

# 酸化触媒式 DPF を装着したディーゼル自動車排出ガスの成分分析

－実験に用いたディーゼルエンジンとの比較－

## 研究要旨

ディーゼル自動車2台の走行時排出ガス及び粒子状物質減少装置(DPF)を装着したディーゼルエンジンの排出ガスを採取し、揮発性有機化合物(VOC)、有機酸類、アルデヒド類、 $C_{17}\sim C_{20}$  アルカン及び多環芳香族炭化水素(PAH)、合計 105 物質を分析した。VOC、有機酸及びアルデヒド類のうち最も濃度が高かった物質は、自動車、ディーゼルエンジンともに酢酸及びギ酸であった。検出物質の濃度合計値は、自動車が  $15.5\text{mg}/\text{m}^3$  及び  $3.1\text{mg}/\text{m}^3$  であり、ディーゼルエンジンでは  $12.4\text{mg}/\text{m}^3$  と、2 台の自動車の中間の値であった。物質群別にみると、有機酸類が最も濃度が高く、検出物質の濃度合計値に占める有機酸類の割合は、自動車が 65% 及び 63%、ディーゼルエンジンが 64% と、類似の傾向を示した。また、 $C_{17}\sim C_{20}$  アルカン濃度の合計値では、自動車が  $41.7\mu\text{g}/\text{m}^3$  及び  $31.0\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ディーゼルエンジンが  $28.2\mu\text{g}/\text{m}^3$  と大きな差は無く、PAH 濃度についても、自動車、ディーゼルエンジンともに濃度合計値が  $1\mu\text{g}/\text{m}^3$  前後であった。したがって、ディーゼル自動車と当センターにおける DPF 装着ディーゼルエンジンの排出ガスは、その成分に大きな違いは無いと考えられた。

## I 研究目的

当センターでは、ディーゼル排出ガスのぜんそくへの影響を調査するために、小型のディーゼルエンジンを用いて、ラットのばく露実験を行っている。しかし、このディーゼルエンジンは、道路を走行している自動車のエンジンと比較すると排気量が約 1/10 と小さい。そこで、実際に都内を走行しているディーゼル自動車について走行時の排出ガスを採取し、揮発性有機化合物(VOC)、有機酸類、アルデヒド類、 $C_{17}\sim C_{20}$  アルカン及び多環芳香族炭化水素(PAH)、合計 105 物質を分析し、小型ディーゼルエンジンの排出ガスとの成分比較を行った。

## II 研究方法

### 1 ディーゼル車走行時の排出ガス採取

ディーゼル車走行時の排出ガス採取は、2009 年 7 月～8 月に財団法人東京都環境整備公社 東京都環境科学研究所において、大型シャシダイナモメータ(図1)を使って行った。実験に使用したディーゼル自動車 A 及び B の初年度登録は、A:平成 19 年 10 月、B:平成 20 年度 7 月であり、製造元は

異なっていた。いずれも最大積載量 2t、総排気量約 3L のトラックで、燃料室形式は直接噴射式、酸化触媒式の DPF を装着し、平成 17 年度新長期規制適合車であった。排出ガス採取時の走行条件は、最大積載量の 1/2 の貨物を積み 40km/h の定速であった。走行時の排出ガスは空気により約 60 倍(自動車 A:59 倍、自動車 B:64 倍)に希釈されており、20 分間の暖気運転後から採取を開始した。排出ガスと同時に希釈用空気についても採取を行った。なお、排出ガス採取中に DPF の自動再生は無かった。

### 2 DPF 装着ディーゼルエンジンの排出ガス採取

DPF 装着ディーゼルエンジンの排出ガスは、2008 年 5 月に当センターのばく露チャンバーにおいて行った。装置の概要を図2に示す。エンジンの型式は、NFAD-50-EX(ヤンマー製)、直接噴射式で排気量は 309cc であった。エンジンに装着した DPF は 5,000cc まで対応可能な酸化触媒式で、型式は ODP-SO6 型(オーデン製)、八都県市指定番号 056-D であった。エンジンは発電機により負荷をかけて 2,600rpm で運転し、DPF を通した排出

ガスは、空気により 17 倍に希釈され、ばく露チャンバー(容積 1.6m<sup>3</sup>)に導入されていた。排出ガスの採取は、ばく露チャンバーの採気口から行い、エンジンの運転開始 30 分後から実施した。排出ガスと同時に、希釈空気についても採取を行った。なお、運転に使用した燃料は、JIS2号相当軽油(ENEOS 軽油、新日本石油製)で、硫黄分は 4ppm と超低硫黄軽油に分類される製品であった。また、エンジンオイル(GTX10W30 SL/CF、BP ジャパン製)は、通常のディーゼル自動車に使用されるグレードの製品であった。

### 3 排出ガスの測定方法

排出ガス測定は捕集管別に VOC、硫酸ジメチル及び硫酸ジエチル、アルデヒド類、有機酸類、C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカン及び PAH の各物質群について、以下の方法で実施し、排出ガス中濃度、希釈空気中濃度及び希釈倍率を用いて、希釈前の濃度を算出した。

なお、ディーゼル自動車及び DPF 装着ディーゼルエンジンの排出ガスは、自動計測器により、窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)及び粉塵濃度がモニターされていた。また、二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)濃度については、ディーゼル自動車排出ガスでは自動計測され、ディーゼルエンジン排出ガスでは、検知管(ガステック製)を用いて測定した。

#### 3-1 VOC 測定

捕集管に Carbotrap317(Carbopack-C/Carbopack-B/Carboxen 1000、スペルコ製)を用い、500mL/分の流速で 20 分間の排出ガス採取を行った(n=2、採取量:10L)。採取後の捕集管は、内部標準として 50ppm トルエン-d<sub>8</sub>/メタノール溶液を 1 μL 添加し、加熱脱着装置(ATD-400、パーキンエルマー製)によりガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)(GC17A/GC5000、島津製作所製)に導入して分析した。分析条件を表1に示す。測定対象は炭素数 C<sub>2</sub>~C<sub>16</sub>の化合物、52 物質とし、標準物質を用いて定量した。

#### 3-2 硫酸ジメチル及び硫酸ジエチル測定

捕集管に Tenax TA(ガラス管、GL サイエンス製)を用い、500mL/分の流速で 20 分間の排出ガス採取を行った(n=2、採取量:10L)。採取後の捕集管は、内部標準として 50ppm トルエン-d<sub>8</sub>/アセトン溶液を 1 μL 添加し、加熱脱着装置(ATD-400、パーキンエルマー製)により GC/MS(GC17A/ GC5000、島津製作所製)に導入し分析した。分析条件を表2に示す。測定対象は硫酸ジメチル及び硫酸ジエチルとし、標準物質を用いて定量した。

#### 3-3 アルデヒド類測定

捕集管に Sep-Pack DNPH XPoSure(日本ウォーターズ製)を用い、1L/分の流速で、20 分間の排出ガス採取を行った(n=2、採取量:20L)。なお、捕集管の前段にはオゾンスクラバー(日本ウォーターズ製)を装着した。採取後の捕集管はアセトニトリル 5ml で溶出し、試験管の目盛りで 5ml にメスアップして分析用試料とした。分析には高速液体クロマトグラフ(HPLC)(LC10、島津製作所製)を用いた。分析条件を表3に示す。測定対象はホルムアルデヒド~デカナールまでの 12 物質とし、標準物質を用いて定量した。

#### 3-4 有機酸類測定

捕集管にはリン酸処理した ORBO601 XAD 8(スペルコ製)を 2 本連結して用い、500mL/分の流速で、20 分間の排出ガス採取を行った(n=2、採取量:10L)。採取後は先端のウール及び捕集剤を試験管に移し、アセトニトリル 1ml を加えて超音波抽出し、内部標準として o-ジクロロベンゼン-d<sub>4</sub> を 50ng 添加して、GC/MS(GCMS-QP2010、島津製作所)の分析用試料とした。分析条件を表4に示す。測定対象はギ酸~ヘキサデカン酸及び安息香酸の 17 物質とし、標準物質を用いて定量した。

#### 3-5 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカン及び PAH 測定

捕集剤には直径 47mm の石英フィルター(2500QAT-UP、東京ダイレック製)及びオクタデシルシリカゲル(ODS)フィルター(Empore Disk C<sub>18</sub> Fast Flow、3M 製)を用いた。石英フィルターは粒子状物質採取用、ODS フィルターはガス状物質採

取用とした。各フィルターはブランク低減のため、石英フィルターは 400°C、3時間の加熱処理、ODS フィルターはアセトンによる浸漬洗浄を行った。また、排出ガス採取中の NO<sub>x</sub> 及び SO<sub>x</sub>等による PAH の酸化分解を防ぐため、酸化防止剤としてアスコルビン酸を各フィルター1枚あたり 500 μg 添加した。排出ガス採取は、石英フィルター1枚と ODS フィルター2枚を重ねてろ紙ホルダー(EMO-47、GLサイエンス製)にセットし(1段目:石英、2、3段目:ODS)、25L/分の流速で100分間空気を採取した(n=2、採取量:2500L)。採取後のフィルターは、石英フィルターと ODS フィルターを別の試験管に入れ、それぞれにアセトン 10ml を加えて10分間の超音波抽出を行い、遠心分離した(2500rpm、10分)。次に上清 5ml を濃縮管に取り、内部標準としてフルオランテン-d<sub>10</sub> を 50ng 添加して、窒素気流下で 10 倍濃縮し、GC/MS(GCMS-QP2010、島津製作所)の分析用試料とした。分析条件を表5に示す。測定対象は C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> の脂肪族炭化水素 4 物質及び 3 環~6 環の PAH18 物質とし、標準物質を用いて定量した。なお、GC/MS の検出モードについては、PAH は SIM モード、脂肪族炭化水素は SCAN モードで分析した。

### Ⅲ 結果

#### 1 二酸化炭素、窒素酸化物及び粉塵の濃度

ディーゼル自動車 A 及び B (以下、自動車 A、B) の排出ガス中 CO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub> 及び粉塵濃度は、CO<sub>2</sub> A:10.7%、B:10.3%、NO<sub>x</sub> A:147ppm、B:117ppm、粉塵 A:0.36mg/m<sup>3</sup>、B:0.30 mg/m<sup>3</sup>未満であった。また、DPF 装着ディーゼルエンジン(以下、エンジン)の排出ガスでは、CO<sub>2</sub> 5.3%、NO<sub>x</sub> 387ppm、粉塵 0.47mg/m<sup>3</sup>であった。

#### 2 VOC、アルデヒド類及び有機酸類の濃度

表6に VOC、アルデヒド類及び有機酸類の分析結果を示す。測定の結果、自動車 A では、酢酸(4,700 μg/m<sup>3</sup>)、ギ酸(4,300 μg/m<sup>3</sup>)及びアセトン(3,000 μg/m<sup>3</sup>)の濃度が高かった。自動車 B では、

酢酸(1,310 μg/m<sup>3</sup>)、ギ酸(630 μg/m<sup>3</sup>)及びアセトアルデヒド(600 μg/m<sup>3</sup>)の濃度が高かった。検出された物質の濃度合計値を比較すると、自動車 A:15.5mg/m<sup>3</sup>、自動車 B:3.1mg/m<sup>3</sup>であり、両者には約5倍の差があった。一方、エンジンにおける高濃度物質は、酢酸(3,800 μg/m<sup>3</sup>)、ギ酸(3,200 μg/m<sup>3</sup>)及びアセトン(420 μg/m<sup>3</sup>)で、検出物質の傾向が自動車に類似しており、濃度合計値は 12.4 mg/m<sup>3</sup>と、2 台のディーゼル自動車の中間の値であった。

次に検出された物質を構造別に、脂肪族、芳香族、ハロゲン類、エステル類、ケトン類、アルコール類、有機酸類及びアルデヒド類の8つに分類し、比較した結果を図3に示す。なお、検出下限値未満の物質については濃度を「0」として計算した。自動車 A について全体に占める割合の高かった物質群は、有機酸類(65%)、ケトン類(21%)であり、自動車 B では、有機酸類(63%)、アルデヒド類(25%)が高かった。一方、エンジンにおいては、有機酸類(64%)、脂肪族(17%)が高く、自動車及びエンジンに共通して、有機酸類が 60%以上を占めていた。

なお、自動車の排出ガスから検出された物質については、排出ガス採取時の走行条件より、排出原単位に換算した値を付表1に示す。

#### 3 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub>アルカン濃度

表7に炭素数 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> の脂肪族炭化水素の分析結果を示す。測定の結果、4 物質の合計値は、自動車 A:41.7 μg/m<sup>3</sup>、自動車 B:31.0 μg/m<sup>3</sup>、エンジン:28.2 μg/m<sup>3</sup>であり、濃度合計値は、30~40 μg/m<sup>3</sup>の範囲であった。

なお、自動車の排出ガスから検出された物質については、排出ガス採取時の走行条件より、排出原単位に換算した値を付表2に示す。

#### 4 PAH 濃度

表8に PAH の分析結果を示す。自動車 A で最も濃度が高かったのは、フェナンスレン(3環):390ng/m<sup>3</sup>であり、自動車 B ではフルオレン(3環):390ng/m<sup>3</sup>の濃度が高かった。一方、エンジンにお

いては、フェナンスレン(290ng/m<sup>3</sup>)及びフルオレン(280ng/m<sup>3</sup>)が高濃度であった。

次に検出された物質を構造別に3環、4環、5環、6環及び含酸素の5つに分類し、比較した結果を図4に示す。測定対象とした3環～6環の化合物のうち、自動車及びエンジンの排出ガスから検出されたのは、いずれも3環及び4環のPAHで、5環及び6環の物質は検出されなかった。また、検出されたPAHの濃度合計値では、自動車A:0.97 μg/m<sup>3</sup>、自動車B:1.1 μg/m<sup>3</sup>、エンジン:1.3 μg/m<sup>3</sup>であり、自動車及びエンジンともに 1 μg/m<sup>3</sup> 前後であった。

なお、自動車の排出ガスから検出された物質については、排出ガス採取時の走行条件より、排出原単位に換算した値を付表3に示す。

#### IV 考察

今回測定したディーゼル自動車(排気量 3L)とディーゼルエンジン(排気量 309cc)とでは、排気量が約 10 倍異なっていたが、燃料軽油、エンジンオイルに類似した製品を用い、酸化触媒式DPFを装着して定速運転した場合は、その排出ガス成分に大きな違いが無いことが明らかとなった。

また、測定の結果、自動車及びエンジンともに、検出された物質の濃度合計に占める割合が最も大きかったのは有機酸類であった。これは、DPFに組込まれた酸化触媒の作用により、排出ガス中の有機物の酸化が進んだ結果と考えられた。

次に、CO<sub>2</sub>、NO<sub>x</sub> 及び粉塵濃度について、自動車とエンジンの濃度を比較すると、CO<sub>2</sub>濃度は自動車の方が約2倍高く(自動車:10.3%~10.7%、エンジン:5.3%)、NO<sub>x</sub>濃度はエンジンの方が約3倍高かった(自動車:117ppm~147ppm、エンジン:387ppm)。この原因としては、近年のディーゼル自動車では、燃焼によるNO<sub>x</sub>の生成を抑制するため、排出ガスの一部を再度エンジンに戻して、軽油燃焼時の酸素濃度を下げる「排気ガス再循環システム」を採用していることが主な要因と考えられた。

近年、都内の大気汚染物質濃度の経年変化については、粉塵濃度、非メタン炭化水素及びNO<sub>x</sub>濃度は減少しているが、オキシダント濃度については増加傾向が見られることが報告されている<sup>1,2)</sup>。DPFの装着により自動車排出ガス中の濃度が増加する有機酸は、大気中でヒドロキシラジカルと反応してアルキルペルオキシラジカルを、光分解によりアルコキシラジカルを生成し、これらは大気中で更に反応して光化学オキシダントを生成する<sup>3)</sup>。オキシダントの生成機構については、VOCとNO<sub>x</sub>との反応がよく知られているが<sup>3)</sup>、有機酸からのラジカル生成には窒素酸化物が関与しないことから、近年のオキシダント濃度の増加に関して、有機酸を介した反応経路が寄与している可能性も推察された。

また、粒子状物質としては、近年、大気中に放出された気体の反応により生成する二次粒子が注目されており、大気中微小粒子の有機成分を分析した報告では、粒子中からシユウ酸やヘキサデカン酸などの有機酸が検出されている<sup>4,5)</sup>。したがって、ディーゼル自動車から排出された有機酸が、大気中でアンモニア等と反応し、二次粒子の生成に寄与している可能性も示唆された。

#### V 文献

- 1) 東京都環境局:東京の環境 2009、p41-42、2009年7月
- 2) 東京都環境局:光化学オキシダント対策検討会報告書、平成17年2月
- 3) 環境省、三菱化学安全科学研究所:平成13年度炭化水素類に係る科学的基礎情報調査、平成14年3月
- 4) 鈴木行夫、野口彰子、渡邊孝文、森田知博:大気粉じん中の二次粒子成分、神戸市環境保健研究所報、34、p50-54、2006
- 5) 吉野彩子、横田久司、上野広行、木下輝昭、岡村 整:大気および自動車排出ガス中粒子状物質における有機成分の分析、東京都環境科学

研究所年報、p133-136、2009

表1 VOC分析用ATD-400及びGC/MS条件

---

ATD-400 分析条件	
オープン温度	:350℃
脱着時間	:10min
脱着流量	:50ml/min
2次トラップ	:Carbopack-B + Carboxen 1000
2次トラップ温度	:30℃
2次脱着温度	:350℃
2次脱着時間	:5min
2次スプリット比	:1:10
トランスファライン	:200℃
バルブ温度	:200℃
GC/MS 分析条件	
カラム	:DB-1(30m×0.25mm i.d., 1 μm)
カラム温度	:40℃(3min)-12℃/min-220℃(2min)-20℃/min-300℃(1min)
キャリアーガス	:He(カラムヘッド圧 50kPa)
インターフェース温度	:250℃
検出モード	:SCAN(m/z 40-400)

---

表2 硫酸ジメチル、硫酸ジエチル分析用ATD-400及びGC/MS条件

---

ATD-400 分析条件	
オープン温度	:230℃
脱着時間	:5min
脱着流量	:50ml/min
2次トラップ	:Tenax TA
2次トラップ温度	:10℃
2次脱着温度	:230℃
2次脱着時間	:3min
2次スプリット比	:1:10
トランスファライン	:200℃
バルブ温度	:200℃
GC/MS 分析条件	
カラム	:DB-1(30m×0.25mm i.d., 1 μm)
カラム温度	:40℃(3min)-12℃/min-220℃(2min)
キャリアーガス	:He(カラムヘッド圧 50kPa)
インターフェース温度	:250℃
検出モード	:SIM 硫酸ジメチル 定量用イオン m/z95、確認用イオン m/z66 硫酸ジエチル 定量用イオン m/z139、確認用イオン m/z125

---

表3 アルデヒド分析用 HPLC 条件

カラム	:ZORBAX Bonus RP 4.6mm i.d.×250mm		
流速	:1.0ml/min		
カラム温度	:40℃		
注入量	:10 μ l		
検出波長	:360nm		
移動相A	:0.1%テトラヒドロフラン含有 50%アセトニトリル/水		
移動相B	:0.1%テトラヒドロフラン含有 80%アセトニトリル/水		
グラジエント条件			
	Time(min)	A(%)	B(%)
	0	70	30
	14	70	30
	17	0	100
	26	0	100
	27	70	30
	35	70	30

表4 有機酸類分析用 GC/MS 条件

カラム	:DB-FFAP(30m×0.25mm i.d.、0.25 μ m)		
カラム温度	:60℃(2min)-10℃/min-120℃-20℃/min-250℃(6min)		
キャリアーガス	:He(カラムヘッド圧 70kPa)		
インターフェース温度	:250℃		
イオン源温度	:260℃		
検出モード	:SIM		
物質名	定量用イオン	確認用イオン	
ギ酸	46	45	
酢酸	60	45	
プロピオン酸	74	72	
ブタン酸	60	73	
ペンタン酸	60	73	
ヘキサン酸	60	73	
ヘプタン酸	60	73	
オクタン酸	60	73	
ノナン酸	60	73	
デカン酸	73	129	
ウンデカン酸	73	129	
ドデカン酸	73	129	
安息香酸	105	122	
トリデカン酸	73	129	
テトラデカン酸	60	73	
ペンタデカン酸	73	129	
ヘキサデカン酸	73	129	
o-ジクロロベンゼン-d <sub>4</sub>	150	-	

表5 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub>アルカン及び PAH 分析用 GC/MS 条件

カラム	:DB-1(30m×0.25mm i.d.、1 μm)	
カラム温度	:90°C(2min)-15°C/min-300°C(12min)	
キャリアーガス	:He(カラムヘッド圧 70kPa)	
インターフェース温度	:250°C	
イオン源温度	:260°C	
検出モード	: SCAN(C <sub>17</sub> ~C <sub>20</sub> アルカン分析) あるいは SIM(PAH 分析)	
物質名	定量用イオン	確認用イオン
アセナフチレン	152	153
アセナフテン	154	155
フルオレン	166	167
フェナンスレン	178	179
アントラセン	178	179
フルオランテン	202	203
ピレン	202	203
ベンゾ(a)アントラセン	228	229
クリセン	228	229
ベンゾ(b)フルオランテン	252	253
ベンゾ(k)フルオランテン	252	253
ベンゾ(a)ピレン	252	253
ジベンゾ(ah)アントラセン	278	279
インデノ[123-cd]ピレン	276	277
ベンゾ(ghi)ペリレン	276	277
アントラキノ	180	208
フェナントラキノ	180	208
1,8-ナフタル酸無水物	198	154
フルオランテン d <sub>10</sub>	212	—



表6-1 ディーゼル自動車及びディーゼルエンジン排出ガスの VOC、アルデヒド類等分析結果  
 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

	物質名	自動車 A	自動車 B	ディーゼルエンジン	
脂肪族 炭化水素	ヘキサン	<30	<30	400	
	ヘプタン	<30	<30	29	
	オクタン	37	<30	16	
	ノナン	130	<30	49	
	デカン	89	<30	41	
	ウンデカン	<30	<30	18	
	ドデカン	<30	<30	30	
	トリデカン	<30	<30	22	
	テトラデカン	<30	<30	15	
	ペンタデカン	<30	<30	12	
	ヘキサデカン	<30	<30	10	
	2,4-ジメチルペンタン	<30	<30	15	
	2,2,4-トリメチルペンタン	<30	<30	<10	
	シクロヘキサン	76	60	270	
	メチルシクロヘキサン	30	<30	350	
	ヘキセン	<30	35	310	
	ヘプテン	<30	<30	350	
	オクテン	<30	<30	110	
	芳香族 炭化水素	ベンゼン	33	<30	84
		トルエン	61	34	240
キシレン		<30	45	30	
エチルベンゼン		<30	<30	26	
スチレン		<30	<30	<10	
エチルトルエン		<30	50	11	
1,3,5-トリメチルベンゼン		<30	<30	<10	
1,2,4-トリメチルベンゼン		<30	58	10	
1,2,3-トリメチルベンゼン		<30	<30	<10	
1,2,4,5-テトラメチルベンゼン		<30	<30	<10	
p-シメン		<30	<30	<10	
4-エチル-1,2-ジメチルベン		<30	<30	<10	
ナフタレン		<30	<30	29	
ハロゲン類		ジクロロメタン	<30	<30	120
	クロロホルム	<30	<30	26	
	1,2-ジクロロエタン	<30	<30	10	
	1,1,1-トリクロロエタン	<30	<30	10	
	四塩化炭素	<30	<30	<10	
	1,2-ジクロロプロパン	<30	<30	<10	
	ブロモジクロロメタン	<30	<30	16	
	トリクロロエチレン	<30	<30	41	
	ジブromokロメタン	<30	<30	11	
	テトラクロロエチレン	<30	<30	26	
	p-ジクロロベンゼン	<30	<30	24	

表6-2 ディーゼル自動車及びディーゼルエンジン排出ガスの VOC、アルデヒド類等分析結果  
 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

	物質名	自動車 A	自動車 B	ディーゼルエンジン	
エステル類	酢酸エチル	<30	<30	200	
	酢酸ブチル	<30	<30	14	
	硫酸ジエチル	<30	<30	<10	
	硫酸ジメチル	<30	<30	<10	
ケトン類	2-ブタンオン	260	<30	81	
	アセトン	3,000	96	420	
	4-メチル 2-ヘキサンオン	<30	<30	<10	
アルコール類	エタノール	<30	<30	260	
	2-プロパノール	<30	<30	110	
	1-プロパノール	<30	<30	48	
	ブタノール	<30	<30	60	
	2-エチル-1-ヘキサノール	<30	<30	64	
有機酸類	ギ酸	4,300	630	3,200	
	酢酸	4,700	1,310	3,800	
	プロピオン酸	820	<60	330	
	ブタン酸	110	<60	310	
	ヘキサン酸	<60	<60	220	
	ヘキサン酸	67	<60	130	
	ヘプタン酸	91	<60	<20	
	オクタン酸	<60	<60	<20	
	ノナン酸	<60	<60	<20	
	デカン酸	<60	<60	<20	
	ウンデカン酸	<60	<60	<20	
	ドデカン酸	<60	<60	<20	
	安息香酸	<60	<60	<20	
	トリデカン酸	<60	<60	<20	
	テトラデカン酸	<60	<60	<20	
	ペンタデカン酸	<60	<60	<20	
	ヘキサデカン酸	<60	<60	<20	
アルデヒド類	ホルムアルデヒド	560	160	280	
	アセトアルデヒド	1,100	600	110	
	プロピオンアルデヒド	<30	<30	28	
	クロトンアルデヒド	<30	<30	<10	
	ブチルアルデヒド	<30	<30	<10	
	ベンズアルデヒド	<30	<30	<10	
	バルニルアルデヒド	<30	<30	<10	
	ヘキサアルデヒド	<30	<30	<10	
	ノナール	<30	<30	<10	
	デカール	<30	<30	<10	
	アクロレイン	<30	<30	<10	
	メタクロレイン	<30	<30	<10	
	濃度合計値*		15,500	3,100	12,400

\*：検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表7 ディーゼル自動車及びディーゼルエンジン排出ガスの C<sub>17</sub>～C<sub>20</sub> アルカン分析結果  
μg/m<sup>3</sup>

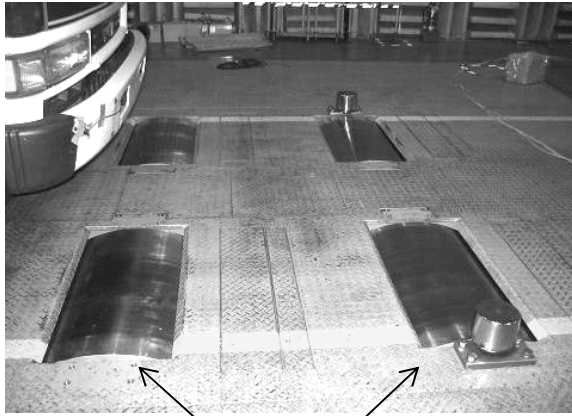
	物質名	自動車 A	自動車 B	ディーゼルエンジン
C <sub>17</sub> ～C <sub>20</sub> アルカン	ヘプタデカン	7.1	12.3	5.4
	オクタデカン	12.1	10.5	8.8
	ノナデカン	14.2	6.0	9.6
	エイコサン	8.3	2.2	4.4
	濃度合計値*	41.7	31.0	28.2

\*：検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表8 ディーゼル自動車及びディーゼルエンジン排出ガスの PAH 分析結果  
ng/m<sup>3</sup>

	物質名	自動車 A	自動車 B	ディーゼルエンジン
多環芳香族	アセナフレン	30	<30	35
	炭化水素	アセナフテン	65	61
3 環	フルオレン	190	390	280
	フェナンスレン	390	360	290
	アントラセン	38	160	<10
	フルオランテン	43	34	117
	ピレン	77	62	53
4 環	ベンゾ <sup>a</sup> アントラセン	<30	<30	<10
	クリセン	<30	<30	53
	ベンゾ <sup>b</sup> フルオランテン	<30	<30	<10
5 環	ベンゾ <sup>k</sup> フルオランテン	<30	<30	<10
	ベンゾ <sup>a</sup> ピレン	<60	<60	<20
	ジベンゾ <sup>ah</sup> アントラセン	<60	<60	<20
	インデノ(123-cd)ピレン	<60	<60	<20
6 環	ベンゾ <sup>ghi</sup> ペリレン	<300	<300	<100
	アントラキノ	<60	<60	260
含酸素	フェンアントラキノ	<300	<300	<100
	1,8-ナフタル酸無水物	140	<30	25
	濃度合計値*	970	1,070	1,330

\*：検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。



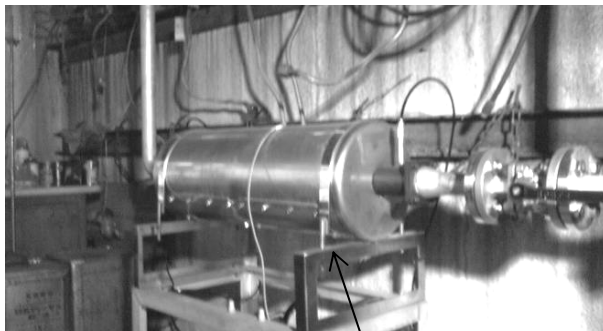
回転ローラー



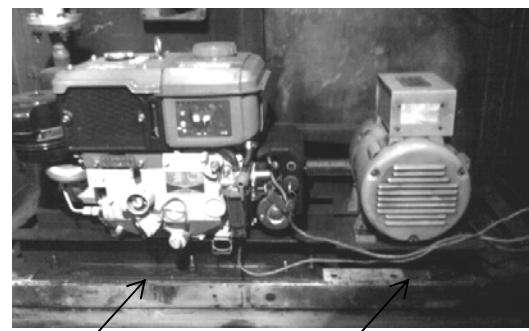
回転ローラー

排出ガス誘導パイプ

図1 大型シャシダイナモメータの概要



DPF



ディーゼルエンジン

発電機

図2 DPF 装着ディーゼルエンジンの概要

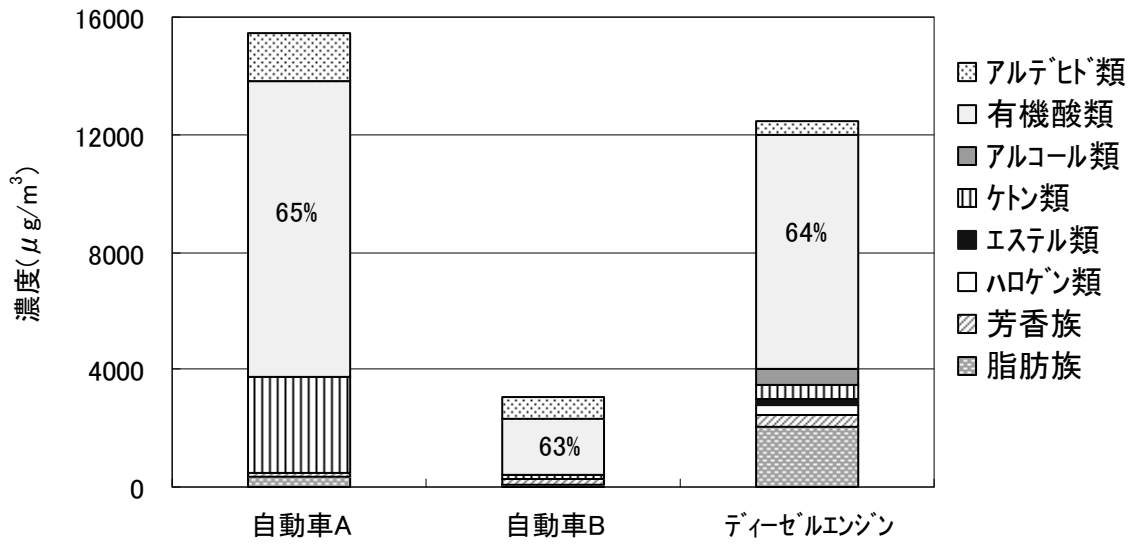


図3 ディーゼル自動車及びディーゼルエンジン排出ガスの VOC、アルデヒド類等濃度比較

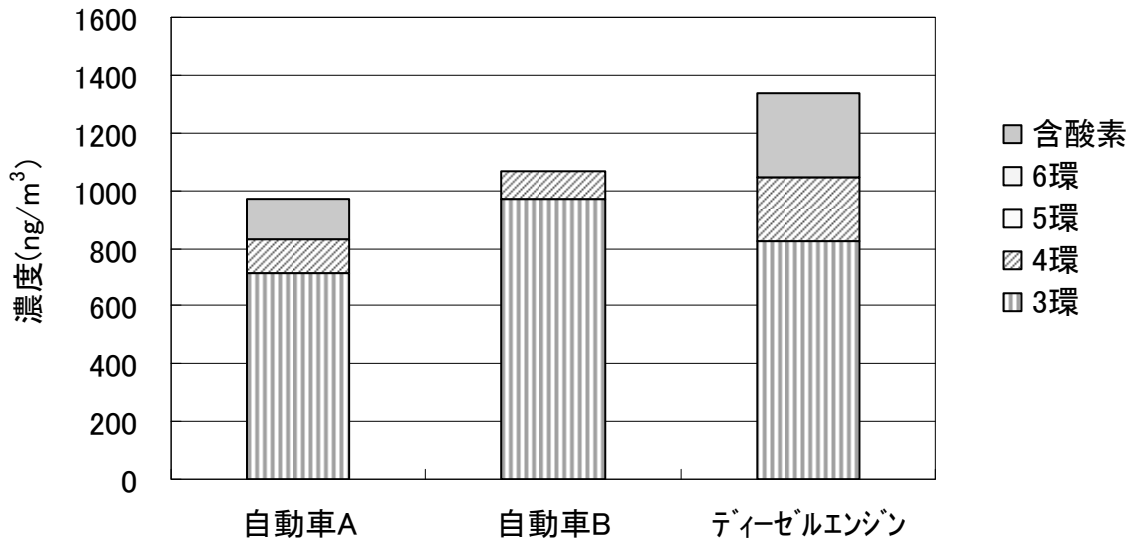


図4 ディーゼル自動車及びディーゼルエンジン排出ガスの PAH 濃度比較

付表1. ディーゼル自動車における VOC、アルデヒド類等排出原単位			mg/km
	物質名	自動車 A	自動車 B
脂肪族 炭化水素	オクタン	0.28	n.d.
	ノナン	0.96	n.d.
	デカン	0.66	n.d.
	シクロヘキサン	0.56	0.44
	メチルシクロヘキサン	0.22	n.d.
	ヘキセン	n.d.	0.26
芳香族 炭化水素	ベンゼン	0.25	n.d.
	トルエン	0.45	0.25
	キシレン	n.d.	0.34
	エチルトルエン	n.d.	0.37
	1,2,4-トリメチルベンゼン	n.d.	0.43
酸類	ギ酸	31.92	4.65
	酢酸	34.89	9.72
	プロピオン酸	6.09	n.d.
	ブタン酸	0.82	n.d.
	ヘキサン酸	0.49	n.d.
	ヘプタン酸	0.67	n.d.
アルデヒド類	ホルムアルデヒド	4.16	1.20
	アセトアルデヒド	8.16	4.42
ケトン類	2-ブタノン	1.93	n.d.
	アセトン	22.27	0.71

付表2. ディーゼル自動車における C <sub>17</sub> ～C <sub>20</sub> アルカン排出原単位			mg/km
	物質名	自動車 A	自動車 B
C <sub>17</sub> ～C <sub>20</sub> アルカン	ヘプタデカン	0.05	0.09
	オクタデカン	0.09	0.08
	ノナデカン	0.11	0.04
	エイコサン	0.06	0.02

付表3. ディーゼル自動車における PAH 排出原単位			μg/km
	物質名	自動車 A	自動車 B
多環芳香族 炭化水素	アセナフチレン	0.22	n.d.
	アセナフテン	0.48	0.45
	フルオレン	1.41	2.87
	フェナンスレン	2.89	2.65
	アントラセン	0.28	1.20
	フルオランテン	0.32	0.25
	ピレン	0.57	0.45
	1,8-ナフタル酸無水物	1.04	n.d.

等価慣性重量 自動車 A:4550kg(1/2 積)、自動車 B:4050kg(1/2 積)

# 健常ラットを用いた DPF 装着・非装着における ディーゼル排出ガス 90 日間ばく露実験 —ディーゼル排出ガスの成分分析—

## 研究要旨

ディーゼル排出ガスばく露チャンバーにおいて、ラットのばく露濃度を確認するため、90 日間ばく露実験の前後にチャンバー内ガスを採取し、揮発性有機化合物(VOC)、アルデヒド類、有機酸類、 $C_{17}\sim C_{20}$  アルカン及び多環芳香族炭化水素(PAH)、合計 105 物質を測定した。測定は粒子状物質減少装置 (DPF) 装着時及び非装着時に行い、DPF の有無による比較を行った。チャンバー内の二酸化炭素濃度より、排出ガスの希釈率を求めたところ、DPF 装着・非装着で同一であった(高濃度群:19 倍、低濃度群:63 倍)。測定の結果、DPF 装着時に濃度の高かった物質は酢酸、ギ酸で、非装着時にはホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの濃度が高かった。また、ばく露実験前後の平均値を用いて、検出されたガス状物質の濃度合計を比較すると、DPF 装着時(高濃度群:1.8 mg/m<sup>3</sup>)は、非装着時(高濃度群:2.2 mg/m<sup>3</sup>)に比べて約 20%の濃度低下がみられた。PAH では、DPF 装着時には非装着時に比べて 3 環及び4環の物質濃度が減少し、検出された PAH 濃度合計を比較すると、DPF 装着時(高濃度群:231 ng/m<sup>3</sup>)には、非装着時(高濃度群:479 ng/m<sup>3</sup>)の 1/2 以下であった。

## I 研究目的

健常ラットを用いた 90 日間ばく露実験におけるディーゼル排出ガスの濃度を確認するため、当センターのばく露チャンバーにおいて、揮発性有機化合物(VOC)、アルデヒド類、有機酸類、 $C_{17}\sim C_{20}$  アルカン及び多環芳香族炭化水素(PAH)を測定し、DPF(Diesel Particulate Filter)の有無による濃度比較を行った。

## II 研究方法

### 1 ばく露チャンバー内ガスの採取

ばく露チャンバーは、濃度により、高濃度群、低濃度群、コントロール群に分かれており、これら3カ所の空気を採取した。採取時期は、DPF 装着時は 2009 年 11 月～2010 年 2 月、DPF 非装着時は 2010 年4月～7月の 90 日間ばく露実験の開始前及び終了後に行い、各2回の結果を平均して測定値とした。なお、ガス採取は、チャンバー内にはラットがいない状態で行った。

また、採取に用いる捕集管は、物質群ごとに分かれており、VOC、硫酸ジメチル及び硫酸ジエチ

ル、アルデヒド類、有機酸類、 $C_{17}\sim C_{20}$  アルカン及び PAH について、以下の方法で実施し、ばく露チャンバー内濃度を算出した。

なお、ばく露チャンバー内の二酸化窒素( $NO_2$ )及び粉塵濃度は、自動計測器により常時モニターされており、二酸化炭素( $CO_2$ )濃度については、検知管(ガステック製)を用いて測定した。

### 2-1 VOC 測定

捕集管に Tenax TA150mg 及び Carboxen 1016 50mg を充てんしたガラス製加熱脱着チューブを用い、100mL/分の流速で 30 分間のガス採取を行った(n=2、採取量:3L)。採取後の捕集管は、内部標準として 50ppm トルエン- $d_8$ /メタノール溶液を 1  $\mu$ L 添加し、加熱脱着装置(ATD-400、パーキンエルマー製)によりガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS) (GC17A/GC5000、島津製作所製)に導入し分析した。分析条件を表1に示す。測定対象は炭素数  $C_2\sim C_{16}$  の化合物、52 物質とし、標準物質を用いて定量した。

### 2-2 硫酸ジメチル及び硫酸ジエチル測定

捕集管に Tenax TA(ガラス管、GL サイエンス製)

を用い、500mL/分の流速で 30 分間のガス採取を行った(n=2、採取量:15L)。空気採取後の捕集管は、内部標準として 50ppm トルエン-d<sub>8</sub>/アセトン溶液を 1μL 添加し、加熱脱着装置(ATD-400、パーキンエルマー製)により GC/MS (GC17A/ GC5000、島津製作所製)に導入し分析した。分析条件を表 2 に示す。測定対象は硫酸ジメチル及び硫酸ジエチルとし、標準物質を用いて定量した。

### 2-3 アルデヒド類測定

捕集管に Sep-Pack DNPH XPoSure (日本ウォーターズ製)を用い、1L/分の流速で、30 分間のガス採取を行った(n=1、採取量:30L)。なお、捕集管の前段にはオゾンスクラバー(日本ウォーターズ製)を装着した。採取後の捕集管はアセトニトリル 5ml で溶出し、試験管の目盛りで 5ml にメスアップして分析用試料とした。分析には高速液体クロマトグラフ(HPLC)(LC10、島津製作所製)を用いた。分析条件を表3に示す。測定対象はホルムアルデヒド〜デカナールまでの 12 物質とし、標準物質を用いて定量した。

### 2-4 有機酸類測定

捕集管にはリン酸処理した ORBO601 XAD 8 (スベルコ製)を 2 本連結して用い、500mL/分の流速で、30 分間の空気採取を行った(n=1、採取量:15L)。採取後は先端のウール及び捕集剤を試験管に移し、アセトニトリル 1ml を加えて超音波抽出し、内部標準として o-ジクロロベンゼン-d<sub>4</sub> を 50ng 添加して、GC/MS (GCMS-QP2010、島津製作所)の分析用試料とした。分析条件を表4に示す。測定対象はギ酸〜ヘキサデカン酸及び安息香酸の 17 物質とし、標準物質を用いて定量した。

### 2-5 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカン及び PAH 測定

捕集剤には直径 47mm の石英フィルター(2500QAT-UP、東京ダイレック製)及びオクタデシルシリカゲル(ODS)フィルター(Empore Disk C<sub>18</sub> Fast Flow、3M 製)を用いた。石英フィルターは粒子状物質採取用、ODS フィルターはガス状物質採取用とした。各フィルターはブランク低減のため、

石英フィルターは 400°C、3時間の加熱処理、ODS フィルターはアセトンによる浸漬洗浄を行った。また、ガス採取中の NO<sub>x</sub> 及び SO<sub>x</sub>等による PAH の酸化分解を防ぐため、酸化防止剤としてアスコルビン酸を各フィルター1枚あたり 500 μg 添加した。採取は、石英フィルター1枚と ODS フィルター2枚を重ねてろ紙ホルダー(EMO-47、GL サイエンス製)にセットし(1 段目:石英、2、3 段目:ODS)、10L/分の流速で 250 分間空気を採取した(n=1、採取量:2500L)。採取後のフィルターは、石英フィルターと ODS フィルターを別の試験管に入れ、それぞれにアセトン 10ml を加えて 10 分間の超音波抽出後に遠心分離し(2500rpm、10 分)、C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカン分析用の試料とした。次に上清5ml を濃縮管に取り、内部標準としてフルオランテン-d<sub>10</sub> を 50ng 添加して、窒素気流下で 10 倍濃縮し、PAH 分析用の試料とした。分析装置には GC/MS(GCMS-QP2010、島津製作所)を用い、測定対象は炭素数 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> の脂肪族炭化水素 4 物質及び 3 環~6 環の PAH18 物質とし、標準物質を用いて定量した。分析条件を表5に示す。

## III 結果

### 1 二酸化窒素、粉塵及び二酸化炭素の濃度

ばく露チャンバーにおいてガス採取を行った際の NO<sub>2</sub>濃度は、DPF 装着時では高濃度群:4.6ppm、低濃度群:1.0ppm、DPF 非装着時では高濃度群:4.0ppm、低濃度群:0.8ppm であり、DPF を装着した方が NO<sub>2</sub>濃度が高かった。また、粉塵濃度については、DPF 装着時では高濃度群:0.47mg/m<sup>3</sup>、低濃度群:0.15 mg/m<sup>3</sup>、DPF 非装着時では高濃度群:1.6 mg/m<sup>3</sup>、低濃度群:0.30 mg/m<sup>3</sup> であり、DPF 非装着の方が粉塵濃度は高かった。CO<sub>2</sub> 濃度については、DPF 装着の有無にかかわらず、高濃度群:約 3,100 ppm、低濃度群:約 1,200 ppm であり、DPF 装着、非装着ともにばく露チャンバーへの排出ガスの導入量はほぼ一定であったと考えられた。



なお、この CO<sub>2</sub> 濃度の測定結果より、大気中の二酸化炭素濃度を 370ppm として排出ガスの希釈率を計算すると、希釈前のディーゼル排出ガスでは、二酸化炭素濃度が 5.3%であったことから、高濃度群では 19 倍、低濃度群では 63 倍と求められた。

## 2 VOC、アルデヒド類及び有機酸類の濃度

表6に DPF 装着時、表7に DPF 非装着時の VOC、アルデヒド類及び有機酸類の分析結果を示す。測定の結果、DPF 装着時に主に検出された物質は、酢酸(高濃度群:345 μg/m<sup>3</sup>)、ギ酸(高濃度群:304 μg/m<sup>3</sup>)及びホルムアルデヒド(高濃度群:255 μg/m<sup>3</sup>)であった。一方、DPF 非装着時に濃度が高かった物質は、ホルムアルデヒド(高濃度群:702 μg/m<sup>3</sup>)、アセトアルデヒド(高濃度群:285 μg/m<sup>3</sup>)及び酢酸(高濃度群:200 μg/m<sup>3</sup>)であった。検出された物質の濃度合計値を比較すると、DPF 装着時では高濃度群:1,800 μg/m<sup>3</sup>、低濃度群:450 μg/m<sup>3</sup>であったのに対し、DPF 非装着時では高濃度群:2,200 μg/m<sup>3</sup>、低濃度群:630 μg/m<sup>3</sup>であり、DPF 装着を装着した方が、合計濃度が約 20% 低かった。次に、検出された物質を構造別に、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、ハロゲン類、エステル類、アルコール類、有機酸類、アルデヒド類及びケトン類に分類し、構造別の合計濃度を算出した。DPF 装着の有無により比較した結果を図1に示す。なお、検出下限値未満の物質については濃度を「0」として計算した。DPF 装着の有無により変化のみられた主な物質群は、有機酸類及びアルデヒド類であり、DPF 装着時にはアルデヒド類が少なく、有機酸類が多いのに対し、DPF 非装着時には逆にアルデヒド類が多く有機酸類が少ないという結果が得られた。

## 3 C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub>アルカンの濃度

表8に DPF 装着時、表9に DPF 非装着時の C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカンの分析結果を示す。これらのアルカンは、主にエンジンオイル由来と考えられるが、測定の結果、DPF 装着時には DPF 非装着時の約

1/2 の濃度であった。また、炭素数で比較すると、炭素数の大きい物質の方が、DPF 装着による減少率が大きかった。

## 4 PAH 濃度

表10に DPF 装着時、表11に DPF 非装着時の PAH 分析結果を示す。DPF 装着時に濃度が高かった物質は、1,8-ナフタル酸無水物(高濃度群:103 ng/m<sup>3</sup>)及びフェナントラキノン(高濃度群:81.9 ng/m<sup>3</sup>)、一方、DPF 非装着時には、1,8-ナフタル酸無水物(高濃度群:191 ng/m<sup>3</sup>)及びフェナンスレン(高濃度群:66.7 ng/m<sup>3</sup>)の濃度が高かった。また、5環及び6環の PAH については、DPF 非装着時には検出されたが、DPF 装着時には検出されなかった。次に検出された物質を構造別に、3環、4環、5環、6環及び含酸素化合物に分類し、構造別の合計濃度を算出した。DPF 装着の有無により比較した結果を図2に示す。低濃度群では、DPF の有無による差はほとんどみられなかったが、高濃度群では3環及び4環の化合物に差がみられ、検出された PAH の濃度合計では、DPF 装着時(231 ng/m<sup>3</sup>)の方が、非装着時(479 ng/m<sup>3</sup>)の 1/2 以下の低濃度であった。

## IV 考察

本研究では、DPF 装着により排出ガス中のアルデヒド類が減少して有機酸類が増加する傾向がみられた。その原因としては、DPF に組み込まれた酸化触媒による排出ガス成分の酸化が考えられるが、他の報告<sup>1,2)</sup>では、酸化触媒による排出ガス中アルデヒド類の減少は示されているものの、有機酸については測定がされておらず、有機酸濃度については詳細なデータが無いのが現状である。したがって、酸化触媒式 DPF 装着時の排出ガスについて、その成分組成を正しく把握するためには、酸化による成分の変化を考慮し、生成が予想される物質を測定対象に加えることが不可欠であると考えられる。

当センターのばく露実験装置では、DPF の自動

再生機能が無いため、ばく露期間中、DPF の再生は行われなかった。実験中の DPF 温度を確認したところ、排出ガスにより 191°C に加温されていたが、この温度では、DPF に蓄積する粉塵を完全に燃焼させるのは難しいと考えられ<sup>3)</sup>、実験期間中に DPF に徐々に有機物が蓄積し、粉塵や VOC 等の除去率が低下したと考えられた。実際に DPF 装着時の測定では、ばく露実験前後の濃度に差がみられ、VOC 等の濃度合計値で約 2 倍、PAH 合計値で約 17 倍、粉塵濃度では約 6 倍、実験開始前に比べて、実験終了後の測定値の方が高かった。なお、DPF 非装着時の測定では、ばく露実験前後の濃度に大きな差は見られず、VOC 等の濃度合計値、PAH 合計値、粉塵濃度の差は 0.8~1.1 倍の範囲であった。

排出ガスから高濃度に検出された物質のうち、ホルムアルデヒドは、IARC のグループ 1「ヒトに対して発がん性を示す」に分類されている<sup>4)</sup>。吸入ばく露に関する報告のうち、当センターでばく露実験を行った期間(90 日間)に近いものでは、Wister ラットを用いた 13 週間のばく露で、3ppm の濃度で鼻部前方に局所的に扁平上皮過形成、化生、配列不正がみられたとの報告がある<sup>5)</sup>。また、F344 ラットを用いた 24 ヶ月のばく露実験では、2ppm 以上で鼻腔と近位気管に扁平上皮異形成・化生が認められ<sup>6)</sup>、28 ヶ月のばく露実験の結果、NOAEL (No observed adverse effect level: 無毒性量)は 0.3ppm と報告されている<sup>7)</sup>。今回測定したばく露チャンバー内のホルムアルデヒド濃度は、高濃度群で DPF 装着が  $255 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、非装着が  $702 \mu\text{g}/\text{m}^3$  であり、単位を ppm に変換すると、それぞれ、0.21ppm、0.57ppm に相当する。これは、直ちに動物に影響がみられる程の高濃度ではないが、チャンバー内には、ホルムアルデヒド以外に、アセトアルデヒド、ギ酸、酢酸及び窒素酸化物等、同様の刺激性を有するガス状物質が存在している。したがって、これらが相加的に作用する場合は、それぞれの濃度

は比較的低くても、混合ガスのばく露によって、動物に鼻や気管に影響がみられる可能性が考えられた。

## V 文献

- 1)木下輝昭、横田 久、岡村 整、村上雅彦:最新規制適合の使用過程車から排出される揮発性有機化合物(VOC)の実態(年次報告)、東京都環境科学研究所年報、p25-32、2006
- 2)藤田 修、伊藤献一、姜 友、渡辺伸央:ホルムアルデヒドの自動車用酸化触媒による浄化特性、日本機械学会論文集 B 編、59、p2914-2918、1993
- 3)吉田隆:自動車排出ナノ粒子および DEP の測定と生体影響評価、株式会社 エヌ・ティー・エス、東京(2005)
- 4) International Agency for Research on Cancer : IARC CLASSIFIES FORMALDEHYDE AS CARCINOGENIC TO HUMANS No.153,15 June 2004
- 5)Zwart, A., Woutersen, R.A., Wilmer, J.W.G.M., Spit, B.J. and Feron, V.J. : Cytotoxic and adaptive effects in rat nasal epithelium after 3-day and 13-week exposure to low concentrations of formaldehyde vapour. Toxicology, 51, 87-99, (1988)
- 6)Kerns, W.D., Pavkov, K.L., Donofrio, D.J., Gralla, E.J. and Swenberg, J.A. : Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. Cancer Res., 43, 4382-4392, (1983)
- 7)Kamata, E., Nakadate, M., Uchida, O., Ogawa, Y., Suzuki, S., Kaneko, T., Saito, M. and Kurokawa, Y. : Results of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fischer-344 rats. J. Toxicol. Sci., 22, 239-254, (1997)

表1 VOC分析用ATD-400及びGC/MS条件

ATD-400 分析条件	
オープン温度	: 280°C
脱着時間	: 10min
脱着流量	: 50ml/min
2次トラップ	: Tenax TA
2次トラップ温度	: 10°C
2次脱着温度	: 230°C
2次脱着時間	: 10min
2次スプリット比	: 1 : 10
トランスファライン	: 200°C
バルブ温度	: 200°C
GC/MS 分析条件	
カラム	: DB-1 (30m×0.25mm i. d.、1μm)
カラム温度	: 40°C (3min)-12°C/min-220°C (2min)-20°C/min-300°C (1min)
キャリアーガス	: He(カラムヘッド圧 50kPa)
インターフェース温度	: 250°C
検出モード	: SCAN (m/z 40-400)

表2 硫酸ジメチル、硫酸ジエチル分析用ATD-400及びGC/MS条件

ATD-400 分析条件	
オープン温度	: 230°C
脱着時間	: 5min
脱着流量	: 50ml/min
2次トラップ	: Tenax TA
2次トラップ温度	: 10°C
2次脱着温度	: 230°C
2次脱着時間	: 3min
2次スプリット比	: 1 : 10
トランスファライン	: 200°C
バルブ温度	: 200°C
GC/MS 分析条件	
カラム	: DB-1 (30m×0.25mm i. d.、1μm)
カラム温度	: 40°C (3min)-12°C/min-220°C (2min)
キャリアーガス	: He(カラムヘッド圧 50kPa)
インターフェース温度	: 250°C
検出モード	: SIM 硫酸ジメチル 定量用イオン m/z95、確認用イオン m/z66 硫酸ジエチル 定量用イオン m/z139、確認用イオン m/z125

表3 アルデヒド分析用 HPLC 条件

カラム	: ZORBAX Bonus RP 4.6mm i. d. ×250mm		
流速	: 1.0ml/min		
カラム温度	: 40°C		
注入量	: 10 μl		
検出波長	: 360nm		
移動相A	: 0.1%テトラヒドロフラン含有 50%アセトニトリル/水		
移動相B	: 0.1%テトラヒドロフラン含有 80%アセトニトリル/水		
グラジエント条件			
	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	70	30
	14	70	30
	17	0	100
	26	0	100
	27	70	30
	35	70	30

表4 有機酸類分析用 GC/MS 条件

カラム	: DB-FFAP (30m×0.25mm i. d.、0.25 μm)		
カラム温度	: 60°C (2min)-10°C/min-120°C-20°C/min-250°C (6min)		
キャリアーガス	: He(カラムヘッド圧 70kPa)		
インターフェース温度	: 250°C		
イオン源温度	: 260°C		
検出モード	: SIM		
	定量用イオン	確認用イオン	
ギ酸	46	45	
酢酸	60	45	
プロピオン酸	74	72	
ブタン酸	60	73	
ペンタン酸	60	73	
ヘキサン酸	60	73	
ヘプタン酸	60	73	
オクタン酸	60	73	
ノナン酸	60	73	
デカン酸	73	129	
ウンデカン酸	73	129	
ドデカン酸	73	129	
安息香酸	105	122	
トリデカン酸	73	129	
テトラデカン酸	60	73	
ペンタデカン酸	73	129	
ヘキサデカン酸	73	129	
o-ジクロロベンゼン-d <sub>4</sub>	150	-	

表5 C17~C20 アルカン及び PAH 分析用 GC/MS 条件

カラム	: DB-1 (30m×0.25mm i. d.、1 μ m)	
カラム温度	: 90°C (2min)-15°C/min-300°C (12min)	
キャリアーガス	: He (カラムヘッド圧 70kPa)	
インターフェース温度	: 250°C	
イオン源温度	: 260°C	
検出モード	: SIM	
	定量用イオン	確認用イオン
ヘプタデカン	57	71
オクタデカン	57	71
ノナデカン	57	71
エイコサン	57	71
アセナフチレン	152	153
アセナフテン	154	155
フルオレン	166	167
フェナンスレン	178	179
アントラセン	178	179
フルオランテン	202	203
ピレン	202	203
ベンゾ (a) アントラセン	228	229
クリセン	228	229
ベンゾ (b) フルオランテン	252	253
ベンゾ (k) フルオランテン	252	253
ベンゾ (a) ピレン	252	253
ジベンゾ (ah) アントラセン	278	279
インデノ [123-cd] ピレン	276	277
ベンゾ (ghi) ペリレン	276	277
アントラキノン	180	208
フェナントラキノン	180	208
1,8-ナフタル酸無水物	198	154
フルオランテン d <sub>10</sub>	212	—

表6-1 DPF 装着ばく露チャンバーの VOC 及びアルデヒド類等分析結果  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群	
脂肪族 炭化水素	ヘキサン	4.3	6.2	13.0	
	ヘプタン	<0.50	<0.50	2.8	
	オクタン	<0.50	0.80	6.0	
	ノナン	0.51	4.8	31.3	
	デカン	<0.50	3.4	26.0	
	ウンデカン	<0.50	1.4	13.9	
	ドデカン	<0.50	<0.50	5.2	
	トリデカン	<0.50	<0.50	2.2	
	テトラデカン	<0.50	1.1	1.5	
	ペンタデカン	<0.50	<0.50	1.2	
	ヘキサデカン	<0.50	<0.50	0.72	
	2,4-ジメチルペンタン	<0.50	<0.50	<0.50	
	2,2,4-トリメチルペンタン	<0.50	<0.50	0.56	
	シクロヘキサン	<0.50	5.7	17.7	
	メチルシクロヘキサン	<0.50	6.1	22.9	
	ヘキセン	1.3	12.3	20.0	
	ヘプテン	0.85	10.1	29.4	
	オクテン	0.63	3.2	10.3	
	芳香族 炭化水素	ベンゼン	0.72	8.9	53.2
		トルエン	0.65	6.0	25.0
キシレン		0.82	2.9	14.2	
エチルベンゼン		0.59	1.4	6.2	
スチレン		<0.50	<0.50	3.2	
エチルトルエン		<0.50	1.8	12.4	
1,3,5-トリメチルベンゼン		<0.50	0.60	3.4	
1,2,4-トリメチルベンゼン		<0.50	1.4	10.7	
1,2,3-トリメチルベンゼン		<0.50	<0.50	4.0	
1,2,4,5-テトラメチルベンゼン		<0.50	<0.50	0.78	
p-シメン		<0.50	<0.50	2.2	
4-エチル-1,2-ジメチルベンゼン		<0.50	<0.50	4.0	
ナフタレン		<0.50	0.60	3.4	
ハロゲン類		ジクロロメタン	5.4	3.8	6.2
	クロロホルム	1.9	3.1	3.5	
	1,2-ジクロロエタン	<0.50	<0.50	<0.50	
	1,1,1-トリクロロエタン	<0.50	<0.50	<0.50	
	四塩化炭素	<0.50	<0.50	<0.50	
	1,2-ジクロロプロパン	<0.50	<0.50	<0.50	
	ブromoジクロロメタン	<0.50	<0.50	1.1	
	トリクロロエチレン	<0.50	<0.50	1.5	
	ジブromoクロロメタン	<0.50	<0.50	1.1	
	テトラクロロエチレン	<0.50	<0.50	0.75	
	p-ジクロロベンゼン	<0.50	<0.50	5.2	
	ケトン類	2-ブタノン	0.71	2.9	16.0
アセトン		5.9	16.9	81.1	
4-メチル2-ヘンタノン		0.62	0.61	0.72	

表6-2 DPF 装着ばく露チャンバーの VOC 及びアルデヒド類等分析結果  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群
エステル類	酢酸エチル	6.9	5.9	8.7
	酢酸ブチル	<0.50	0.51	2.3
	硫酸ジエチル	<0.50	<0.50	<0.50
	硫酸ジメチル	<0.50	<0.50	<0.50
アルコール類	エタノール	13.5	16.3	22.0
	2-プロパノール	1.4	3.3	6.8
	1-プロパノール	<0.50	1.4	3.5
	ブタノール	<0.50	0.95	3.2
	2-エチル-1-ヘキサノール	<0.50	0.62	1.9
有機酸類	ギ酸	<1.0	67.8	304
	酢酸	4.3	86.3	345
	プロピオン酸	<1.0	10.4	43.1
	ブタン酸	<1.0	8.3	33.1
	ペンタン酸	<1.0	7.1	29.6
	ヘキサン酸	<1.0	4.2	17.5
	ヘプタン酸	<1.0	1.71	8.8
	オクタン酸	<1.0	<1.0	4.9
	ノナン酸	2.5	5.0	19.4
	デカン酸	<1.0	<1.0	3.6
	ウンデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	ドデカン酸	<1.0	<1.0	2.9
	安息香酸	<1.0	10.6	35.4
	トリデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	テトラデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	ペンタデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
ヘキサデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0	
アルデヒド類	ホルムアルデヒド	0.75	45.6	255
	アセトアルデヒド	<0.50	47.2	135
	プロピオンアルデヒド	<0.50	10.3	23.2
	クロトンアルデヒド	<0.50	<0.50	6.3
	ブチルアルデヒド	<0.50	<0.50	16.0
	ベンズアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	バレールアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	ヘキサールアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	ノナール	<0.50	<0.50	<0.50
	デカール	<0.50	<0.50	<0.50
	アクロレイン	<0.50	11.2	26.7
	メタクロレイン	<0.50	<0.50	<0.50
濃度合計値*		54.3	451	1,820

\*：検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表7-1 DPF 非装着ばく露チャンバーの VOC 及びアルデヒド類等分析結果  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群	
脂肪族 炭化水素	ヘキサン	1.6	5.1	6.1	
	ヘプタン	<0.50	1.3	3.9	
	オクタン	<0.50	1.6	5.3	
	ノナン	<0.50	8.8	32.1	
	デカン	<0.50	7.7	25.5	
	ウンデカン	<0.50	3.5	14.9	
	ドデカン	<0.50	2.6	13.7	
	トリデカン	<0.50	1.82	11.7	
	テトラデカン	<0.50	1.3	12.6	
	ペンタデカン	<0.50	1.90	14.0	
	ヘキサデカン	<0.50	1.18	11.6	
	2,4-ジメチルペンタン	<0.50	2.7	11.6	
	2,2,4-トリメチルペンタン	<0.50	4.9	22.9	
	シクロヘキサン	3.4	9.6	12.8	
	メチルシクロヘキサン	1.6	5.6	15.5	
	ヘキセン	0.55	16.0	61.5	
	ヘプテン	<0.50	9.3	40.7	
	オクテン	1.0	5.6	18.1	
	芳香族 炭化水素	ベンゼン	<0.50	23.7	78.9
		トルエン	4.6	16.9	36.7
キシレン		1.3	6.8	15.6	
エチルベンゼン		0.8	3.3	6.7	
スチレン		<0.50	1.9	5.2	
エチルトルエン		<0.50	3.1	10.4	
1,3,5-トリメチルベンゼン		<0.50	1.0	3.4	
1,2,4-トリメチルベンゼン		<0.50	3.2	10.6	
1,2,3-トリメチルベンゼン		<0.50	0.67	3.9	
1,2,4,5-テトラメチルベンゼン		<0.50	<0.50	0.99	
p-シメン		<0.50	<0.50	0.81	
4-エチル-1,2-ジメチルベンゼン		<0.50	0.59	2.2	
ナフタレン		<0.50	0.82	4.3	
ハロゲン類		ジクロロメタン	11.1	17.4	22.9
	クロロホルム	4.4	4.0	5.1	
	1,2-ジクロロエタン	<0.50	<0.50	<0.50	
	1,1,1-トリクロロエタン	<0.50	<0.50	<0.50	
	四塩化炭素	<0.50	<0.50	<0.50	
	1,2-ジクロロプロパン	<0.50	<0.50	<0.50	
	ブromoジクロロメタン	<0.50	<0.50	<0.50	
	トリクロロエチレン	0.78	1.6	1.3	
	ジブromoクロロメタン	0.78	0.67	0.80	
	テトラクロロエチレン	<0.50	<0.50	<0.50	
	p-ジクロロベンゼン	<0.50	<0.50	4.9	
	ケトン類	2-ブタノン	<0.50	5.5	23.1
アセトン		6.6	29.7	44.3	
4-メチル 2-ヘンタン		<0.50	0.73	0.71	



表7-2 DPF 非装着ばく露チャンバーの VOC 及びアルデヒド類等分析結果  $\mu\text{g}/\text{m}^3$

物質名		コントロール群	低濃度群	高濃度群
エステル類	酢酸エチル	3.6	8.0	10.2
	酢酸ブチル	<0.50	2.5	5.7
	硫酸ジエチル	<0.50	<0.50	<0.50
	硫酸ジメチル	<0.50	<0.50	<0.50
アルコール類	エタノール	7.0	29.5	20.3
	2-プロパノール	4.3	5.3	7.0
	1-プロパノール	<0.50	0.62	1.7
	ブタノール	<0.50	1.2	1.9
	2-エチル-1-ヘキサノール	0.91	1.2	2.7
有機酸類	ギ酸	<5.0	11.3	125
	酢酸	3.1	50.1	200
	プロピオン酸	<1.0	<1.0	8.2
	ブタン酸	<1.0	<1.0	5.0
	ペンタン酸	<1.0	<1.0	4.6
	ヘキサン酸	<1.0	<1.0	2.4
	ヘプタン酸	<1.0	<1.0	1.0
	オクタン酸	<1.0	<1.0	0.57
	ノン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	デカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	ウンデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	ドデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	安息香酸	<1.0	<1.0	<1.0
	トリデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	テトラデカン酸	<1.0	2.3	3.0
	ペンタデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
	ヘキサデカン酸	<1.0	<1.0	<1.0
アルデヒド類	ホルムアルデヒド	3.3	182	702
	アセトアルデヒド	4.3	78.3	285
	プロピオンアルデヒド	<0.50	15.5	51.7
	クロトンアルデヒド	<0.50	<0.50	9.4
	ブチルアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	ベンズアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	バルニルアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	ヘキサアルデヒド	<0.50	<0.50	<0.50
	ノナール	<0.50	<0.50	<0.50
	デカール	<0.50	<0.50	<0.50
	アクロレイン	<0.50	25.6	118
	メタクロレイン	<0.50	<0.50	<0.50
	濃度合計値*		65.3	625

\*：検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表8 DPF 装着ばく露チャンバーの C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカン分析結果 μg/m<sup>3</sup>

	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群
C <sub>17</sub> ~C <sub>20</sub> アルカン	ヘプタデカン	<0.10	0.48	1.7
	オクタデカン	<0.10	0.56	2.9
	ノナデカン	<0.10	0.34	2.2
	エイコサン	<0.10	0.18	1.6
	濃度合計値*	-	1.6	8.4

\*: 検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表9 DPF 非装着ばく露チャンバーの C<sub>17</sub>~C<sub>20</sub> アルカン分析結果 μg/m<sup>3</sup>

	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群
C <sub>17</sub> ~C <sub>20</sub> アルカン	ヘプタデカン	<0.10	0.62	4.5
	オクタデカン	<0.10	0.47	4.7
	ノナデカン	<0.10	0.41	5.2
	エイコサン	<0.10	0.56	4.9
	濃度合計値*	-	2.1	19.2

\*: 検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表10 DPF 装着ばく露チャンバーの PAH 分析結果 ng/m<sup>3</sup>

	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群
多環芳香族 炭化水素	アセチレン	<0.50	<0.50	0.94
	アセチレン	0.79	1.8	6.4
3環	フルオレン	2.4	38.7	8.4
	フェナンスレン	3.5	5.5	12.1
	アントラセン	<0.50	<0.50	<0.50
	フルオランテン	<0.50	1.1	3.7
	ピレン	<0.50	1.0	2.2
4環	ベンゾ(a)アントラセン	<0.50	<0.50	<0.50
	クリセン	<0.50	<0.50	1.5
	ベンゾ(b)フルオランテン	<0.50	<0.50	<0.50
5環	ベンゾ(k)フルオランテン	<0.50	<0.50	<0.50
	ベンゾ(a)ピレン	<0.50	<0.50	<0.50
	ジベンゾ(ah)アントラセン	<0.50	<0.50	<0.50
6環	インデノ(123-cd)ピレン	<0.50	<0.50	<0.50
	ベンゾ(ghi)ペリレン	<0.50	<0.50	<0.50
含酸素	アントラキノン	<0.50	2.5	10.9
	フェナントラキノン	<0.50	14.6	81.9
	1,8-ナフタル酸無水物	<0.50	16.5	103
	濃度合計値*	6.7	81.8	231

\*: 検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

表11 DPF 非装着ばく露チャンバーの PAH 分析結果		ng/m <sup>3</sup>		
	物質名	コントロール群	低濃度群	高濃度群
多環芳香族	アセナチレン	<0.50	4.3	17.3
炭化水素	アセナテン	<0.50	2.0	22.1
	フルオレン	1.5	11.7	54.5
	フェナンスレン	2.5	15.5	66.7
3環	アントラセン	<0.50	13.6	5.5
	フルオランテン	<0.50	1.73	11.2
	ピレン	<0.50	2.9	19.3
	ベンゾ <sup>a</sup> (a)アントラセン	<0.50	<0.50	5.0
4環	クリセン	<0.50	0.96	7.5
	ベンゾ <sup>b</sup> (b)フルオランテン	<0.50	<0.50	3.0
	ベンゾ <sup>k</sup> (k)フルオランテン	<0.50	<0.50	<0.50
	ベンゾ <sup>a</sup> (a)ピレン	<0.50	<0.50	1.3
5環	ジベンゾ <sup>ah</sup> (ah)アントラセン	<0.50	<0.50	<0.50
	インデノ(123-cd)ピレン	<0.50	<0.50	<0.50
6環	ベンゾ <sup>ghi</sup> (ghi)ペリレン	<0.50	<0.50	0.85
	アントラキノン	<0.50	3.4	30.9
	フェナントラキノン	<0.50	8.0	42.7
含酸素	1,8-ナフタル酸無水物	<0.50	20.0	191
	濃度合計値*	4.0	84.1	479

\*: 検出された物質の濃度合計値を表す。定量下限値未満の物質は「0」として数値を算出した。

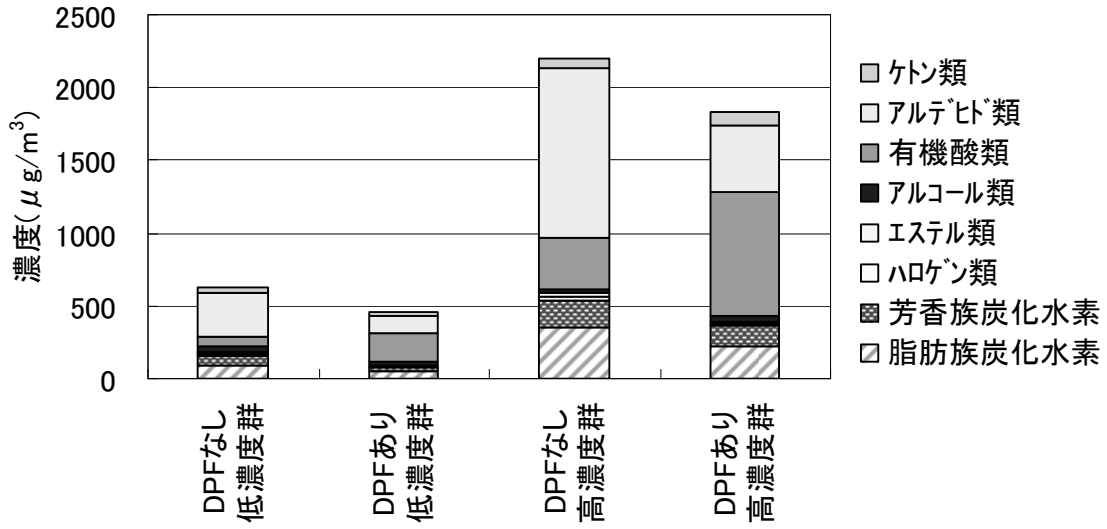


図1 DPF 装着の有無によるディーゼルばく露チャンバー内 VOC 及びアルデヒド濃度の比較

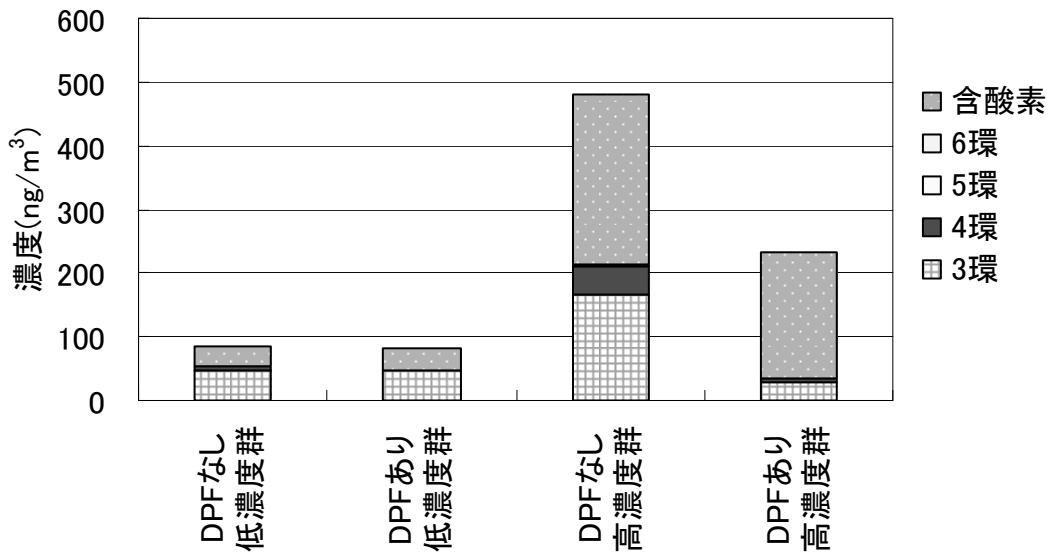


図2 DPF 装着の有無によるディーゼルばく露チャンバー内 PAH 濃度の比較

# 健常ラットを用いた DPF 装着・非装着における ディーゼル排出ガス 90 日間ばく露実験 — 動物実験 —

## 研究要旨

3週齢、10週齢の F344 オスラットを用いて、粒子状物質減少装置（DPF）装着時及び非装着時におけるディーゼル排気ガスの90日間吸入ばく露実験を実施し、主として呼吸器系に対する影響について検討した。ヒトにおけるぜん息の指標とされている病理組織学的所見、血清生化学、血液学、免疫学的試験及び炎症指標等の試験項目について検討した結果、各検討項目において、DPF装着及び非装着時のばく露とも、ディーゼル排気ガスばく露により、ラット呼吸器系への軽度の影響を認めた。しかし、ぜん息症状を惹起すると推測されるような顕著な変化は認められなかった。また、DPF装着と非装着の比較においても両者の間に顕著な変化は観察されなかった。

## I 研究の目的

気管支ぜん息等の発症、増悪リスクの要因の一つとして、微小粒子状物質との間に統計的な関連性が指摘されている。ディーゼル排気微粒子は微小粒子状物質の主な排出源であるが、東京都では条例により、ディーゼル車は都知事指定の粒子状物質減少装置（DPF）を装着して走行していることから、大気中粒子状物質は減少してきている。一方、現在使用されているDPFのほとんどは触媒方式のため、排出されるガス状成分の組成も変化すると考えられるが、DPF装着時のディーゼル排出ガスの生体に対する影響についての報告は殆どない。ここではディーゼル排出ガスの健常ラットへのばく露がぜん息症状を発症するの否かについて、DPF装着・非装着時について検討した。

## II 実験方法

### 1. 動物

3週齢(幼若)及び10週齢(成熟)のF344系雄ラットを用い、清浄空気群、低濃度群、高濃度群に分け、各群20匹とした。

### 2. ばく露条件

動物へのディーゼル排出ガスばく露は、図1に

示すようなばく露装置を用い、各ケージ4匹ずつ配置した。ばく露チャンバー(図2)は容積1.6m<sup>3</sup>で換気回数15回/時とした。ディーゼルエンジン(図3)(NFAD-50-EX型、ヤンマー製)は、直噴式、排気量309cc、最高出力4.4kwでJIS2号相当の軽油を燃料とし、回転数2,600rpmで運転し、発電機を稼働した。負荷として、500W電球とスポットクーラー2台(620W, 880W)を接続した。排出ガスは、室内空気希釈し各チャンバー内へ送った。高濃度群、低濃度群のNO<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>及び粉じんの各平均ばく露濃度は、DPF装着時では、高濃度は、NO<sub>2</sub> 4.6ppm、CO<sub>2</sub> 約 3,100ppm、粉塵 0.47mg/m<sup>3</sup>、低濃度は、NO<sub>2</sub> 1.0ppm、CO<sub>2</sub> 約 1,200ppm、粉塵 0.15mg/m<sup>3</sup>、であった。DPF非装着時では、高濃度は、NO<sub>2</sub> 4.0ppm、CO<sub>2</sub> 約 3,100ppm、粉塵 1.6mg/m<sup>3</sup>、低濃度は、NO<sub>2</sub> 0.8ppm、CO<sub>2</sub> 約 1,200ppm、粉塵 0.3mg/m<sup>3</sup>、であった。二酸化炭素濃度はDPF装着の有無にかかわらず、高濃度、低濃度で一定の値を示した。ばく露は13週間(6時間/日)行い、チャンバー内の平均温度及び平均相対湿度、25.9±0.76℃及び29.8±10.8%であった。

### 3. 検討方法

ばく露後、病理組織学的所見、血清生化学、血液学、免疫学的試験及び炎症指標等の試験に供するため、採血、解剖及び肺胞洗浄液(BALF)の採取等を行った。各群 20 匹のうち 10 匹について、リンパ球サブセット、血球数、A/G 比及び LDH 等を測定用に採血し、臓器重量の測定と各臓器の病理組織学的観察を行った。残り 10 匹について、BALF を採取し、サイトカインの測定、酸化ストレス、炎症マーカー等の測定を行った。

## III 病理組織学的検討

### 実験方法

#### 1. 病理組織標本の作成

対照群及び 3 および 10 週齢ばく露群、各 20 匹のラットのうち 10 匹について、組織標本を作成し、組織学的観察を行った。解剖時、各臓器を摘出、秤量後、緩衝ホルマリン(pH7.4)で固定後、常法によりパラフィン包埋切片を作成、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、組織観察を行った。肺重量は、肺を気管とともに摘出、秤量後、気管より固定液を注入、再膨張させた後、気管重量を減じた値を肺重量とした。秤量臓器(表 1,2)の他、鼻腔、縦隔リンパ節、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎についても組織観察を行った。鼻腔は固定、脱灰した後、パラフィン包埋切片を作成した。

#### 2. 鼻腔、気管・細気管支粘膜上皮細胞の厚さ及び肺内大食細胞数の計測

鼻腔は扁平、呼吸および嗅上皮について計測するために、鼻腔を I ; 切歯直後、II ; 切歯乳頭部及び III ; 第一臼歯部の 3ヶ所について横断切片を作成し、各上皮について計測した。気管は、I : 上部、II : 下部、III : 気管支の 3ヶ所を、また肺内細気管支は、I : 直径 200µm 程度の部位と、II : 終末~呼吸細気管支部位について測定した。上皮の厚さは、接眼マイクロメーターを用い、顕微鏡下(400 倍)で上記各部位の 5ヶ所について測定し平均値を求めた。

肺胞内大食細胞数は、近位部の肺胞領域(肺門に近い部位)と遠位部(被膜下)の肺胞領域の任意に選んだ 5ヶ所について、顕微鏡下(400 倍)で、250µm<sup>2</sup>の範囲に存在する肺胞内の大食細胞数を計測しその平均値を求めた。

## 結果

### 1. 体重

**DPF 非装着時(以下 DPF なしと略す) :** 3 及び 10 週齢の低及び高濃度ばく露群では、ほぼ実験期間をとおして対照群と比べて、やや低い値で推移した(図 1)。解剖時体重は、対照群に比べて、3 週齢では低及び高濃度群で、10 週齢では高濃度群で有意に小さかった。3 週齢各ばく露群の体重変化にはばく露濃度との明らかな相関性は認められなかった(表 1、3)。

**DPF 装着時(以下 DPF ありと略す) :** 体重は 3 及び 10 週齢の高濃度群で、ほぼ実験期間をとおして対照群と比べて、やや低い値で推移した(図 2)。解剖時体重は、高濃度群で、対照群に比べて有意に小さかった(表 1、3)。

### 2. 臓器重量

**DPF なし :** 3 及び 10 週齢の高濃度群の副腎で、絶対重量と相対重量(体重比重量)が有意に増加した。その他各週齢ばく露群で、対照群と比べて、絶対重量の低下及び相対重量の増加、または相対重量の増加を示した臓器が多くみられたが、いずれも体重の減少に関連した変化と考えられた(表 1—4)。

**DPF あり :** 3 及び 10 週齢の低濃度及び高濃度群の副腎と 10 週齢低濃度群の肺の絶対重量と相対重量(体重比重量)が増加した。副腎重量の変化には濃度と相関性はなかった。その他、3 週齢高濃度群の腎臓絶対重量及び相対重量の低下、10 週齢高濃度群胸腺の絶対重量の低下、各週齢の高濃度群の精巣、脳の相対重量の増加はいずれも体重の減少に関連した変化と考えられた(表 1—4)。

### 3. 肉眼所見

**DPF なし:**排ガスばく露群の肺では表面の色が、各葉で、低濃度群では部分的に、高濃度群では、ほぼ、び慢性に灰色から黒色を呈していた。肺以外の臓器には、特に異常は認められなかった(図3, 4)。

**DPF あり:**肺表面の色は、ばく露量に比例して、不明瞭な斑点状に、灰色から薄い黒色を呈していた。肺以外の臓器には、特に異常は認められなかった(図3, 4)。

### 4. 組織所見

**DPF なし:**呼吸器系の観察項目及び各群で観察された組織変化およびその変化の程度を表5と6に示した。

鼻腔、気管および肺の細気管支は、3週齢及び10週齢のばく露群ともに、いずれの部位においても、対照群と比べて粘膜上皮の杯細胞数の増加、分泌腺の増生及び粘膜への好中球や好酸球の浸潤は認められなかった(図5, 6, 表5, 6)。

粘膜上皮の厚さの計測結果では、3及び10週齢ともに高濃度群で鼻腔の呼吸上皮および気管上部(部位I)で対照群に比べ有意な増加を示した(表7, 8)。

組織学的に3及び10週齢ばく露群の肺泡洞から肺泡領域では、大きくは対照群と顕著な差は認められなかったが(図5)、ごく軽度な変化として、対照群と共通して、3及び10週齢の各群で、間質における炎症細胞や大食細胞等の細胞の増加、上皮細胞の肥大を伴った肺泡壁の肥厚がみられた。この変化は、対照群で単発性、ばく露群ではやや散在性に認められ、高濃度群でやや多く、また程度の強い傾向が見られた(図6, 表5, 6)。その他、対照群を含む各群で、被膜下における大食細胞の集簇、肺泡上皮細胞の肥大、軽度増生、炎症細胞の浸潤を伴う肺泡壁の肥厚がみられたが、いずれも発現例数は少なく、排ガスばく露との明らかな関連は

認められなかった(図7, 8, 表5)。

各排ガスばく露群では排ガス粒子と思われる黒色粒子を含む大食細胞が肺組織全体にわたって、肺泡内に散在性に見られたほか、細気管支壁のリンパ組織や結合組織中への蓄積が認められた(表5, 6)。粒子の蓄積部位または周辺組織には、特に肉芽腫様の変化は認められなかった。3及び10週齢ばく露群の縦隔リンパ節で、ディーゼル排ガス粒子と思われる黒色微細粒子の沈着が認められた。肺泡内の大食細胞数の計測結果では、3及び10週齢の高濃度群で対照群及び低濃度群に比べて有意に増加していた(表7, 8)。黒色粒子は胸腔内の縦隔リンパ節にも認められた。その他の臓器にはばく露と関連した変化は認められなかった。

**DPF あり:**3及び10週齢の低濃度群で、肺泡壁の肥厚が対照群及び高濃度群に比べて強く認められた(表5, 6)。その他、対照群とばく露群に共通して、被膜下における大食細胞の集簇を伴う肺泡壁の肥厚がみられた。対照群に比べて3週齢、高濃度群では上皮細胞の増生傾向が認められた。

黒色粒子を貪食した大食細胞が肺泡内、細気管支壁のリンパ組織や結合組織に認められた。そのほか高濃度群では被膜下肺泡内への集簇巣も散見された。全体的に肺組織における黒色粒子の沈着量は用量に比例して多い傾向がみられた。呼吸系以外の臓器では、各週齢ばく露群の縦隔リンパ節で、黒色微細粒子の沈着が認められた。黒色粒子の沈着量は濃度に比例して多い傾向がみられ、ばく露条件を反映していると考えられた。その他の臓器では、ばく露と関連した変化は認められなかった。

### 考 察

3及び10週齢ラットにDPF非装着時(DPFなし)のディーゼル排ガスの90日間吸入ばく露

を行い呼吸器系への影響を調べた。

3及び10週齢ラットのばく露群で体重減少、副腎重量の増加がみられた。ディーゼルばく露の影響が考えられるが、各値の対照群に対する割合は、体重、90-96%、副腎、110-118%と小さく、また副腎は組織学的に対照群と明らかな差はないことから、毒性学的意味は小さいと思われた。

組織学的に、高濃度群では肺胞内の黒色粒子を貪食した大食細胞数が有意に増加し、今回のばく露条件を反映しており、今回のばく露実験が良好に実施されたことを示している。

肺の組織変化として肺胞洞から肺胞領域における大食細胞の集簇、間質細胞の増加、炎症細胞の浸潤等を伴った肺胞壁の肥厚が認められた。軽度な炎症性病変と考えられ、対照群にも見られたが、ばく露群では濃度に伴って病変数が増加した。また高濃度群では気道系各部位の粘膜上皮細胞の厚さの増加が認められ、各週齢のばく露群の肺重量には変化はなく、呼吸器系における組織変化は、いずれもごく軽度な変化であったと思われる。以上の肺における変化と体重及び副腎重量の変動との関連は不明である。また、気管・気管支及び肺内細気管支系における好酸球の浸潤や杯細胞の肥大・増生等の変化は認められず、今回のディーゼル排ガスばく露条件下では、ヒトのぜん息の際に認められる好酸球の浸潤等、気道系における病変は引き起こされないと考えられる。低濃度群においても黒色粒子を貪食した大食細胞が散在性に認められたが、対照群の大食細胞数と比べ有意な差はなく、低濃度群では肺胞内に吸入された粒子は生理的レベルの異物排除機能によって処理されたものと考えられる。

被膜下肺胞壁の肥厚部位の上皮細胞の増生は、対照群に共通して見られる慢性的炎症性病変と考えられ、高濃度群に多い傾向が認められた。

各検査項目の結果から、ごく軽度であったが、ディーゼル排ガスばく露の影響が考えられる。

ディーゼル排ガス中には、粒子状物質のほか、CO、NOなどのガス状物質や各種化学物質が含まれており、これらのいずれかまたは複合物としての影響が考えられるが、詳細は不明である。

### DPF装着（DPFあり）結果との比較

DPF装着ディーゼル排ガスばく露試験では、各週齢動物で、ばく露と関連した結果として、高濃度群の体重増加抑制、低及び高濃度群の副腎重量の増加、低濃度群における肺重量の増加、組織学的に黒色粒子の沈着、肺胞洞から肺胞領域における肺胞壁の肥厚、被膜下肺胞壁の肥厚が認められた。また気道系における好酸球の浸潤や杯細胞の肥大・増生は認められなかった。DPF装着実験では、ばく露終了直前に低濃度群でばく露装置事故による、一時的な排ガス濃度の顕著な上昇があり、低濃度群における肺重量の増加および肺胞壁の肥厚が強く現れた。そのためDPF装着実験における高濃度群の結果と今回のDPF非装着実験の結果を比較した。体重の増加抑制、副腎重量の増加、また呼吸器系の組織所見等、いずれも同様な傾向であり、両実験において、ディーゼルばく露の軽度な影響が考えられるが、ディーゼル排ガスばく露実験におけるDPF有無の影響は明らかでなかった。

### 5. まとめ

3及び10週齢ラットにDPF非装着時(DPFなし)のディーゼル排ガスの90日間吸入ばく露を行い呼吸器系への影響を調べた。①ばく露と関連して軽度な体重増加抑制及び副腎重量の増加が認められた。組織学的に、②気管から細気管支における粘膜上皮の厚さは顕著な差はなく、好中球、好酸球などの炎症細胞の浸潤、杯細胞の増加等の変化は認められなかった。③肺胞洞から肺胞にかけて、軽度な壁肥厚が認められた。この変化は両週齢群でばく露濃度に伴い多く見られた。④対照群とばく露群に共通して肺被膜下に大食細胞の集簇を伴った肺胞壁の肥厚



が認められた。ばく露群で頻度および程度が強い傾向がみうられた。⑤ディーゼル排ガスに由来すると考えられる黒色微細粒子が大食細胞に貪食され、肺組織全体にわたって散在性に見られるほか、細気管支壁の結合組織やリンパ組織内及び縦隔リンパ節にも沈着が認められた。沈着量は濃度に比例して多い傾向が認められた。

⑥DPF 非装着ディーゼル排ガスの3ヶ月間ばく露によりラット呼吸器系へ軽度な影響が認められた。DPF 装着ばく露と同様な結果が得られたが、DPFの有無による差は明らかでなかった。

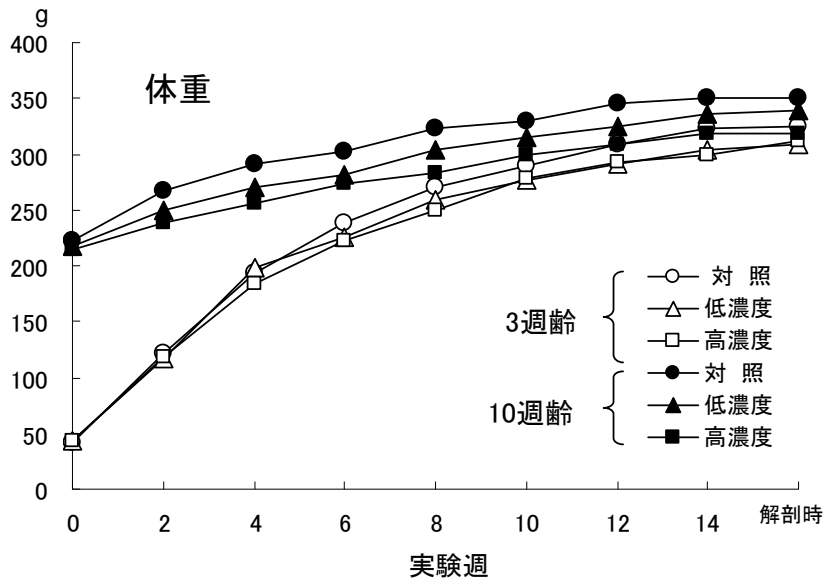


図 1. DPF なし ディーゼル排ガス3ヶ月間ばく露ラットの体重増加推移

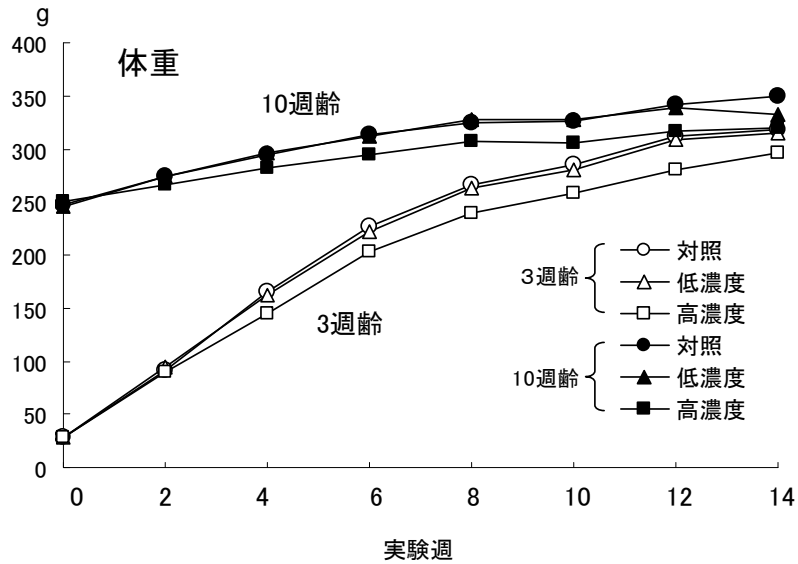
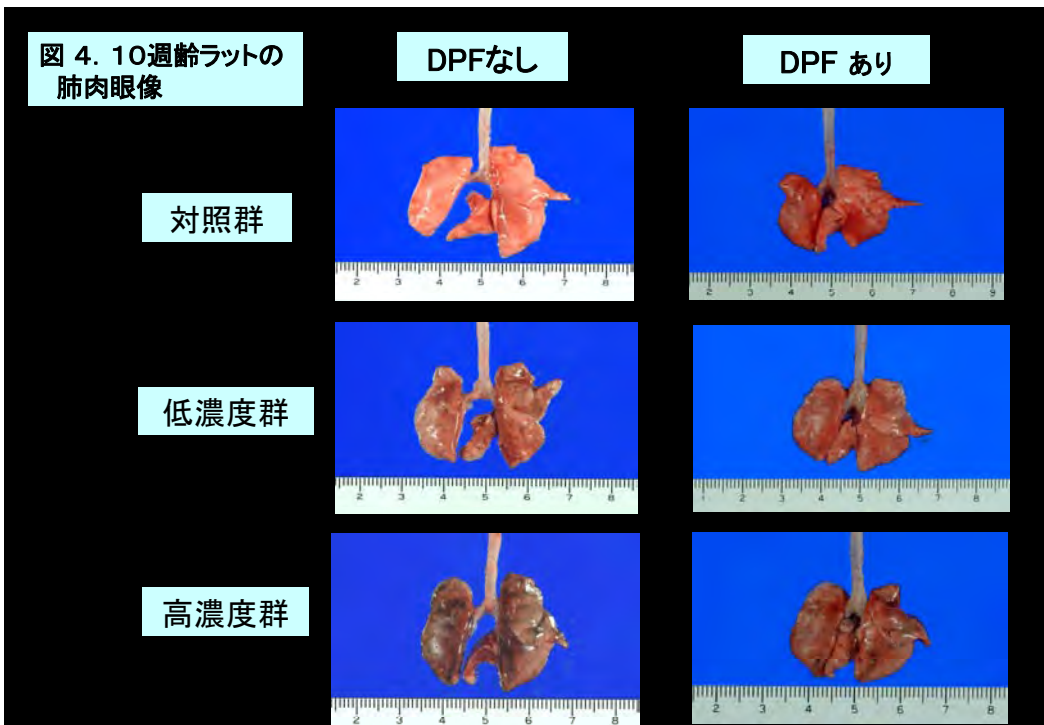
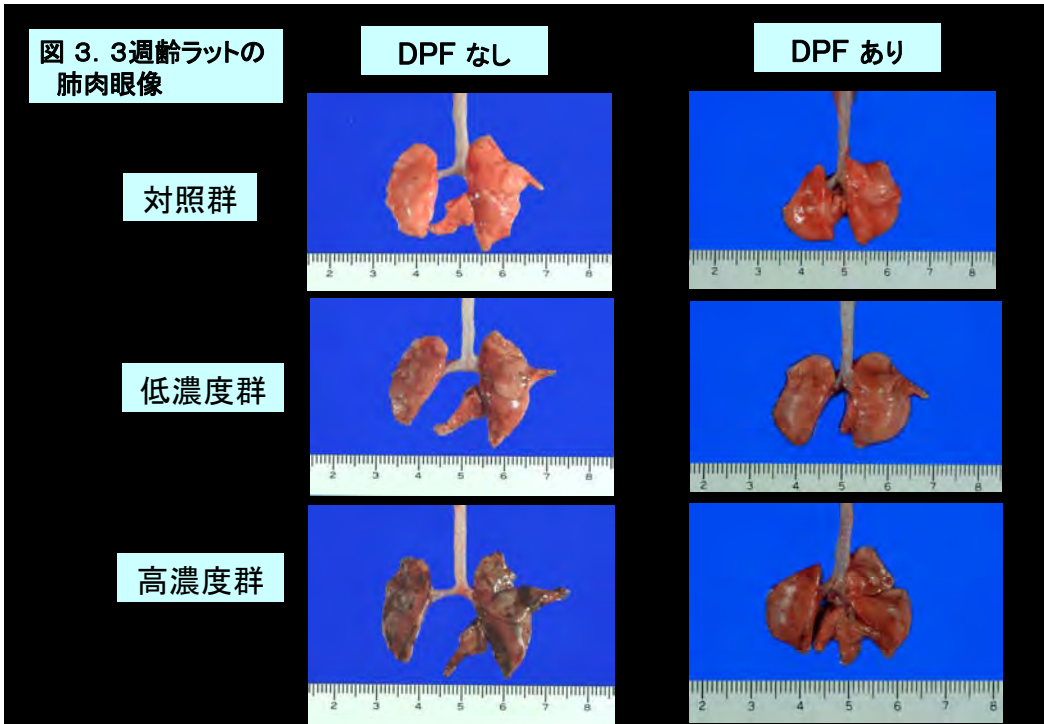


図 2. DPF あり ディーゼル排ガス3ヶ月間ばく露ラットの体重増加推移



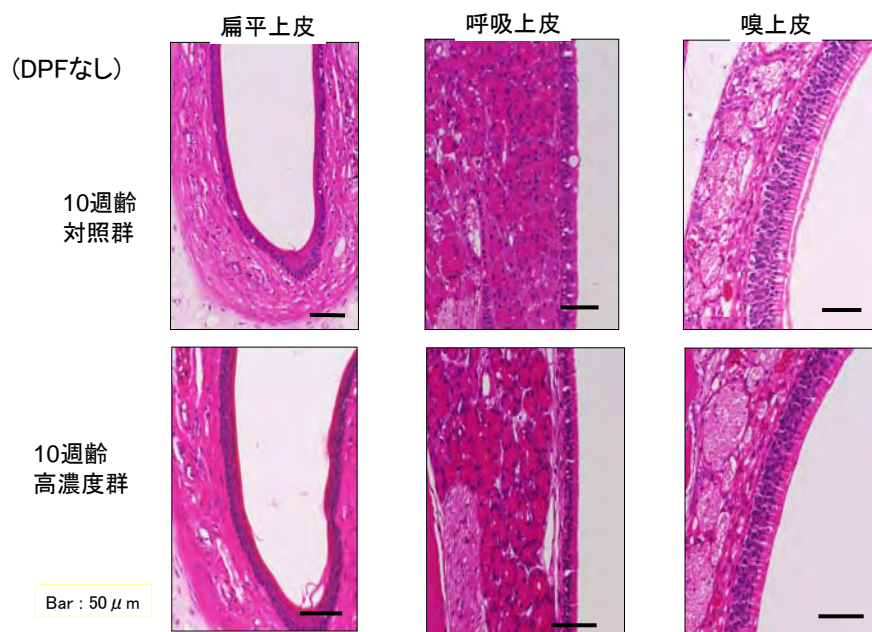


図 5. ディーゼル排ガス (DPFなし)3ヶ月ばく露ラットの鼻腔粘膜上皮組織像

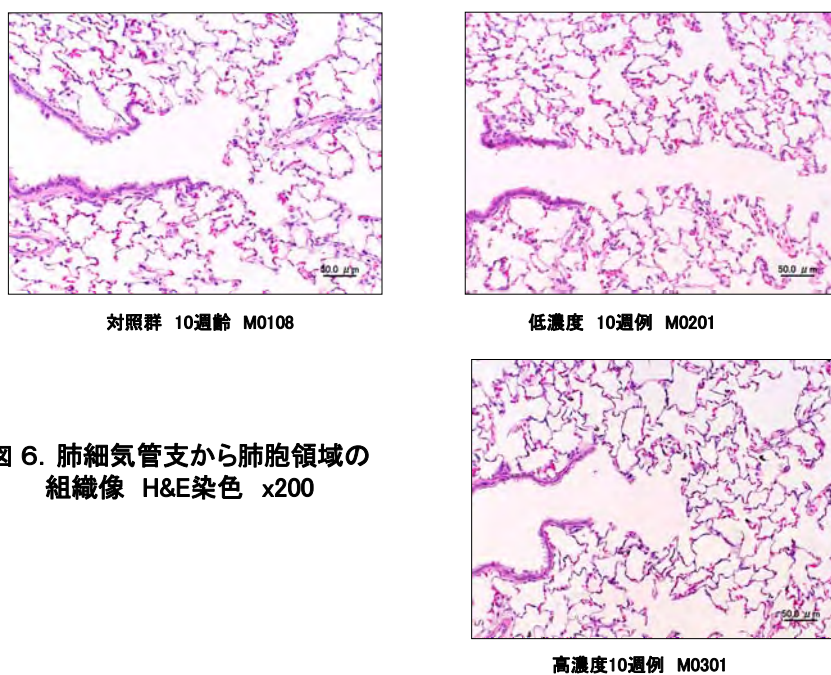


図 6. 肺細気管支から肺胞領域の組織像 H&E染色 x200

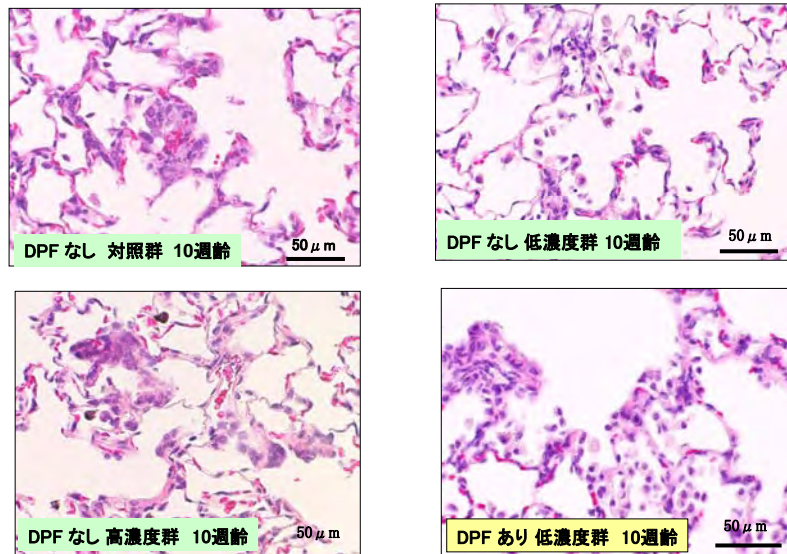
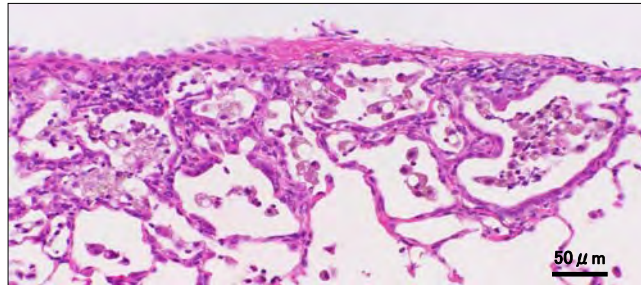


図 7. 肺胞壁の肥厚

大食細胞及び炎症細胞などの肺胞内及び壁間質への浸潤などによる肺胞壁の肥厚

図8. 被膜下 肺胞壁の肥厚  
DPFなし

低濃度 3週齢



高濃度 10週齢

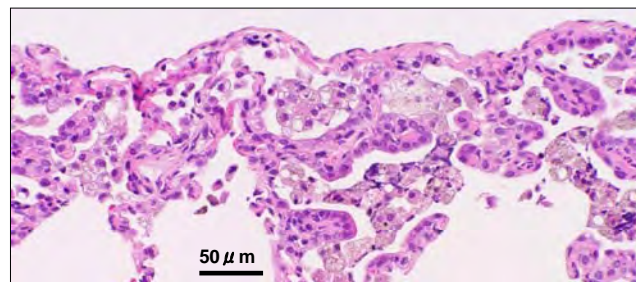


表 1. 3週齢ラット ディーゼル排ガスばく露試験 臓器重量-1

解剖時体重/ 秤量臓器	DPF なし			DPF あり		
	対照群	低濃度群	高濃度群	対照群	低濃度群	高濃度群
	10 <sup>a)</sup>	10	10	10	10	10
体重(g)	325 ± 9 <sup>b)</sup>	309 ± 11 <sup>**</sup>	312 ± 9*	324 ± 16	316 ± 1.49	303 ± 11*
副腎(左)	17.1 ± 0.95 <sup>c)</sup>	176 ± 1.43	20.1 ± 1.49 <sup>**</sup> , \$\$	16.1 ± 1.31	18.6 ± 1.49 <sup>**</sup>	19.4 ± 1.33 <sup>**</sup>
	5.27 ± 0.36 <sup>d)</sup>	5.69 ± 0.56	6.46 ± 0.46 <sup>**</sup> , \$	4.96 ± 0.25	5.87 ± 0.44 <sup>**</sup>	6.41 ± 0.55 <sup>**</sup> , \$
副腎(右)	15.2 ± 1.10	15.8 ± 1.48	17.6 ± 1.57 <sup>**</sup> , \$	14.9 ± 1.66	17.4 ± 1.43 <sup>**</sup>	17.1 ± 1.30 <sup>**</sup>
	4.67 ± 0.26	5.12 ± 0.54	5.67 ± 0.49 <sup>**</sup> , \$	4.61 ± 0.38	5.54 ± 0.63 <sup>**</sup>	5.65 ± 0.35 <sup>**</sup>
胸腺	178 ± 11	177 ± 8	168 ± 13	178 ± 15	176 ± 17	166 ± 15
	54.8 ± 4.07	57.52 ± 3.08	53.9 ± 3.72	55.1 ± 3.95	56.1 ± 5.5	54.8 ± 4.5
脾臓	663 ± 44	627 ± 28	648 ± 27	659 ± 37	643 ± 31	627 ± 26
	203 ± 10	204 ± 8.0	208 ± 7.1	203 ± 8	204 ± 11	207 ± 5
肺	920 ± 49	911 ± 39	916 ± 52	1032 ± 141	1107 ± 37	909 ± 32
	283 ± 14	295 ± 13	294 ± 20	319 ± 41	350 ± 34	300 ± 19

a) 動物数, b) 平均値±SD, c) 絶対重量(mg), d) 体重比重量(mg/100g体重)  
 \* p<0.05, \*\* p<0.01: vs 対照群, \$ p<0.05, \$\$ p<0.01: vs 低濃度群 (Scheffé / Non P Scheffé 多重比較検定)

表 2. 3週齢ラット ディーゼル排ガスばく露試験 臓器重量-2

解剖時体重/ 秤量臓器	DPF なし			DPF あり		
	対照群	低濃度群	高濃度群	対照群	低濃度群	高濃度群
	10 <sup>a)</sup>	10	10	10	10	10
腎臓(左)	957 ± 42 <sup>b)</sup>	943 ± 50	960 ± 34	1019 ± 74	958 ± 47	895 ± 59 <sup>**</sup>
	294 ± 10 <sup>c)</sup>	305 ± 17*	308 ± 17*	315 ± 16	303 ± 9	295 ± 10 <sup>**</sup>
腎臓(右)	969 ± 31	928 ± 51	938 ± 57	994 ± 78	930 ± 66	882 ± 46 <sup>**</sup>
	298 ± 10	300 ± 15	300 ± 12	307 ± 22	294 ± 8	291 ± 11
精巣(左)	1578 ± 54	1555 ± 50	1564 ± 47	1617 ± 99	1587 ± 63	1565 ± 43
	485 ± 14	503 ± 31	502 ± 14	495 ± 25	497 ± 17	517 ± 17 <sup>*, \$</sup>
精巣(右)	1552 ± 46	1512 ± 63	1535 ± 58	1514 ± 206	1434 ± 215	1520 ± 41
	477 ± 10	489 ± 29	492 ± 16	466 ± 53	453 ± 56	502 ± 15 <sup>*, \$\$</sup>
心臓	875 ± 29	835 ± 36*	833 ± 29 <sup>**</sup>	893 ± 43	881 ± 43	837 ± 41
	269 ± 8.1	270 ± 9.1	267 ± 10	276 ± 7	279 ± 14	276 ± 15
肝臓	9860 ± 583	9181 ± 575*	9579 ± 566	9397 ± 926	9385 ± 1006	8969 ± 40
	3030 ± 130	2966 ± 115	3070 ± 158	2896 ± 181	2965 ± 163	2956 ± 10
脳	2035 ± 22	2014 ± 24	2009 ± 49	1986 ± 141	2000 ± 37	1976 ± 32
	626 ± 16	652 ± 24*	644 ± 23	614 ± 41	635 ± 34	653 ± 19 <sup>**</sup>

a) 動物数, b) 絶対重量(mg); 平均値±SD, c) 体重比重量(mg/100g体重)  
 \* p<0.05, \*\* p<0.01: vs 対照群, \$ p<0.05, \$\$ p<0.01: vs 低濃度群 (Scheffé / Non P Scheffé 多重比較検定)

表 3. 10週齢ラット ディーゼル排ガスばく露試験 臓器重量-1

解剖時体重/ 秤量臓器	DPF なし			DPF あり		
	対照群	低濃度群	高濃度群	対照群	低濃度群	高濃度群
	10 <sup>a)</sup>	10	10	10	10	10
体重(g)	351 ± 16 <sup>b)</sup>	339 ± 9	318 ± 13 <sup>**</sup> \$	348 ± 20 <sup>b)</sup>	335 ± 15	324 ± 19 <sup>*</sup>
副腎(左)	18 ± 1.11 <sup>c)</sup>	19 ± 1.23	20 ± 1.58 <sup>*</sup>	16.9 ± 2.20 <sup>c)</sup>	18.6 ± 1.29	20 ± 2.5 <sup>**</sup>
	5 ± 0.20 <sup>d)</sup>	6 ± 0.36 <sup>*</sup>	6 ± 0.53 <sup>**</sup>	4.85 ± 0.50 <sup>d)</sup>	5.57 ± 0.48 <sup>*</sup>	6 ± 0.71 <sup>**</sup>
副腎(右)	16 ± 1.19	17 ± 1.42	17 ± 1.76	15.8 ± 1.86	17.3 ± 1.08	17 ± 3.08
	5 ± 0.38	5 ± 0.39	5 ± 0.59 <sup>**</sup>	4.55 ± 0.45	5.15 ± 0.37 <sup>*</sup>	5 ± 0.87 <sup>**</sup>
胸腺	150 ± 25	140 ± 16	123 ± 10 <sup>**</sup> \$	124 ± 14	111 ± 11	109 ± 12 <sup>*</sup>
	43 ± 7.93	41 ± 4.86	39 ± 3.60	35.7 ± 3.87	33.3 ± 3.47	34 ± 2.91
脾臓	707 ± 64	687 ± 55	629 ± 18 <sup>**</sup> \$\$	675 ± 34	672 ± 62	641 ± 52
	201 ± 14	203 ± 18	198 ± 3.9	194 ± 9.59	201 ± 22	198 ± 7
肺	904 ± 126	875 ± 57	873 ± 50	953 ± 113	1093 ± 71 <sup>**</sup>	892 ± 94 <sup>\$\$</sup>
	258 ± 35	258 ± 15	275 ± 12	273 ± 22	326 ± 19 <sup>**</sup>	275 ± 27 <sup>\$\$</sup>

a)動物数, b)平均値±SD, c)絶対重量(mg), d)体重比重量(mg/100g体重)

\* p<0.05, \*\* p<0.01: vs 対照群, \$ p<0.05, \$\$ p<0.01: vs 低濃度群 (Scheffé / Non P Scheffé 多重比較検定)

表 4. 10週齢ラット ディーゼル排ガスばく露試験 臓器重量-2

解剖時体重/ 秤量臓器	DPF なし			DPF あり		
	対照群	低濃度群	高濃度群	対照群	低濃度群	高濃度群
	10 <sup>a)</sup>	10	10	#	10	10
腎臓(左)	1099 ± 100 <sup>b)</sup>	997 ± 39 <sup>*</sup>	966 ± 52 <sup>**</sup>	1041 ± 71	990 ± 80	965 ± 69
	313 ± 24 <sup>c)</sup>	295 ± 7.6	304 ± 16 <sup>*</sup>	298 ± 11	295 ± 15	289 ± 18
腎臓(右)	1087 ± 97	973 ± 32 <sup>*</sup>	945 ± 44 <sup>**</sup>	1012 ± 74	968 ± 82	949 ± 54
	310 ± 25	287 ± 6.5	297 ± 16	290 ± 12	298 ± 14	293 ± 11
精巣(左)	1666 ± 66	1629 ± 60	1592 ± 64 <sup>*</sup>	1736 ± 307	1663 ± 63	1650 ± 62
	475 ± 23	481 ± 14	501 ± 19 <sup>*</sup>	499 ± 93	496 ± 21	511 ± 26 <sup>*</sup>
精巣(右)	1601 ± 68	1583 ± 47	1572 ± 47	1625 ± 78	1609 ± 71	1598 ± 53
	457 ± 22	468 ± 14	495 ± 16 <sup>**</sup> \$	467 ± 22	488 ± 18	495 ± 26 <sup>*</sup>
心臓	909 ± 47	871 ± 43	837 ± 32 <sup>**</sup>	913 ± 66	916 ± 52	875 ± 61
	259 ± 8.6	257 ± 7.5	263 ± 7.6	262 ± 10	273 ± 15	270 ± 10
肝臓	9981 ± 693	9654 ± 512	9021 ± 450 <sup>**</sup>	9578 ± 764	9420 ± 673	8972 ± 780
	2843 ± 122	2850 ± 103	2837 ± 78	2744 ± 93	2808 ± 120	2766 ± 93
脳	2093 ± 42	2054 ± 34	2009 ± 47 <sup>**</sup>	2038 ± 57	2044 ± 44	2050 ± 26
	597 ± 22	607 ± 13	632 ± 21 <sup>**</sup> \$	586 ± 28	611 ± 23	635 ± 34 <sup>**</sup>

a)動物数, b)絶対重量(mg);平均値±SD, c)体重比重量(mg/100g体重)

\* p<0.05, \*\* p<0.01: vs 対照群, \$ p<0.05, \$\$ p<0.01: vs 低濃度群 (Scheffé / Non P Scheffé 多重比較検定)

表5 3週齢ラットの呼吸器系の組織変化のまとめ

	DPF なし			DPF あり		
	対 照	低濃度	高濃度	対 照	低濃度	高濃度
	10 <sup>a)</sup>	10	10	10	10	10
<b>鼻腔～細気管支</b>						
粘膜細胞浸潤(好中球/好酸球)						
鼻腔 I～Ⅲ	- <sup>b)</sup> 10 <sup>c)</sup>	10	10	10	10	10
気管 I～Ⅲ(気管支)	-	10	10	10	10	10
細気管支 I～Ⅱ	-	10	10	10	10	10
杯細胞の増加						
鼻腔 II(呼吸上皮)	-	10	10	10	10	10
気管 I～Ⅲ(気管支)	-	10	10	10	10	10
細気管支 I～Ⅱ	-	10	10	10	10	10
<b>肺胞壁の肥厚(炎症病変)</b>						
肺胞管～肺胞領域	-	3 <sup>c)</sup>	0	0	7	0
	±	5	5	3	1	0
	+	2	5	7	2	0
	++	0	0	0	0	10
被膜(胸膜)下(散発性)	-	8	7	7	8	4
	+	2	2	3	2	4
	++	0	1	0	0	2
<b>肺胞内大食細胞の存在</b>						
散在性	-	0	0	0	0	0
	+	10	10	0	10	0
	++	0	0	10	0	10
集簇性	-	0	0	0	0	0
	±	10	10	0	10	0
	+	0	0	10	0	0
	++	0	0	0	10	0
<b>肺内の黒色粒子の沈着</b>						
気管周囲結合組織/リンパ組織	-	10	0	0	10	0
	+	0	10	0	0	10
	++	0	0	10	0	0

a) 観察動物数, b) 肺組織変化の程度, -変化なし, ±極軽度, +軽度, ++中等度

c) 変化が見られた動物数

観察部位 : 鼻 腔, I 切歯直後(扁平上皮), II 切歯乳頭部(呼吸上皮), III 第一臼歯部(嗅上皮)  
 気 管, I 前部 1/2 の中央部, II 後部 1/2 の中央部, III 気管支中央部



表6 10週齢ラットの呼吸器系の組織変化のまとめ

	DPF なし			DPF あり				
	対 照	低濃度	高濃度	対 照	低濃度	高濃度		
	10 <sup>a)</sup>	10	10	10	10	10		
<b>鼻腔～細気管支</b>								
粘膜細胞浸潤(好中球/好酸球)								
鼻腔	I～III	- <sup>b)</sup> 10 <sup>c)</sup>	10	10	10	10		
気管	I～III(気管支)	-	10	10	10	10		
細気管支	I～II	-	10	10	10	10		
杯細胞の増加								
鼻腔	II(呼吸上皮)	-	10	10	10	10		
気管	I～III(気管支)	-	10	10	10	10		
細気管支	I～II	-	10	10	10	10		
<b>肺胞壁の肥厚(炎症病変)</b>								
肺胞管～肺胞領域		-	3 <sup>c)</sup>	0	0	6	0	0
		±	5	5	3	2	0	1
		+	2	5	7	2	0	9
		++	0	0	0	0	10	0
被膜(胸膜)下(散発性)		-	8	7	7	8	4	0
		+	2	2	3	2	4	5
		++	0	1	0	0	2	0
<b>肺胞内大食細胞の存在</b>								
散在性		-	0	0	0	0	0	0
		+	10	10	0	10	10	0
		++	0	0	10	0	0	10
集簇性		-	0	0	0	0	0	0
		±	10	10	0	10	0	0
		+	0	0	10	0	0	10
		++	0	0	0	0	10	0
<b>肺内の黒色粒子の沈着</b>								
気管周囲結合組織/リンパ組織		-	10	0	0	10	0	0
		+	0	10	0	0	10	0
		++	0	0	10	0	0	10

a) 観察動物数, b)肺組織変化の程度, -変化なし, ±極軽度, +軽度, ++中等度

c)変化が見られた動物数

観察部位 : 鼻 腔, I 切歯直後(扁平上皮), II 切歯乳頭部(呼吸上皮), III 第一臼歯部(嗅上皮)

気 管, I 前部 1/2 の中央部, II 後部 1/2 の中央部, III 気管支中央部

細気管支, I 管径 250-300 μm, II 呼吸細気管支

表 7. 3週齢ラットの鼻腔, 気管・気管支および細気管支粘膜上皮の厚さ及び肺内大食細胞数

	DPF なし			DPF あり		
	対 照	低濃度	高濃度	対 照	低濃度	高濃度
	$\mu\text{m}$			$\mu\text{m}$		
鼻 腔 I (重層扁平上皮)	13.88 ± 1.84	15.14 ± 2.05	14.41 ± 2.52	18.05 ± 0.74	19.51 ± 3.46	19.05 ± 1.70
II (呼吸上皮)	17.02 ± 0.86	19.05 ± 2.72	21.04 ± 1.76*	17.46 ± 0.85	25.23 ± 3.44*	21.96 ± 1.84
III (嗅上皮)	45.82 ± 3.63	44.55 ± 2.02	43.12 ± 5.57	59.13 ± 2.80	56.17 ± 5.86	54.2 ± 1.09
気 管 I	9.8 ± 0.72	10.63 ± 0.65	11.46 ± 0.75*	8.59 ± 0.41	9.53 ± 0.87	9.61 ± 0.95
II	7.74 ± 0.69	7.68 ± 0.29	7.92 ± 0.55	7.44 ± 0.21	7.63 ± 0.42	8.07 ± 0.29
III	6.47 ± 0.65	6.63 ± 0.46	7.04 ± 0.67	6.27 ± 0.59	6.54 ± 0.47	7.46 ± 0.80
細気管支 I	8.77 ± 0.09	9.58 ± 0.59	9.68 ± 0.43	9.83 ± 0.17	10.49 ± 0.45	10.26 ± 0.29
II	5.52 ± 0.72	6.05 ± 0.47	5.62 ± 0.46	6.03 ± 0.61	6.04 ± 0.47	6.37 ± 0.19
肺胞領域大食細胞数	個/250 $\mu\text{m}^2$			個/250 $\mu\text{m}^2$		
近位部	5.34 ± 0.29	5.91 ± 0.44	7.78 ± 0.31**##	5.23 ± 1.03	8.08 ± 1.18	9.21 ± 1.46**
遠位部 (辺縁)	5.92 ± 0.57	6.39 ± 0.29	8.24 ± 0.78**##	6.63 ± 1.35	8.48 ± 0.38	9.79 ± 103**

観察部位 : 鼻 腔, I 切歯直後, II 切歯乳頭部, III 第一臼歯部  
 気 管, I 上部, II 下部, III 気管支中央部  
 細気管支, I 管径250-300  $\mu\text{m}$ , II 呼吸細気管支  
 \*p < 0.05, \*\*p < 0.01 vs. 対照群 ; ##, p < 0.01 vs. 低濃度群

表 8. 10週齢ラットの鼻腔, 気管・気管支および細気管支粘膜上皮の厚さ及び肺内大食細胞数

	DPF なし			DPF あり		
	対 照	低濃度	高濃度	対 照	低濃度	高濃度
	$\mu\text{m}$			$\mu\text{m}$		
鼻 腔 I (重層扁平上皮)	15.05 ± 1.09	13.57 ± 2.70	14.40 ± 1.22	16.00 ± 2.60	16.50 ± 5.82	15.95 ± 1.76
II (呼吸上皮)	17.45 ± 0.32	17.23 ± 0.87	21.03 ± 1.64**##	17.75 ± 2.13	21.87 ± 2.25*	20.32 ± 2.57
III (嗅上皮)	43.13 ± 2.43	44.08 ± 5.02	44.55 ± 2.29	58.23 ± 5.82	51.12 ± 6.34	51.38 ± 4.57
気 管 I	9.54 ± 1.45	11.2 ± 0.90	12.54 ± 0.48**	8.02 ± 0.70	9.67 ± 0.20*	9.22 ± 1.07
II	7.62 ± 0.33	7.39 ± 0.91	7.82 ± 0.72	7.85 ± 0.40	7.07 ± 0.39	7.20 ± 0.79
III	7.01 ± 0.40	6.98 ± 0.54	7.23 ± 1.20	6.48 ± 0.42	7.02 ± 0.88	6.79 ± 0.63
細気管支 I	9.55 ± 0.34	8.92 ± 0.51	9.71 ± 0.85	9.15 ± 1.01	9.69 ± 0.76	9.99 ± 1.32
II	5.68 ± 0.22	5.28 ± 0.42	5.89 ± 0.44	5.77 ± 0.79	6.44 ± 1.26	5.84 ± 0.34
肺胞領域大食細胞数	個/250 $\mu\text{m}^2$			個/250 $\mu\text{m}^2$		
近位部	6.24 ± 0.88	6.80 ± 0.92	9.20 ± 0.66**##	4.23 ± 0.86	8.83 ± 0.72**	8.26 ± 1.73**
遠位部 (辺縁)	6.61 ± 0.82	6.34 ± 0.66	9.70 ± 1.06**##	5.79 ± 1.78	8.10 ± 1.35*	9.54 ± 1.39**

観察部位 : 鼻 腔, I 切歯直後, II 切歯乳頭部, III 第一臼歯部  
 気 管, I 上部, II 下部, III 気管支  
 細気管支, I 管径250-300  $\mu\text{m}$ , II 呼吸細気管支  
 \*p < 0.05, \*\*p < 0.01 vs. 対照群 ; ##, p < 0.01 vs. 低濃度群

## IV 免疫学的検討

### 実験方法

#### 1. 末梢血中の白血球の分析

末梢血は下肢静脈から抗凝固剤として EDTA を添加した試験管に採血し、フローサイトメリーで測定するために、白血球を蛍光標識した抗体で染色した。血液 0.1 ml に、FITC 標識 anti-rat CD3、PE 標識 anti-rat CD4、FITC 標識 anti-rat CD8、PE 標識 anti-rat CD45RA または FITC 標識 anti-rat 顆粒球を加え室温で 30 分インキュベーションした後、4 ml の溶血液(Tris 1 g, NH<sub>4</sub>Cl 2.8 g /500 ml)を加えて 10 分放置して赤血球を溶血後、同量の PBS で希釈し、1,200 rpm、5 min で遠心し、結合しなかった蛍光標識抗体を除いた。さらに細胞は 4 ml の 0.5% BSA を含む PBS で 1,200 rpm、5 min で 2 回洗浄し、450  $\mu$ l の 0.5% BSA を含む PBS に再浮遊した。蛍光染色した細胞はフローサイトメリー (Cell Lab Quanta SC, ベックマン・コールター社製) で測定した。細胞数も同時に計測した。細胞の大きさと、細胞内密度の程度で白血球画分を決定した。白血球画分のうち、それぞれの抗体で染色された細胞の割合を測定し、数を計算した。

#### 2. 血清中の総 IgE 量の分析

血清中の総 IgE 量を ELISA キット(BETHYL Lab. Inc.)で測定した。血清は添付の希釈液で 5 倍に希釈して測定した。方法は添付のプロトコールにしたがって行った。

#### 3. 肺胞洗浄液中の細胞の計測とサイトカインの分析

肺胞は 10ml の BALF 洗浄液(0.3%BSA と 0.05mM EDTA-2K を含む PBS)で 6 回洗浄した。それぞれ 1000 rpm x 10 min で遠心して洗浄液中に含まれる細胞と洗浄液を分離した。細胞は 1 本の試験管にまとめて、100ul になるように BALF 洗浄液に再浮遊して、細胞数の計測と、細胞観察用のスミア標本を作製した。BALF 洗浄液の最初の 10ml から 50-100ul を使用して BALF 洗浄液中に含まれるサイトカインを ELISA キットで検出し

た。IL5 と IL13 は CUSABIO BIOTECH 社製、IL17 は eBioscience 社製、IL4、IL10 と IFN  $\gamma$  は R&D Systems 社製、IL1b、IL6 と TNF  $\alpha$  は Thermo Scientific 社製、MCP-1 は Bender MedSystems 社製(フィルター装着時)と Thermo Scientific 社製(フィルター非装着時)、GRO/CINC-1 は GE Healthcare 社製を使用した。方法はそれぞれの添付のプロトコールにしたがって行った。

#### 4. 肺胞細胞の観察

ばく露開始時 3 週齢ラットの DPF 非装着群の清浄空気群と高濃度ばく露群の肺胞細胞を Hoechst 33342(同仁社製)で核を Lyso-ID Red dye(フナコシ社製)でライソゾームを染色し共焦点レーザー顕微鏡で観察した。無染色の細胞をさらに 9 日間培養して固定後、Hoechst 33342 で核を FITC-phalloidine でアクチン繊維を染色し共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

#### 5. 血清中の LDH 及び A/G 比の測定

10 週齢ラット血清の DPF なしとありについて、測定キットでオートアナライザーにて測定した。

### 結果

結果については、DPF 装着の結果と比較したものを併せて示した。DPF 非装着(DPF なし)、DPF 装着(DPF あり)、清浄空気ばく露(空気)、ディーゼル排気ガスばく露(ガス)、ばく露開始時 3 週齢(3W)、ばく露開始時 10 週齢(10W)と略す。

#### 1. 末梢血中の白血球の分析

(1) 清浄空気ばく露群を対照として: DPF あり・なし 3W ラット群内及び 10W ラット群内での比較

末梢血中の白血球の数は、DPF なしでは、3W ラットでは高濃度ばく露群で、10W ラットでは低濃度と高濃度ばく露群で減少傾向を示したが有意ではなかった。DPF ありでは、3W ラットの高濃度ばく露群で、10W ラットの低濃度と高濃度ばく露群の両方で有意に減少した(図 1 左上)。T 細胞(CD4 と CD8)の数は、DPF なし 3W ラットの低濃度群以外で、減少傾向を示した。一方、10W ラットの高濃度群では DPF あり・なしにかかわらず有意に減少した(図 1 左下)。T 細胞のうち

CD4 は DPF なし 3W ラット低濃度群以外で減少し、10W ラットの DPF あり低濃度と高濃度群で有意に減少した(図 2 左上)。T 細胞のうち CD8 は 10W ラットの DPF あり・なしの高濃度群で有意に減少した(図 2 左下)。B 細胞の数は、DPF なし 3W ラット低・高濃度群以外で有意に減少していた(図 1 右下)。顆粒球数は 3W ラットの DPF あり低濃度群で有意に増加し、他は変化しなかった(図 1 右上)。白血球の数は減少しているのに、白血球中の顆粒球数の割合は増加していた。

(2) DPF なしを対照として:3W ラットでの DPF あり及び 10W ラット DPF ありとの比較

DPF なしに比べて、DPF ありに数の減少が観察されたのは、白血球数では 3W ラットの高濃度群と 10W ラット低濃度及び高濃度群、T 細胞では 10W ラット低濃度及び高濃度群、CD4 と CD8 では 10W ラット高濃度群、B 細胞では 10W ラット低濃度と高濃度群であった(図 1 と 2)。

## 2. 肺胞洗浄液中の細胞数

DPF なしの DEP ばく露では、3W ラットでは、ばく露濃度に相関して細胞数が清浄空気ばく露に比べ有意に増加したが、10W ラットに変化は認められなかった。

DPF ありの細胞数については、機器による計測を行ったが、計測範囲外であったため、データを得ることが出来なかった(図 3)。

## 3. 血清中の総 IgE 量の分析、

血清中の IgE 量は、ディーゼル排ガスをばく露した動物では DPF あり・なし共に喘息・アレルギー疾患の亢進を示す増加は観察されなかった。むしろ、清浄空気ばく露の動物より低下傾向を示した(図 3)。DPF ありとなしで比較すると DPF あり 3W ラットの高濃度ばく露群で有意に減少した(図 4)。

## 4. 肺胞洗浄液中のサイトカインの分析

Th1 サイトカイン(細胞性免疫を制御)として IFN $\gamma$  を Th2 サイトカイン(液性免疫を制御)として IL4、IL5、IL10 と IL13 を、炎症性サイトカインとして IL1b、IL6、CRO/CINC-1(IL8)、IL17、TNF $\alpha$  と MCP-1 を測定した(図 5)。Th1 サイトカイン(IFN

$\gamma$ )、Th2 サイトカイン(IL4、IL5、IL10、IL13)と炎症性サイトカインのうち IL1b は検出限界以下であったため図には示していない。

IL6、IL8、IL17 はいずれの条件でも変化は 2 倍以下で差は少なかった。

MCP-1 は 3W ラット DPF ありとなしの高濃度群と 10W ラット DPF なしの高濃度群で有意に増加した。清浄空気をばく露した 3W 及び 10W ラットの DPF ありとなしを 1 とした時、3W ラットでの DPF ありとなし間、10W ラットでの DPF ありとなし間を比較すると、DPF ありの方が低い結果であった(図 6)。

TNF $\alpha$  は 3W と 10W ラットの DPF なしで一定の傾向がみられなかった。

## 4. 肺胞マクロファージの観察

DPF 非装着ばく露のマクロファージはディーゼル排ガス粒子を細胞質に多く貪食していた(図 7)。また、9 日間培養後もディーゼル排ガス粒子を細胞質に多く貪食したまま生存していた(図 8)。

## 5. 血清中 LDH 及び A/G 比

10W ラットの DPF あり・なしについて血清中の LDH 及び A/G 比を測定した。DPF あり・なしともに清浄空気群との比較において、低濃度及び高濃度群に有意差は認められなかったが、DPF ありで、LDH の値がディーゼル排気ガスばく露群でやや低値であった(表 1)。

## 考察

DPF あり・なしディーゼル排気ガス 90 日間ばく露をおこない、免疫系への影響を調べた。DPF あり・なしともディーゼル排気ガスばく露でほぼ同様の傾向を示した。すなわち、末梢血中の白血球数は DPF あり・なし共に減少し、DPF ありの方が減少の程度はやや大きかった。白血球の中でも、T 細胞と B 細胞が減少した。B 細胞数は、高濃度ばく露群で対照群の約半数に減少した。それに対し、顆粒球はわずかに増加する傾向を示し、白血球中の割合は増加した。T 細胞と B 細胞の減少に一致して、血清中の総 IgE 抗体量が減少していたが、どの場合も血清中の IgE 抗体量自体が少なかった。一般的にはぜん息やアレルギー疾患時には

IgE の上昇がみられるが、DPF あり・なしディーゼル排気ガス 90 日間ばく露では血清中に IgE の増加は見られず喘息やアレルギー疾患の亢進は観察されなかった。むしろ、T 細胞と B 細胞及び IgE 抗体の減少は、DPF ありディーゼル排気ガス 90 日間ばく露が免疫機能を低下させている可能性を示唆している。白血球にしめる顆粒球の割合の増加がわずかに認められ、DPF ありディーゼル排気ガスという異物の肺への侵入が、肺での炎症の存在を示唆している。

肺胞洗浄液中のサイトカインは、Th1 サイトカインと Th2 サイトカインは検出限界以下であり、Th1 と Th2 細胞の関与はないと考えられる。炎症性サイトカインのうち、IL1b は検出限界以下であったが、測定可能であったサイトカインもいずれも、対照群にくらべて 2 倍程度の変化であり、炎症性サイトカインの作用は少ないと考えられた。

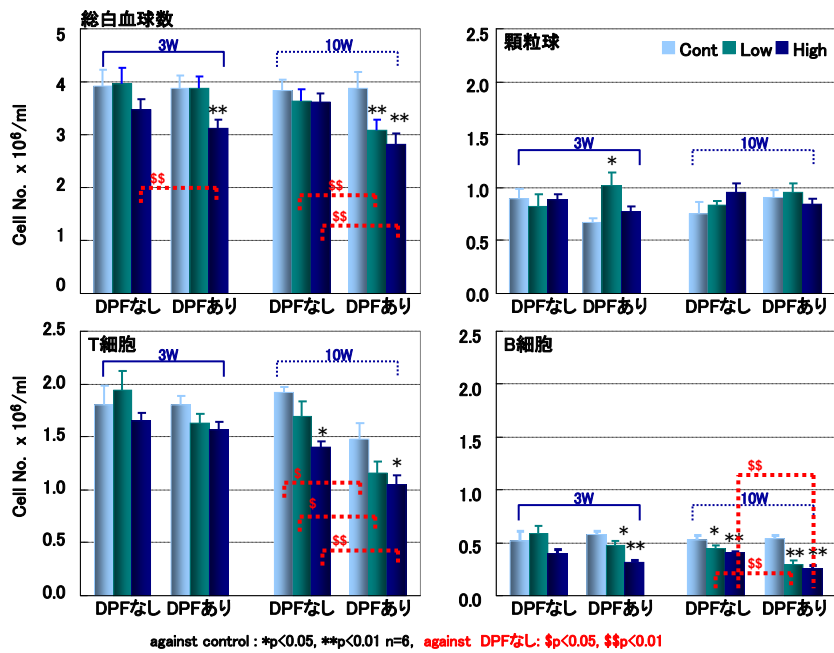


図1 ディーゼル排気ガス 90 日間ばく露後の末梢血中の白血球数

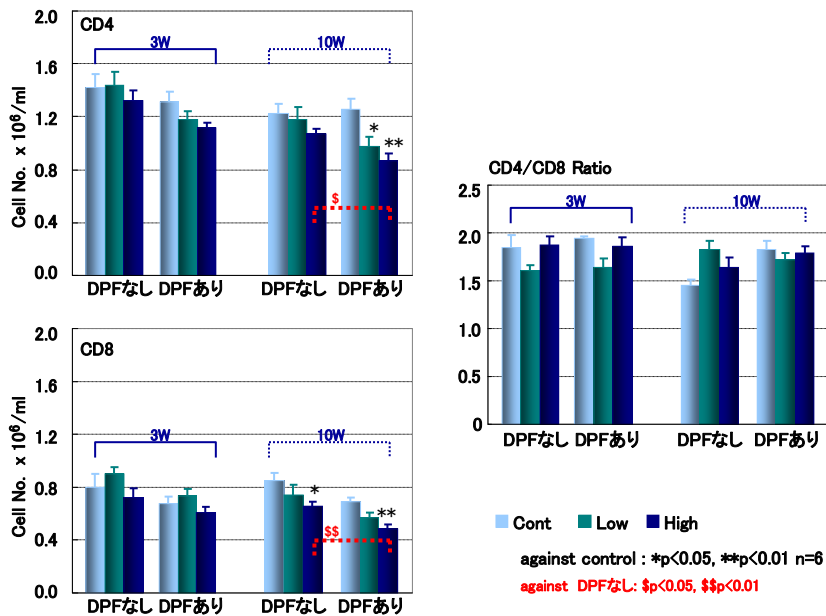


図2 ディーゼル排気ガス 90 日間ばく露後の T 細胞中の CD4 と CD8 細胞数

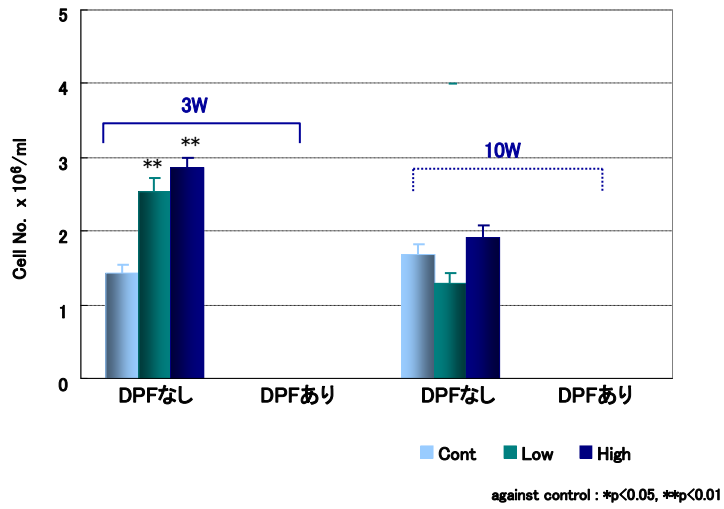


図3 肺洗浄液中の細胞数

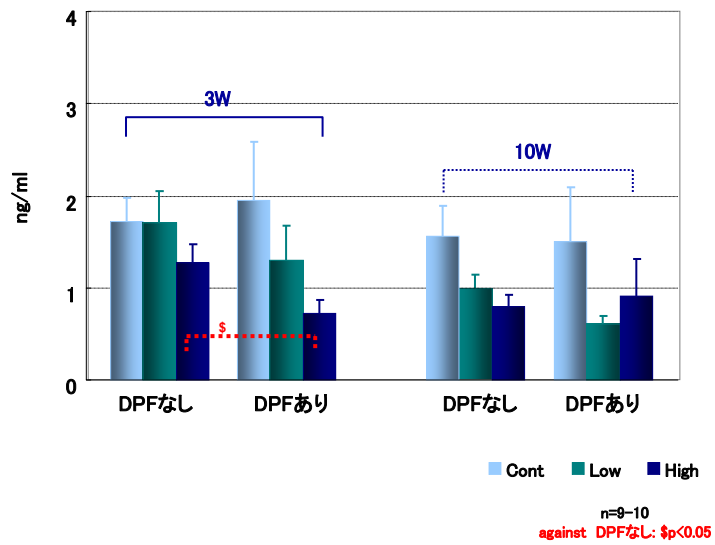


図4 血清中の総IgE量

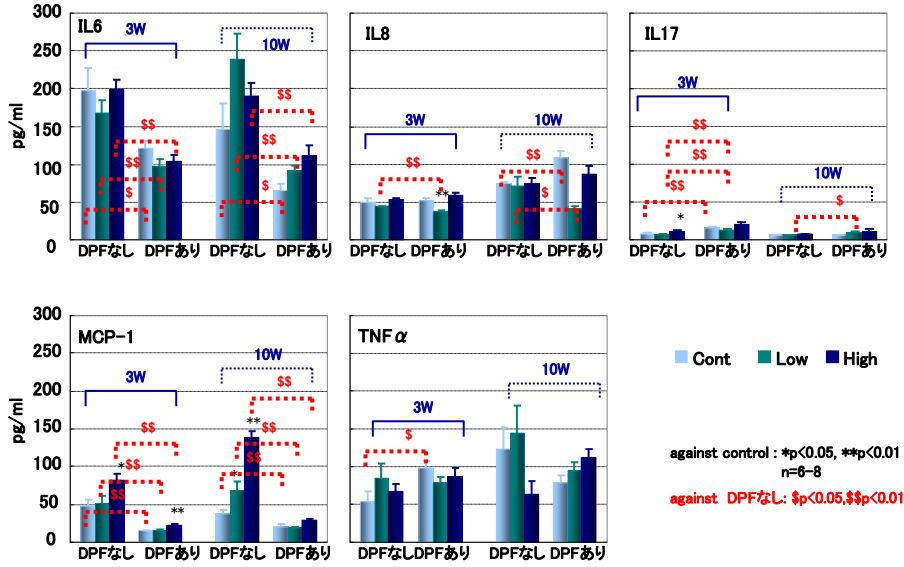


図5 肺洗浄液中のサイトカイン量

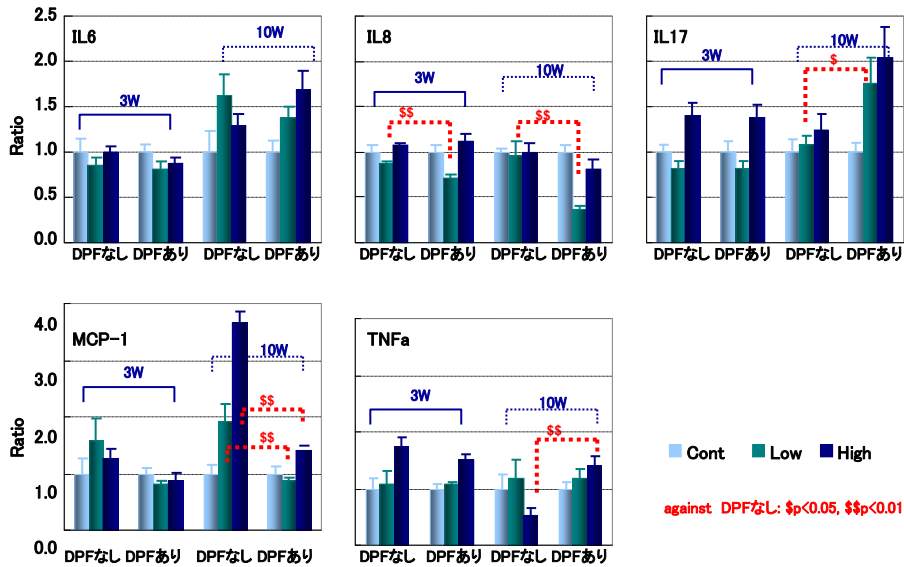
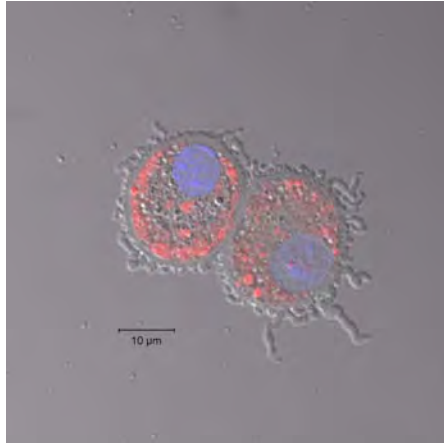
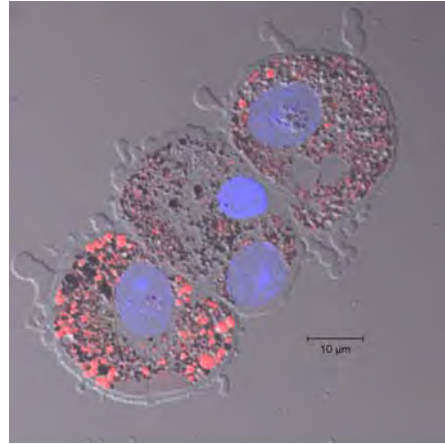


図6 肺洗浄液中のサイトカイン量  
それぞれの control を 1 として、フィルター有り無しの比較





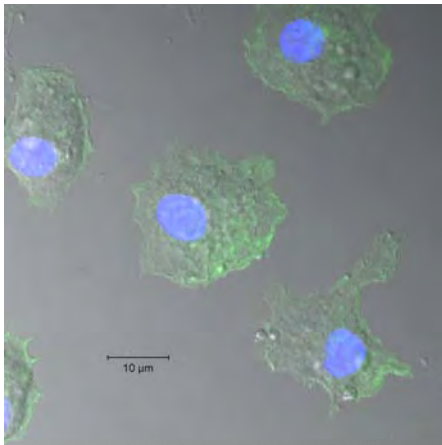
清浄空気



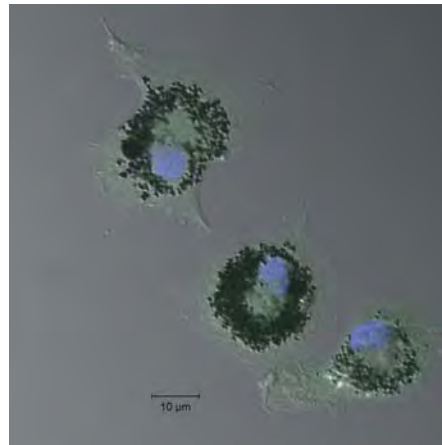
ディーゼルばく露（3週齢高濃度ばく露

核：青、ライソゾーム：赤

図7 肺胞マクロファージ 採取当日



清浄空気



ディーゼルばく露

核：青、アクチン：緑

図8 肺胞マクロファージ 採取後9日間培養

表 1 血清中の LDH 及び A/G 比

**血清中のA/G比及びLDHの測定(DPFなし)**

10週齢	LDH	TP	ALB	TP-ALB =globulin	A/G比
清浄空気群	788	6.54	4.88	1.65	2.95
低濃度群	796	6.39	4.84	1.55	3.12
高濃度群	762	6.37	4.86	1.51	3.22

**血清中のA/G比及びLDHの測定(DPFあり)**

10週齢	LDH	TP	ALB	TP-ALB =globulin	A/G比
清浄空気群	708.2	6.96	4.26	2.70	1.58
低濃度群	667.1	6.80	4.20	2.61	1.61
高濃度群	658.4	6.86	4.23	2.63	1.62

## V 生化学的検討

### 実験方法

#### 1. 遠心分離

BALFを1分間に1,000回転の速度で遠心分離し沈渣(細胞成分)と上清に分画した。細胞成分と上清それぞれについて、過酸化脂質量、たんぱく量およびミエロペロキシダーゼ活性を測定した。

#### 2. 過酸化脂質の定量

洗浄液 0.1 ml にチオバルビツール酸試薬 2 ml を添加し沸騰水中で 15 分間加熱後、n-ブタノールで反応生成物を抽出し蛍光光度計で定量した。

#### 3. たんぱく質の定量

細胞成分のたんぱく量は定法である Lowry 法により定量した。上清については、洗浄液にアルブミンを添加しているためグロブリンを定量して総たんぱく量に代えた。グロブリンは、洗浄液 0.5 ml を 50%飽和硫酸アンモニウム溶液で塩析後、Lowry 法により定量した。

#### 4. ミエロペロキシダーゼ活性測定

過酸化水素および  $\sigma$ -ジアニシジンを含む反応混液に、上清あるいは界面活性剤処理した細胞成分を添加し、 $\sigma$ -ジアニシジンの酸化を分光法により測定し、ミエロペロキシダーゼ活性とした。結果は、全細胞成分当たり、ml BALF 当たり、mg たんぱく当たりで表した。

#### 5. 統計

データは 10 匹の平均値±標準偏差で示し、有意差検定は Dunnett の多重比較により行い、有意水準を 5%とした。

### 結果

#### 1. 細胞成分

過酸化脂質量は、DPFなし群では有意な変化を示さなかった。DPFあり群では10週齢および3週齢とも、低濃度ばく露で有意に増加した。たんぱく量は、DPFなし群では10週齢および3週齢とも、高濃度ばく露で有意に増加した。DP

Fあり群では10週齢高濃度群で増加し、3週齢高濃度群で減少した。全細胞当たりのミエロペロキシダーゼ活性は、DPFなし群では10週齢低濃度群で有意に増加した。DPFあり群では10週齢および3週齢とも、低濃度群で有意に減少し、3週齢高濃度群でも有意に減少した。たんぱく当たりのミエロペロキシダーゼ活性は、DPFなし群では10週齢低濃度群で有意に増加、3週齢高濃度群で有意に減少した。DPFあり群では10週齢低濃度群で有意に減少した(図1)。

#### 2. 上清

過酸化脂質量は、DPFなし群では有意な変化を示さなかった。DPFあり群では3週齢高濃度群で減少した。グロブリン量はDPFなし群では有意な変化を示さなかった。DPFあり群では10週齢および3週齢とも、高濃度群で有意に減少した。BALF 1ml 当たりのミエロペロキシダーゼ活性は、DPFなし群では有意な変化を示さなかった。DPFあり群では10週齢および3週齢とも、低濃度群で有意に減少した。たんぱく当たりのミエロペロキシダーゼ活性は、DPFなし群では有意な変化を示さなかった。DPFあり群では10週齢低濃度群で有意に減少し、3週齢高濃度群で有意に増加した(図2)。

### 考察

1. 酸化ストレスの惹起が考えられるのは、DPFあり群の3週齢および10週齢低濃度ばく露群の細胞成分においてである。

2. たんぱく量は、DPFなし群の高濃度ばく露群細胞成分における増加が顕著である。DPFあり群では特に3週齢細胞成分において減少した。

3. 細胞成分におけるミエロペロキシダーゼ活性については、DPFなし群での増加が顕著であった。

4. 上清のグロブリン当たりのミエロペロキシダーゼ活性は、DPFあり群の高濃度群でのみ増加が認められた。この群におけるグロブリン量の減少

が反映しているものと推測される。

5. 上記2、3より、DPFあり群における炎症減弱が多少みとめられ、DPF装着の効果が推定された。

## VI 参考文献

1) 日本呼吸器学会 COPD ガイドライン第3版  
作成委員会:COPD(慢性閉塞性肺疾患)診断と  
治療のためのガイドライン第3版,メディカルレビ  
ュー社.

2) 前島一仁, 机 直美, 伊藤 剛, 加藤温中,  
奥村弘樹: 最新のディーゼルエンジン排気が喘  
息用病態(気道リモデルリング)に及ぼす影響,  
自動車研究, 30, 225-228, 2008.

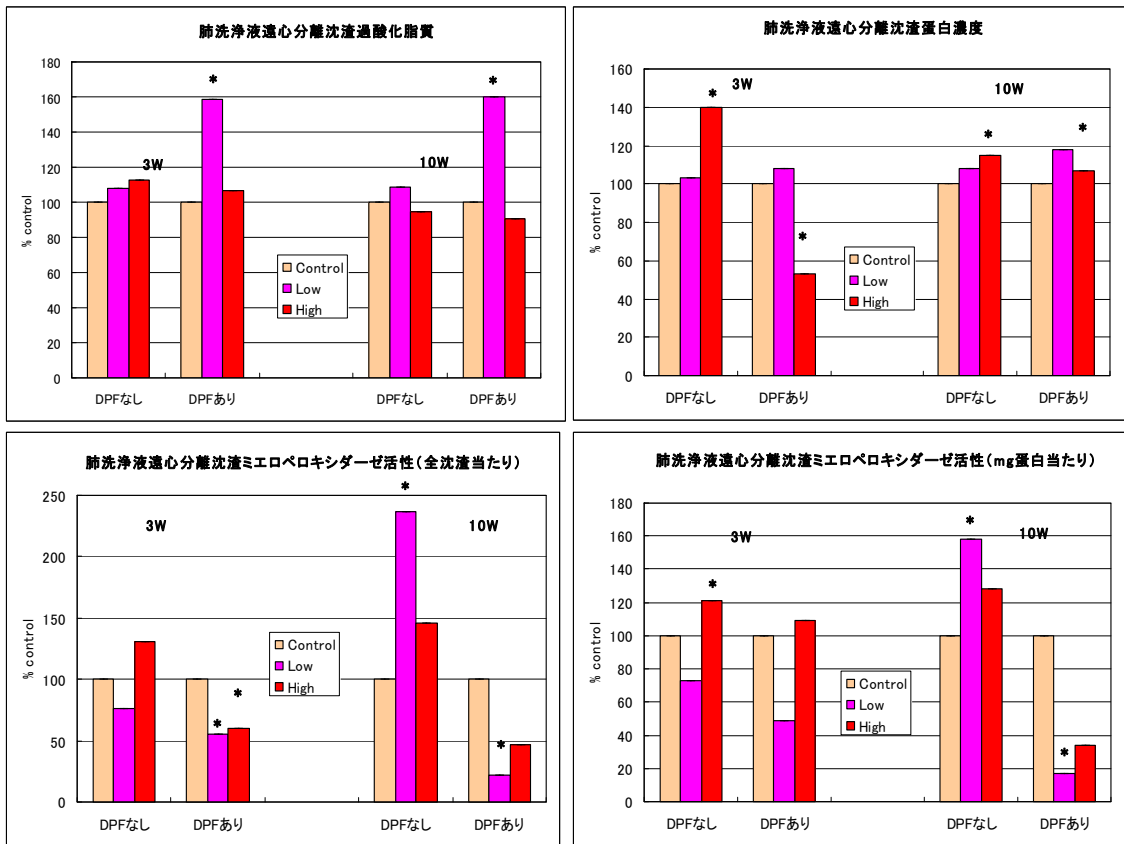


図1 F344雄ラット気管支肺胞洗浄液遠心分離沈渣(細胞成分)の過酸化脂質量、たんぱく量、ミエロペロキシダーゼ活性。\*印は、それぞれの control 群に対してDunnnett多重比較検定によって有意差のあることを示す(\*P<0.05)。

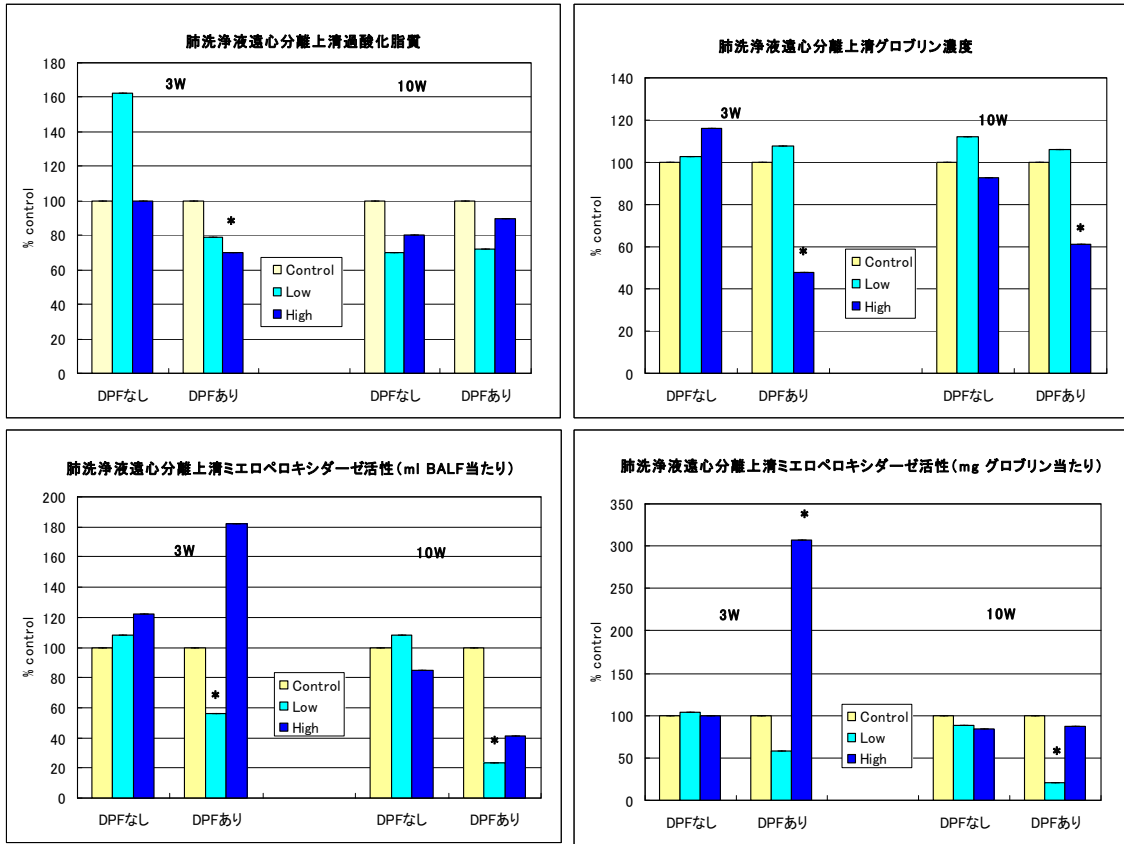


図2 F344雄ラット気管支肺胞洗浄液遠心分離上清の過酸化脂質量、グロブリン量、ミエロペロキシダーゼ活性。\*印は、それぞれの control 群に対してDunnett多重比較検定によって有意差のあることを示す(\*P<0.05)。