al.: *Atmos. Meas. Tech.*, 11, 5767-5780, (2018) Development and Field Testing of an Online Instrument for Measuring the Real-Time Oxidative Potential of Ambient Particulate Matter Based on Dithiothreitol Assay.
- 29) J. Zhou et al.: *Atmos. Meas. Tech.*, 11, 65-80 (2018) Development, Characterization and First Deployment of an Improved Online Reactive Oxygen Species Analyzer.
- 30) H. Hagino et al.: *Atmos. Environ.* 131, 269-278 (2016) Laboratory testing of airborne brake wear particle emissions using a dynamometer system under urban city driving cycles
- 31) 環境省 : PRTR 地域別 P R T R 非点源排出量推計マニュアル第 1 版 (2003)
<https://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/hiten/manual1.pdf> PRTR

III. 英文 Abstract

Studies on PM_{2.5} composition, oxidative potential, health hazard and their model prediction

Principal Investigator: Mizuo KAJINO

Institution: Meteorological Research Institute (MRI), Japan Meteorological Agency

1-1 Nagamine, Tsukuba-City, Ibaraki 305-0052, JAPAN

Tel: +81-29-853-8623 / Fax: +81-29-855-2552

E-mail: kajino@mri-jma.go.jp

Cooperated by: National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), National Institute for Environmental Studies (NIES), and Japan Automobile Research Institute (JARI)

[Abstract]

Key Words: Causative agents for oxidative stress, Model development, Instrument development, Toxicity evaluation, Emission inventory, Regional assessment

Whereas PM_{2.5} was defined as mass concentrations, chemical composition and size of aerosols, and thus toxicity, should vary in time and space. In order to assess the essential role of aerosols on health, we focused on oxidative stress (OS), one of the endpoints of adverse effects on health, and oxidative potential (OP) of aerosols. We used dithiothreitol (DTT) assay (Kumagai et al., 2002) to quantify OP. DTT activity was more strongly associated with emergency department visits for asthma/wheezing and congestive heart failure than PM_{2.5} (Bates et al., 2015). The causative agents reported were transition metals such as Cu and Fe and quinones (Charrier and Anastasio, 2012) or hopanes and elemental carbon (Saffari et al., 2014), but OP in Japan are not well understood.

In the study, we studied environmental behaviors and emission sources of aerosol OP and OS in Japan through developments of a new numerical model and a new instrument and applications of numerical simulations and laboratory and field experiments. We conducted totally four intensive field campaign, winter in Tsukuba (January, 2017), summer in Tsukuba (July - August, 2017), winter in Fukuoka (January, 2018), and spring in Fukuoka (May, 2018) in order to capture primary domestic pollutants, secondary domestic pollutants, trans-boundary pollutants, and trans-boundary pollutants together with Asian dust, respectively.

The Full Automated DTT Assay System (FADAS) was developed in the study. It measures simultaneously mass concentration and DTT activity of PM_{2.5} and PM₁₀ with time resolution of 2 hours. It proved diurnal variations of mass concentration of OP were significantly different in Fukuoka and Tsukuba. The importance of coarse mode OP was also inferred. Aerosols are sampled during the intensive campaigns and OP and OS were measured by DTT assay and heme oxygenase 1 (HO-1) assay, respectively, for both water-soluble and fat-soluble constituents. Based on the reagent experiments, the contributions of causative agents for OP and OS were evaluated. Water

soluble Cu was the most important element and then Ni and Fe for OP. There were generally good correlations between OP and OS, but the correlation became low in the presence of Cd and Pb, which show high OS but low OP.

Emission inventory of transition metals in Asia and Japan was developed. We proposed a new health hazard OP_{tm}^* , which is defined as the pile-up OP based on top five key transition metals, namely, Cu, Mn, Fe, V, and Ni. We compared OP_{tm}^* based on the simulated and observed metals and proved its predictability. We showed that the simulated spatiotemporal variations of the new hazard OP_{tm}^* were different from those of the conventional hazard, namely, $PM_{2.5}$. The primarily important sources of OP_{tm}^* were road brake (Cu, Fe) and iron-steel industry (Fe and Mn). The rests were the other industry (Ni, Cu, and Fe), navigation (V, Ni), incineration (Cu, Fe), power (Fe, Cu), road exhaust (Cu), and railway (Fe, Cu, and Mn). The simulated source contributions of the most important element Cu were consistent with those derived by the chemical mass balance (CMB) method using the field observations.