**【5-1651】新規採取法及び細胞・動物曝露実験によるPM_{2.5}の健康影響決定要因の同定
(2016~2018 94,755千円)**

研究代表者 奥田 知明 (慶應義塾大学)

1. 研究実施体制

- (1) 健康影響評価に資するPM_{2.5}新規採取法の開発及びPM_{2.5}成分組成の解明
(慶應義塾大学)
- (2) 細胞・動物曝露実験によるPM_{2.5}の健康影響決定要因の同定 (京都大学)

2. 研究開発目的

微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の有害性は物理化学的特性に依存するため、成分組成の相違に着目した健康影響評価研究の推進は喫緊の課題であり、特に、気管支喘息を代表とする呼吸器系や免疫系に対するPM_{2.5}のリスクに係る信頼性の高い科学的知見の蓄積が求められている。しかし現状では、実環境大気中のPM_{2.5}粒子全体 (PM_{2.5}粒子そのもの) を曝露して健康影響を直接評価できる手法はなく、その一部成分の影響が評価されているに過ぎない。その主な理由は、従来のPM_{2.5}採取法であるフィルター捕集では実環境大気中PM_{2.5}を大量に採取できず、細胞や動物曝露に用いることが困難なためである。また、フィルター捕集した粒子を物理的あるいは化学的手法により回収して曝露実験に用いた場合、フィルターそのものに由来する混入物の影響が避けられず、真にPM_{2.5}の影響評価と見なすには問題が多い。例えば先行研究の結果では、化学的手法による抽出物を曝露実験に用いた場合、フィルター本体の抽出物の影響の存在が示唆されている。さらに、フィルター捕集中に予期せぬアーティファクト、すなわち、ガス状物質の吸着や粒子との化学反応、半揮発性成分の揮散等が起こることも大きな問題である。そこで本研究では、フィルターを用いずにPM_{2.5}の採取を可能とするサイクロンを基幹技術とした新規装置により得られたPM_{2.5}粒子全体を用いて化学分析や曝露実験を行うことで、PM_{2.5}の健康影響を決定する真の要因や化学成分を同定することを目的とする。

3. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

(a) 福岡、埼玉、および横浜において、バーチャルインパクターとサイクロンを組み合わせたPM_{2.5}と粗大粒子の新規大流量同時採取装置を安定的に稼働させることができた。これにより、カット特性確認済みの粉体採取装置による粉体採取拠点を国内3地点に構築することができた。そして、3地点・4季節・2粒径の、それぞれ特徴的な化学組成を有する大気粒子サンプルを粉体として採取することができた。これまでに我が国におけるフィルター法のPM_{2.5}採取地点は無数に存在するが、サイクロンによるPM_{2.5}粉体の採取拠点は他に例がなく、極めて独自性の高い成果であると言える。

(b)サイクロンを用いた新規採取法で採取したサンプルは、超音波処理することにより均一に分散し、かつ、微小粒子、粗大粒子として矛盾しないものであることを世界で初めて示すことができた。

(c)PM_{2.5}の炭素成分分析の公定法である熱分離光学補正法は、一般にフィルター試料を測定することに用いる方法であり、粉体試料を分析する際の規定の方法は決められていなかった。本研究により、フィルターに粉体を塗布する方法と、粉体を再発塵させフィルターに再捕集させる方法には大きな違いがないことが示された。これにより、簡便な手法である塗布法により、サイクロンで採取された粉体中の炭素成分を測定することが可能となった。

(d)サイクロンにより採取されたPM_{2.5}中に含まれる元素状炭素と有機炭素の比は、サイクロン下流のバックアップフィルター中のものと異なる値を示した。また、サイクロン法とフィルター法を並行して行った試験では、塩化物イオンや硝酸イオンについてフィルター法による値が明らかに低くなった。これは、フィルター法では不可避であった有機炭素やガス状硝酸等のアーティファクト、つまりフィルターへのガス状成分の吸着を、サイクロン法により回避できている可能性を示すものである。

(e)フィルターを用いた従来法では、抽出操作後の成分（全体のおよそ7割程度）の曝露影響の評価のみにとどまり、かつ、サンプルの抽出効率の違いによる不確実要因も存在した。一方、本法では、実環境に存在する粒子そのもの（粒子全体）を曝露し、その影響を見ることが初めて可能となった。すなわち、抽出操作なしに、一般環境粒子そのものの曝露影響を簡便に評価することが初めて可能となった。

(f)本法で回収した粒子そのものは、従来法（フィルター）で採取した粒子の抽出物と比較して、多くの評価項目において顕著に強い影響を示した。また、本法で回収した粒子そのものを曝露した場合は、同一の粒子そのものの抽出物を曝露した場合と比較して、多くの評価項目において顕著に強い影響を示した。すなわち、PM_{2.5}等の粒子状物質の健康影響を考える上で、粒子をフィルター採取し抽出物曝露する従来法では、十分な健康影響評価ができていない可能性が示された。

(g)新規採取法で採取したサンプルは、微小粒子、粗大粒子ともに、抗原提示細胞を強く活性化すること、概して、リファレンス粒子より影響が大きいことを世界で初めて明らかにした。また、実大気環境中の粒子全体を曝露することで、影響が明確になる傾向も初めて見出した。

(h)新規採取法で採取した粒子による細胞曝露影響は、粒子の採取地域により明確に異なっていた。具体的には、福岡で採取された粒子の細胞曝露影響は、多くの場合で横浜および埼玉のものとは異なっていた。これは、粒子の曝露影響評価を行う際に、地域差を考慮する必要性を示すものである。

(i)新規採取法では抽出操作が不要であり、曝露実験時のハンドリング性が飛躍的に向上した。これにより、粒子状物質の健康影響評価を短期間で迅速に行うことが可能とな

った。その結果、多くの健康影響データを用いて成分と影響の相関解析を実施することが科学的に可能となり、正確な健康影響決定要因の同定に繋がりうる。

(j) 粒子中の特定の化学成分と細胞曝露影響評価指標が密接に関与し、これらの成分が呼吸器疾患の悪化の規定要因になり得ることが示された。

(k) これまで、大気中粒子が、抗原提示細胞によりどのように認識され、その後の生体・免疫応答が活性化されるのか、十分に解明されていなかった。本検討結果から、生体・免疫応答の活性化には、抗原提示細胞の DEC205 分子が重要であることが示唆されるとともに、認識される粒子成分を新たに示すことができた。

(l) 細胞曝露実験のみならず、動物曝露実験の結果、微小および粗大粒子共に、マウスの肺に炎症を誘導した。このことは、大気粒子が、細胞レベルだけでなく生体レベルでも明確に炎症を誘導することを証明した重要な成果である。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

平成 31 年 3 月の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(第 9 回)において、本研究成果である、大気粒子そのものを直接細胞や動物に曝露可能な手法とその実験結果を提示し、PM_{2.5}に関する近年の科学的知見を示す資料の一つとして活用された。また、環境省請負「平成 30 年度微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 総合対策推進業務」の微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 精度ワーキンググループ (第 1 回)において、精度管理用粉体の作製方法として、本研究成果である、サイクロンによる大気粒子の採取方法が選択肢の一つとして検討された。

<行政が活用することが見込まれる成果>

(a) 本法 (サイクロン法による大気粒子の採取) の有用性が実証され、今後公的機関の認証を受けることができれば、大気観測や健康影響評価の分野で新たな市場が発生する。現在我が国における浮遊粒子状物質濃度の公的観測地点は全国で 1500 箇所を超えており、研究機関による需要も考慮すると、将来的には数千箇所規模の市場発生が見込まれる。また本法は世界的にも新規性・独自性が高いことから、国際標準や認証取得を視野に入れることで、国内のみならず国外にも市場が広がり、特に大気汚染の激しい地域では需要が高まることが予想される。これらの総合的な環境産業の創出と発展により、国内外における PM_{2.5} の採取・分析・健康影響評価が進むことにより PM_{2.5} の健康影響決定要因が個々の化合物レベルまで解明されれば、我が国のみならず世界的な PM_{2.5} 対策の有効性と効率性の向上に多大な貢献をすることができる。

(b) PM_{2.5} 粒子を大量に粉体として採取できる本法は、成分分析の精度管理のための PM_{2.5} 標準粒子の作製法としての応用が今後期待できる。現在、一般に入手可能なエアロゾルの標準粒子としては、NIST の SRM1649b や国環研の CRM#28 等がある。しかし、前者は

米国の、後者は中国北京市のエアロゾル粒子であり、国内で採取されたエアロゾルの標準粒子が存在しておらず、国内の特にPM_{2.5}の標準粒子の潜在的な需要は高い。

(c)粒子の一部ではなく、粒子全体を用いた曝露・影響評価が可能となったこと、抽出操作等が不要になりハンドリング性が向上したことは、粒子状物質の健康影響評価を正確かつ効率的に行うために、非常に重要な成果であると考えられる。

(d)本研究における粒子状物質の呼吸器へ曝露影響評価の範囲では、PM_{2.5}と粗大粒子ではそれぞれ細胞曝露実験の結果が異なる場合が多く、PM_{2.5}よりも粗大粒子の方がより影響が強い場合も散見された。このことは、粒子状物質の健康影響を考える上ではPM_{2.5}のみならず粗大側の粒子にも着目する必要性を示すものであり、今後の環境政策の方向性を検討する際の示唆が得られた。

(e)PM_{2.5}に代表される浮遊粒子状物質の健康影響評価を進める上では、従来法であるフィルター法を用いている限り、十分な量の試料確保と採取中のアーティファクトが大きな障壁であったが、本研究で用いるサイクロン方式の新規採取装置により、従来法と比較して約数十倍の試料量確保が可能となったことで、細胞曝露実験がより効率的に行えるようになり、さらに従来検出が困難であった微量化学成分を分析することも容易になることが期待できる。

(f)粒子中の特定の化学成分と細胞曝露影響評価指標が密接に関与し、これらの成分が呼吸器疾患の悪化の規定要因になり得ることが示されたことで、成分組成の相違に着目した我が国におけるPM_{2.5}の呼吸器系等へのリスクに係る研究が推進され、将来的なPM_{2.5}対策に反映されることが期待できる。

4. 委員の指摘及び提言概要

バーチャルインパクトとサイクロンを組み合わせて大気環境中のPM_{2.5}を大量に直接採取し、化学分析や曝露実験に用いている。非意図的に生成されるPAHsが今後に管理すべき重要な物質であり、石炭不完全燃焼に由来する大陸越境移動を明確にした成果は、今後の環境政策に役立つ。また、フィルターを使用しない大量捕集を開発しても、健康影響を生じる化学成分を決定することは容易でないことも明らかになった。

細胞・動物曝露実験については興味深いデータが得られているが、採取試料、実験の条件等はまだ限定的であり、今後を期待したい。なお、サブテーマ2の研究の方法の記載が不十分で、かつ図の作成が粗雑で不明瞭、図に関して文書による記載がないなど、問題が散見される。

5. 評点

総合評点：A