

令和3年度
東京都環境保健対策専門委員会
第1回大気汚染保健対策分科会
会議録

令和3年9月8日
東京都福祉保健局

(午前 9時57分 開会)

○環境保健事業担当課長 それでは、定刻より少し早いですけれども、本日、ご出席予定の委員の皆様、お集まりいただきましたので、ただいまより令和3年度東京都環境保健対策専門委員会第1回大気汚染保健対策分科会を開催させていただきます。

私は福祉保健局健康安全部環境保健事業担当課長の金子と申します。よろしくお願いいたします。議事に入りますまでの間、進行を務めさせていただきます。

まず初めに注意事項がございます。本日の会議はWEB会議形式での開催となります。録画、録音、スクリーンショット等による記録はご遠慮いただきますようお願いいたします。

また、円滑に進められるよう努めてまいりますけれども、機器の不具合等により、映像が見えない、音声聞こえない等ございましたら、その都度、事務局のほうにお伝えいただければと思います。

WEB会議を行うに当たりまして、委員の皆様には3点お願いがございます。

まず1点目は、ご発言の際には挙手ボタンを押していただき、委員長からの指名を受けてからご発言いただきますようお願いいたします。

2点目は、議事録作成のため速記が入っております。ご発言の際は、必ずお名前をおっしゃってから、なるべく大きな声ではっきりとご発言いただきますようお願いいたします。

3点目は、議事に入りましたら、ご発言の際以外はマイクとカメラをオフにさせていただきますようお願いいたします。

続きまして、本日、配付させていただいております資料の確認をさせていただきます。事前に皆様に郵送させていただいております資料につきましては、クリップ止めで1冊となっておりますけれども、まず次第と委員の名簿がございます。右上に資料番号を記載してございますけれども、資料が1から5、また参考資料が1から3となっております。不足等ございませんでしょうか。

それでは、議事に先立ちまして、健康安全部長の藤井よりご挨拶を申し上げます。

○健康安全部長 健康安全部長の藤井でございます。委員の皆様にはお忙しい中、令和3年度第1回大気汚染保健対策分科会にご出席いただきまして、厚く御礼を申し上げます。会議に先立ちまして、一言ご挨拶を申し上げます。

東京都では、大気汚染保健対策としまして、大気汚染物質の健康影響に関する調査・研究に取り組むとともに、大気汚染に係る健康障害者に対する医療費の助成に関する条例に基づきまして、気管支ぜん息患者などへの医療費助成を行っております。調査・研究につきましては、令和2年度からPM中の硫酸水素アンモニウムをテーマといたしまして、4か年計画で健康影響を調査しているところです。

今回の分科会では、令和3年度、これまでに実施しました生体影響調査の結果を中心

にご報告させていただきます。併せて今後の研究計画について、ご説明させていただきます。

時間も限られるところですが、専門的な立場から活発なご意見、ご提案をいただければ幸いです。

本日は、どうぞよろしくお願いいたします。

○環境保健事業担当課長 続きまして、委員のご紹介をさせていただきます。委員名簿の順で出席者をご紹介します。音声の確認を兼ねて、マイクをオンにして一言お話しいただければと思います。

安達委員でございます。

○安達委員 安達でございます。よろしくお願いいたします。

○環境保健事業担当課長 内山委員でございます。

○内山委員 内山でございます。よろしくお願いいたします。

○環境保健事業担当課長 松木委員でございます。

○松木委員 松木でございます。本日はよろしくお願い申し上げます。

○環境保健事業担当課長 柳澤委員でございます。

○柳澤委員 環境研の柳澤でございます。本日はよろしくお願いいたします。

○環境保健事業担当課長 山下委員でございます。

○山下委員 武蔵野大学の山下です。よろしくお願いいたします。

○環境保健事業担当課長 杉山委員、中井委員、新田委員につきましては、本日、ご都合によりご欠席となっております。また、名簿の試験研究担当、事務局の紹介につきましては、お手元に配付させていただいております名簿にて代えさせていただきます。

それでは、議事の進行につきましては安達委員長にお願いしたいと思います。

安達委員長、どうぞよろしくお願いいたします。

○安達委員長 よろしくよろしくお願いいたします。

次第に従いまして、本日の議事を進行いたします。ご協力よろしくお願いいたします。

議事に入る前に委員の皆様を確認をしたいと思います。

東京都環境保健対策専門委員会設置要綱の第10によりますと、会議及び議事録は原則公開となっておりますが、ご異議はございませんでしょうか。特にご発言なければ、ご賛同いただけたということで進めさせていただきます。

(異議なし)

○安達委員長 それでは、議事に入らせていただきたいと思います。まず、議事(1)の大気汚染保健対策に係る基礎的実験的研究について、説明をお願いいたします。

○事務局 それでは、議事(1)大気汚染保健対策に係る基礎的実験的研究について、ご説明させていただきます。

お手元の資料1をご覧くださいませか。

大気汚染保健対策に係る基礎的実験的研究について、現在、令和2年度から令和5年

度までの計画として実施をしております。

目的といたしましては、PM中に含まれる硫酸水素アンモニウムについて、大気中の実態調査やばく露実験を行いまして、その健康影響について調査しております。

実施内容といたしまして、調査・研究期間は4か年でございます。大きく二つに分けて調査を行っております。生体影響調査、その中でも培養細胞ばく露実験、こちら、昨年度の令和2年度から令和4年度までの期間で実施をしております。ヒト肺胞上皮由来A549細胞及びヒト気管支上皮由来Calu-3細胞への硫酸水素アンモニウムばく露を行いまして、その影響について検討しております。

続いて、動物ばく露実験、こちらは本年度からの実験となっております。令和3年度に正常マウスを用いて硫酸水素アンモニウムの吸入ばく露試験を行い、来年度以降は、ぜん息モデルマウスに対しまして、ばく露実験を行います。

(2) 都内大気PM中硫酸水素アンモニウムの連続測定、こちらは来年度からの解析を予定しております。

資料1の2枚目、裏面でございます。令和2年度から令和5年度までの研究の内容をグラフにまとめております。参考にご覧いただければと思います。

続きまして、資料2をご覧ください。こちら、今年度のスケジュールとなっております。4月より、ばく露実験を開始させていただいております。

本日の分科会を開催後、11月から12月頃に作業委員会を開催いたしまして、2月から3月頃に第2回の分科会を開催する予定としております。

議事(1)につきましては、以上でございます。

○安達委員長 ありがとうございます。4か年の計画と、それからスケジュールについて、ご報告をいただきました。

ただいまの内容について、ご意見、ご質問がありましたらお願いいたします。

特にないようでしたら、内容のほうに入らせていただきたいと思います。

(なし)

○安達委員長 それでは、議事(2)の令和3年度基礎的実験的研究について、培養細胞への硫酸水素アンモニウムばく露実験の説明をお願いいたします。

○環境衛生研究科長 資料3のスライド1をご覧ください。今年度、令和3年度の培養細胞への硫酸水素アンモニウムのばく露実験の報告です。

スライド2をご覧ください。今年度の実験計画は、昨年度の分科会でお示しいたしました、この五つを予定しております。

スライド3をご覧ください。まず一つ目は、ヒト肺胞上皮由来A549細胞への気相ばく露実験です。A549細胞へ硫酸水素アンモニウムを気相ばく露し、その影響を調べます。

これが気相ばく露装置の模式図です。昨年度、確立した方法にて硫酸水素アンモニウム水溶液を空気に気相化し、直後に45°Cで加温をするという方法で、目標とする気相濃度が得られましたので、今年度はこの条件で気相ばく露実験を行います。

スライド4です。気相ばく露条件ですが、ばく露濃度が1 m³当たり1、10、100 mg及び清浄空気をばく露した対象群とし、ばく露時間は1、2、3時間で、1分間当たり1.0 mLの速度でばく露いたします。

測定項目は、この6項目です。

現在、ばく露実験を実施中です。ばく露終了後、データを解析いたします。

スライド5です。二つ目は、感受性を高めた（炎症状態にある）A549細胞への液相ばく露実験です。

昨年度の予備実験の結果から、A549細胞へIL-1 β を反応させることにより、A549細胞は感受性の高まった炎症状態になることが分かりました。

そこで今年度は、硫酸水素アンモニウムにより炎症状態を増悪させるかを調べます。

スライド6です。A549細胞へIL-1 β を炎症状態になり始めている濃度0.03 ng/mL及び、かなり炎症状態になってきている濃度0.1 ng/mLで3時間反応させて炎症状態にしたところへ硫酸水素アンモニウムを24時間ばく露しました。

測定項目は、ここに書いてあるとおりです。

スライド7になります。結果です。細胞増殖能力の結果を左側に示しました。青いマークがIL-1 β 0.03 ng/mL、オレンジのマークがIL-1 β 0.1 ng/mLをA549細胞へ反応させたときのデータです。緑のマークはIL-1 β を反応させていない昨年度の液相ばく露の結果です。共に硫酸水素アンモニウム1 mg/mLで、対象群に比べ細胞増殖能力が減弱いたしました。

また、細胞障害性は右側に示しますLDHの結果を用いて表現いたしました。IL-1 β 0.03 ng/mLを反応させたA549細胞では硫酸水素アンモニウム0.1 mg/mL以上で、IL-1 β 0.1 ng/mLを反応させたA549細胞では硫酸水素アンモニウム0.01 mg/mL以上で細胞障害性がありましたが、その作用は5%以下と強くはありませんでした。

スライド8になります。次に炎症因子の結果です。

まず、IL-8についてです。IL-1 β を反応させ、IL-8産生を増強したA549細胞へ硫酸水素アンモニウムをばく露いたしましたが、1 mg/mLまでばく露してもIL-8産生に影響を与えませんでした。

次に、IL-6についてです。IL-1 β を反応させることで、IL-6を産生したA549細胞へ硫酸水素アンモニウムをばく露した結果、0.1 ng/mL IL-1 β を反応させると、硫酸水素アンモニウム0.01 mg/mL及び1 mg/mLでIL-6産生が有意に減弱しましたが、その変化は極めて小さかったです。

スライド9になります。次にTNF- α についてです。

IL-1 β を反応させることで、TNF- α を産生したA549細胞へ硫酸水素アンモニウムをばく露した結果、0.1 ng/mL IL-1 β を反応させると、硫酸水素アンモニウム0.001 mg/mL以上でTNF- α 産生が有意に減弱しましたが、その変化は極めて小さかったです。

そして、MCP-1についてです。IL-1 β を反応させ、MCP-1産生を増強したA549細胞へ硫

硫酸水素アンモニウムをばく露しましたが、1 mg/mLまでばく露してもMCP-1産生に影響を与えませんでした。

スライド10になります。次に、遺伝子発現についてです。対象遺伝子は*IL8*、*CCL2*、粘液形成関連遺伝子*MUC5AC*です。

IL-1 β を3時間反応させた後、硫酸水素アンモニウムのばく露時間を1、3、24時間ごとの対象群のA549細胞の遺伝子発現量を1としまして、ばく露量の発現量を算出いたしました。まだ2回の実験ですが、IL-1 β によって発現量が大きく増強した*IL8*、*CCL2*に硫酸水素アンモニウムばく露しても発現量の変化は見られませんでした。

そして、IL-1 β のばく露による発現量の変化は見られなかった*MUC5AC*は硫酸水素アンモニウムばく露をすると、1時間ばく露では増強、その後、経時的に減弱する傾向が見られました。

今後、実験回数を増やすとともに経時的な解析を継続いたします。

スライド11になります。ROSは昨年度から始めた項目であり、去年は予備実験としてポジティブコントロールと測定キットの検討を実施しました。

測定キットについては、蛍光法を用いたものとして、励起波長と測定波長が離れているほうが、ばらつきが小さいことが分かりましたので、その方式のキットを採用いたしました。

ポジティブコントロールについては、ROSを産生する物質を幾つか検討した結果、より明確にROS産生が見られたメナジオンを用いることといたしました。

今年度の計画はA549細胞に硫酸水素アンモニウムをばく露し、細胞内にROSが産生されるかを調べます。

ばく露時間として、ここに示します短時間ばく露と長時間ばく露に分けて実施いたします。

スライド12になります。ROSとは活性酸素種といわれる酸素分子に由来する反応性の高い酸素種のことです。

代表的なROSの関連図を示しました。酸素分子が水へと代謝される過程で、赤で示すようなROS、ここではスーパーオキシドアニオン、過酸化水素、ヒドロキシルラジカルなどが産生されます。ROSは高い反応性から殺菌などで生体を保護する一方、生体自体も酸化し、機能障害を引き起こします。これを防ぐため、生成されたROSは抗酸化物質などにより無毒化されます。

青でお示しいたしましたHO-1やGSH（グルタチオン）は、その役割を担うもので、本研究の中でも酸化ストレスマーカーとして測定しております。この項目ではマーカーの増減にかかわらず、硫酸水素アンモニウムによってROSが生成されるかどうかを測定しています。

スライド13枚目になります。現在までに終了している短時間ばく露の結果を報告いたします。

ばく露方法は液相ばく露、培養細胞はA549細胞、硫酸水素アンモニウム濃度は0.001 ~ 1 mg/mL、陰性コントロールはリン酸緩衝生理食塩水で、硫酸水素アンモニウムはこれで希釈しておりますので、陰性コントロール（ネガティブコントロール）は0.0 mg/mLと示しております。陽性コントロールは昨年度検討したメナジオンで、こちらで操作の妥当性を確認しました。ばく露時間は30分から3時間で経時的に測定をいたしました。

解析方法につきまして、昨年度の報告では、下の段にあります、細胞ありから細胞なしの相対蛍光強度（RFU）を減算した値を用いることとしていました。この方法は、ばく露物質による非生物的反応の影響を除去できる利点がありますが、測定日間のばらつきが大きかったため、n数が同日に測定した数に限られます。

そこでn数を増やして、有意差検定まで行うため、文献でも報告されている解析方法として、上段に示します細胞ありの相対蛍光強度（RFU）を用いたネガティブコントロールに対する比を利用することを検討しました。

この利点として、測定日間のばらつきが小さければn数を増やして解析できることで、恐らくネガティブコントロールに対する比なので実測値よりばらつきは小さいと予想されます。

欠点は、ばく露物質による非生物的反応の影響が除去できないことがあり、したがって、硫酸水素アンモニウムの非生物的反応、つまり培地と硫酸水素アンモニウムの反応でRFUの増加が見られないことが前提となります。

スライド14になります。解析方法を変えることができるか、培地のみに硫酸水素アンモニウムをばく露し、非生物的反応を確認いたしました。棒グラフは平均値、エラーバーはSDを示しております。

結果、陽性コントロールのメナジオンでは経時的な増強が見られましたが、硫酸水素アンモニウムについては陰性コントロールである0 mg/mLと同程度で、時間が経過しても増加は見られませんでした。

1回の測定はn=3であるため、5から7回の結果をまとめて解析していますが、CVの値は3%以下で安定して非生物的反応はないと判断しました。したがって、細胞なしのRFUを減算する必要はなく、解析はA549細胞へのばく露結果を用い、ネガティブコントロールに対する比を算出して行うこととしました。

スライド15になります。A549細胞に硫酸水素アンモニウムをばく露した結果です。

こちらも1回の測定がn=3、5回から7回繰り返した結果をまとめて解析いたしました。ばらつきは高くてもCVの値は4.3%と予想どおり小さかったです。

結果は、最も高い1 mg/mLばく露で僅かな増強が見られ、3時間後にはネガティブコントロールの1.2倍になりましたが、有意差はありませんでした。

スライド16になります。今後の計画と変更点について、ご説明いたします。

次は長時間ばく露を実施しますが、変更点として、ばく露時間を24時間にしたいと考えております。昨年度の報告では、ばく露時間、ばく露後22時間から24時間まで継続的

に測定するとしていましたが、それを24時間後のみとしたいと考えております。

理由は、測定キットの特性上、染色液を添加すると、ばく露濃度が約55%に減少するため、設定濃度で24時間ばく露したとは言えないということがあります。すなわち、図に示しましたように長時間では細胞培養時の培地が100 μ L、そこに6倍濃度の化学物質を20 μ L添加して21時間ばく露し、その後、染色液を100 μ L入れ測定します。

しかし、染色液を添加した時点で濃度が薄くなるため、設定濃度を維持できておりません。下に示した短時間ばく露では先に染色液を入れてから11倍濃度の化学物質を20 μ L添加するので、添加時から測定まで設定濃度は維持されています。

スライド17になります。二つ目の理由は、長時間ばく露における細かい経時設定は不要と考えられるためです。

A549細胞を用いたROSの産生を調べた文献を集めたところ、短時間では細かく見られておりますが、24時間前後は時間を振らずにポイントで測定している文献が複数あります。恐らく、長時間ばく露においては、数時間単位での変動は小さいのではないかと考え、以上の2点の理由から、長時間ばく露におけるROSの測定時間は24時間後のみに変更したいと思います。

スライド18になります。ヒト気管支上皮由来Calu-3細胞への液相ばく露実験です。

昨年度、A549細胞への液相ばく露実験を行い結果を報告しましたが、今年度はCalu-3細胞を用いて、同じばく露条件で実験を行います。具体的には、硫酸水素アンモニウムは0.001~3 mg/mLの範囲で、3時間もしくは24時間ばく露いたします。測定項目はこれらを予定しており、ばく露実験は、今後、実施を予定しております。

スライド19になります。来年度実施予定のCalu-3細胞の細胞膜間結合力に関する測定について、予備実験を今年度行います。

硫酸水素アンモニウムが細胞膜間結合力へ影響を及ぼし、炎症を増悪させるのではないかと考え、この実験を行います。

方法は、液相ばく露によるCalu-3細胞の細胞膜間結合力の変化を電気抵抗値で測定します。

スライド20になります。今年度は、インサートのメンブレン膜上に隙間なくCalu-3細胞が生える、実験に最適な細胞の播種数、培養日数を調べます。予備実験は、今後、実施を予定しております。

スライド21になります。それでは、まとめです。

1、A549細胞への硫酸水素アンモニウム気相ばく露実験は、現在、実施中です。

2、IL-1 β により感受性が高まった炎症状態にあるA549細胞へ硫酸水素アンモニウムをばく露しますと1 mg/mL硫酸水素アンモニウムにより細胞増殖能力が減弱しました。また、細胞障害性が見られましたが、その作用は強くはありませんでした。0.1 ng/mL IL-1 β を反応させたA549細胞に硫酸水素アンモニウムをばく露いたしますと、IL-6及びTNF- α が有意に減弱しましたが、その変化は極めて小さかったです。IL-8及びMCP-1産生

には影響を与えませんでした。

スライド22になります。まとめの3です。A549細胞に硫酸水素アンモニウムを短時間ばく露した結果、1 mg/mLでROSは僅かな増強傾向が見られ、3時間ばく露では陰性コントロールの1.2倍でした。

4、Calu-3細胞への液相ばく露実験及びCalu-3細胞の細胞膜間結合力に関する測定の予備実験については、今後、実施予定です。

以上です。

○安達委員長 ありがとうございます。ただいま、培養細胞への硫酸水素アンモニウムばく露実験、液相、気相のばく露実験について、ご説明いただきました。

これについて、ご質問等はございませんでしょうか。

○内山委員 スライドの10で、まだ2例やっただけだとおっしゃいましたのでしょうか。

○環境衛生研究科長 そうです。

○内山委員 それで、一番右のMUC5ACというのは、これはムチンの分泌ということのマーカとしてやっておられると思うのですが、これ1.5ですので、有意差はないのか、あるいは2例だから何もつけていないのか、ちょっと分からないのですが、これは興味があると思ったのは、これは言ってみれば、喀痰の分泌が増えるというような意味に捉えていいんですか、このムチンの分泌が増えるということは。

○環境衛生研究科長 そうです。

○内山委員 そうすると、ほかのものは、いろいろやっていただいたのだけれども、あまり有意な意味のあるような変化はなかったという結論なんですけど、これは非常に短時間で、5分未満ですから1分か2分で分泌が増えて、その後は減ってしまうということは、その硫酸水素アンモニウムを吸ったときに、何か刺激があつてたんが増えるというようなことに解釈できるんでしょうか。さらにこういう条件があるようなところに、この硫酸水素アンモニウムを吸えば、またそこで、せきが出てしまうとか、たんが増えるというような臨床症状につながっていくと解釈できるのか、あるいは、それはもう飛躍し過ぎているのか。分かりましたら教えていただきたいです。

○環境衛生研究科主任研究員 2例だということでは有意差検定はしておりません。MUC5ACですが、以前、柳澤先生からMUC5ACについてはどうですかというご質問がありまして、このマーカーを始めたんですけれども、一応、遺伝子の場合は2倍以上が有意差があるという話なので、1.5倍ですと差がないという、もちろんn=2なので何とも言えないですが、差があるとは思えないという、今のところの考えです。

○生体影響研究科主任研究員 これはもともとA549なので、粘液産生については、あまり想定はそもそもできないと思うんですけれども、それでもA549でMUC5ACが発現するというのは報告があるんですね。なので、その粘液産生について、どこまでもっともらしいかというのは、現時点ではクエスチョンな部分が大きいので。ですけど、今回上がっていますので、やっぱり動物のほうで、今後、粘液産生とか反復ばく露のときにしっか

り見ていって、そこをフォローしたいなというふうに考えています。

○内山委員 ありがとうございます。

○安達委員長 ほかにいかがでしょうか。

柳澤先生、お願いします。

○柳澤委員 環境研の柳澤です。

同じスライド10に関してなんですけれども、こちらの遺伝子発現に関して、相対比で出されていますが、これは、ばく露0時間に対する相対比なのか、IL-1 β の刺激なしに対する相対的な比を出していらっしゃるのか、どちらになりますでしょうか。

○環境衛生研究科主任研究員 この比は硫酸水素アンモニウムが入っているか入っていないかの比較です。ばく露時間の同じ時間、1時間、3時間、24時間ごとの硫酸水素アンモニウムを入れるか入れないかの違いだけです。

○柳澤委員 分かりました。ありがとうございます。

○安達委員長 ほかにいかがでしょうか。

非常に細かいことなんですけれども、試薬の純度が98%って、残りの2%は硫酸アンモニウムとかということで考えればいいんですかね。実験全体で同じものを使われていると思うんですけれども。

○環境衛生研究科長 残りの2%のところについては、十分把握できていない状況なので、検討したいと思います。

○安達委員長 柳澤先生、お願いします。

○柳澤委員 先ほどの質問の続きなんですけど、そうしますとIL-1 β の刺激なしと比較すると発現量が上がっているというところは確認されていらっしゃいますでしょうか。

○環境衛生研究科主任研究員 その実験につきましては、昨年度ご報告させていただいておりますけれども、0.03 ng/mLのIL-1 β の場合ですと、ほぼ変化なしです。0.1 ng/mLのIL-1 β の場合ですと、1時間とか3時間ですと、ばく露しない時に比べて2倍程度上昇していることを確認しております。

○柳澤委員 分かりました。ありがとうございます。

○安達委員長 ほかにいかがでしょうか。

山下先生、お願いします。

○山下委員 スライド7について、ご質問ですが、武蔵野大学の山下です。

この細胞障害性はLDHを用いて表現したということで、去年お聞きしたと思うのですが、全体細胞をすり潰したものを100%として、障害率という形で表わされていて、左側は増殖力がなくなっている、本当に一番濃い硫酸水素アンモニウムのときに、ほとんど0になる。その前のピークとしても5%ですね。ということは、最初、増殖力がなくなるのは、ほとんど細胞がある程度、死滅したからというふうに解釈したのですが、そうではなくて、細胞は生存しているけれども増殖力を抑制しているというふうに考えるということになるのでしょうか。

左と右を比べると、何か増殖能力がこんなに落ちたら障害性はもっと上までいってもよさそうな気がしたものですから。

左と右を比べると、何か増殖能力がこんなに落ちたら障害性はもっと上までいってもよさそうな気がしたものですから。

○環境衛生研究科主任研究員 私もそう思うのですが、多分この障害性についてはLDHがあまり放出されなかったのかなと解釈しておりますが、正確なことは分かりません。

○山下委員 増殖力というか生存率等はいかがだったのでしょうか。トリパンプルーなどでの検討はいかがでしょう。

○環境衛生研究科主任研究員 WST-8というミトコンドリアの酸化還元反応を利用した方法です。

○山下委員 分かりました。どうもありがとうございます。

○安達委員長 それでは、培養細胞についてのばく露実験についてはよろしいでしょうか。

(なし)

○安達委員長 特になければ、次に移りたいと思います。

正常マウスへの硫酸水素アンモニウムばく露実験について、ご説明をお願いします。

○生体影響研究科長 資料4の説明をさせていただきます。

それでは始めます。今年度につきましては、正常マウスへのばく露実験を行いましたので報告いたします。

今年度はこちらに示します四つの実験を計画しておりまして、青字で示しました部分を今回は報告いたします。

目的としましては、正常マウスへの急性・亜急性の毒性を調べ、また次年度以降に実施します、ぜん息の増悪評価に用います濃度設定に役立てるという2点になります。

まず、エアロゾルの性質確認を行いました。

次に、急性ばく露の実験を実施しております。単回で3時間のばく露を行いまして、急性毒性、また反復ばく露の濃度をどこまで上げられるかなどを検討しました。

今年度のメインは28日間の亜急性試験ですが、それを行う前に、今回14日間の予備実験を行いました。

また、最後に呼吸機能への即時影響を調べる実験を行う予定でございます。

下にありますが、70年代、80年代の論文では、ヒトのぜん息患者やモルモットのぜん息モデルにおいて、ばく露直後の僅かな影響が認められていますが、マウスについてはデータがありません。呼吸機能解析装置を用いて、これを調べたいと考えております。

スライド3枚目ですが、まずエアロゾルの性質確認を行いました。ご覧のようなサンプラーをばく露用のチャンバーにセットしまして、サンプリングし、イオンクロマトグラフィーで測定を行っております。

下に低濃度領域、それから高濃度領域の二つに分けて結果を示しております。横軸がエアロゾル発生装置に入れる溶液の濃度、縦軸にばく露チャンバー内の濃度を示してお

ります。黄色、緑色、赤色で示してある点は、28日間のばく露で使用する予定の3濃度についての結果を示しております。この三つの濃度について、さらに粒子径の分布を測定しました。

スライド4枚目ですが、左上の写真に示しますエアロゾル発生装置から、一度、捕集用のチャンバーへ硫酸水素アンモニウムを噴霧しまして、それを右に見えておりますELPIで回収しまして、12段の径ごとに分けてイオンクロマトグラフィーで測定をしております。

結果は下のような粒子径の分布を示しました。0.5 mg/m³、5 mg/m³、50 mg/m³で、濃度が高くなると、やや径が大きくなりましたが、0.50 μm程度にいずれもピークを持っておりました。また、大部分が1 μm以下であることから、マウスの肺胞まで到達するものと考えられました。

では、次に急性ばく露実験について、説明いたします。こちらのスライドで示すような内容で実験を行いました。

BALB/cマウス雌雄3匹ずつを用意し、50 mg/m³、100 mg/m³、500 mg/m³の三つの濃度で1週間の休息期間をおいてばく露しました。

最終ばく露の1週間後に剖検を実施しております。その結果は、ばく露中、ばく露後、休息期間中に、ばく露に起因すると思われる症状は見られませんでした。

下に体重推移を示しておりますが、雌雄で重さが違うものの、ばく露による顕著な体重減少などは見られませんでした。

次をお願いいたします。こちらには組織所見を示しておりますが、鼻腔、肺実質とも影響は見られませんでした。

次をお願いいたします。こちらは14日間のばく露実験についてです。こちらにつきましては、28日間のばく露実験の最高濃度を決めるというのが主な目的となります。雌雄9匹ずつを用意し、1日3時間連続で、14日間ばく露を行いました。濃度は、0 mg/m³、50 mg/m³、100 mg/m³として、ばく露群は比較的濃度が高めの2群を設定しております。

それでは結果に移ります。まず、体重の推移ですが、ばく露開始後に少し体重が落ちたように見えてましたが、0 mg/m³に比べて有意差がつくことはなく、解剖時には開始時とほぼ同じ値でした。BALB/cマウスの体重は、この時期にも二、三週間で1gぐらいずつは増えていいはずなんです。全体的にばく露装置の保定によって、僅かに体重抑制がかかったものと考えております。

スライド9枚目になりますが、気管支肺胞洗浄液の白血球数になります。大半はマクロファージで、ばく露による影響は見られませんでした。ばく露濃度に応じた変化ではなく、雌雄でも傾向は違っておりますが、各群n=3と少ないため、ばらつきの範囲内であまり意味はないと考えております。

次にBALFのLDH、それから総タンパクの量を測定し、細胞毒性を見ております。こちらでもばく露による影響は見られませんでした。

LDHの雌では、50 mg/m³の群で減少に有意差がついておりますが、生物学的な意味は薄いと思っております。

次のスライドとその次のスライドには鼻腔と肺実質のHEの写真を載せておりますが、いずれも、ばく露による影響は認められませんでした。

強いて言うとするとなりますと、こちらのスライドのように鼻腔の粘膜下に僅かの白血球の浸潤が目立った像を載せております。雌の3例につきまして、呼吸上皮の粘膜下にリンパ球の浸潤がやや目立ちましたが、上皮に異常はなく、ばく露の影響とは考えにくいという結果でございました。

まとめと考察です。

今回、単回ばく露については、最大で500 mg/m³という濃度をばく露しましたが、影響は見られませんでした。

14日間のばく露でも影響は認めませんでした。また、以前の分科会で報告しました硫酸アンモニウムでも僅かに鼻腔粘膜下に浸潤が見られましたが、出現頻度に有意差がつくレベルではありませんでした。

今回、より酸性度の高い硫酸水素アンモニウムなので、もう少し影響があるかと思いましたが、現時点では、非常に影響が弱いと言えます。

引き続き、反復ばく露の本実験と即時的な影響について調査をいたします。

最後のスライドになります。今後の予定になります。

28日間の反復ばく露では、3時間、28日間等、連続投与で雌雄6匹ずつ、ばく露を行います。遺伝子発現など詳細な解析を行う予定です。

ばく露濃度につきましては、0.5 mg/m³、5 mg/m³、50 mg/m³の設定を考えております。

過去、分科会で報告したとおり、都内では0.5 μg/m³程度と推測されております。低濃度をそのまま1,000倍としまして、公比10で濃度を増やしております。過去の動物実験では、最高で4 mg/m³が行われておりますので、今回はその10倍程度まで行うという計算になります。

また、呼吸機能への即時影響につきまして、呼吸機能装置にマウスを保定し、気管に挿管した後、30秒程度のばく露時間でネブライザーで肺内に噴霧いたします。このばく露の前後で気道抵抗等がどのように変化するかを調べます。

ばく露濃度につきましては検討中ではありますが、急性ばく露で実施したレベルを想定しております。30秒というのはベンチレーションをかけながら、サプライしているときに全てのエアロゾルを乗せる計算なので、実質15秒ぐらいのばく露になるかと考えております。

以上で動物ばく露実験の報告を終わります。ありがとうございます。

○安達委員長 正常マウスへの硫酸水素アンモニウムばく露実験について、ご説明いただきました。

ただいまのご説明について、ご意見やご質問をお願いいたします。

柳澤先生、お願いします。

○柳澤委員 環境研の柳澤です。一番最後の15枚目のスライドで、呼吸機能への即時影響ということで、直接、気管内にばく露する形を想定されていると思うんですが、この際の硫酸水素アンモニウムの性状といいますか、粒子径等の確認は可能なんでしょうか。

○生体影響研究科主任研究員 それが問題でして、現状の装置では難しいんです、粒子径については、濃度については同じように測れると思うのですが、です、もう少し簡易の装置を買うか、あるいは今考えているのは、サンプリングをして、即SEMとかで粒子のサイズを見るのか、現状そのぐらいでしか、難しいのですけれども、そこは大事です、ので何とかしたいと思っております。

○柳澤委員 分かりました。あとは、軽微なところなんです、スライドの5枚目と6枚目で、5枚目のグラフのばく露群の表示が数字になっているので、多分それぞれのばく露群を表記していただいたほうが分かりやすいのかなと思いました。

あと、6枚目も同様で、雄、雌の表記はあるんですが、ばく露群の表記がないようですので、こちら入れていただいたほうが。

○生体影響研究科主任研究員 これ、ばく露群は、急性については今回は同じ動物に100と500をやっていますので。

○柳澤委員 分かりました。ありがとうございます。

以上です。

○安達委員長 ほかにいかがでしょうか。

松木先生、お願いします。

○松木委員 質問ではないのですが、こういう極めて貴重な実験というか、多分、私の記憶では、ここに書いてありますけれど、三重大大学の吉田克己先生たちが、1979年に報告された論文は、このような人体への影響を書いているという記憶があります。その後、東海大学におられた香川順先生が、非常に薄い濃度ですけれども硫酸のミストのばく露実験を行っておられます。現在は、ほとんど倫理的問題があつてできませんので、動物実験が主体となると思います。このような実験というのは環境基準を決める場合に、非常に貴重な材料になりますので、ぜひ頑張っていたきたいと思えます。

感想ですが、以上です。よろしく願いいたします。

○生体影響研究科主任研究員 松木先生、ありがとうございます。先生がおっしゃるとおりで、なかなかこういう実験、人はもちろんですけど、動物実験すらなかなか難しい状況ですので、ぜひ、都としては頑張りたいと思えますので、よろしく願いいたします。

○松木委員 多分、日本でこのような実験を行っているのは東京都の実験だけだろうと思えますので、よろしく願いいたします。

以上です。

○安達委員長 培養細胞も含めて、体系的に気相ばく露、液相ばく露、それから動物ばく露をやっているというのは、世界的に見てもかなり貴重なというか、手法もきちんとしていますし、貴重な結果になるかと思います。

先生方、ほかに。よろしいでしょうか。

では、次に移らせていただいてもよろしいでしょうか。

(異議なし)

○安達委員長 ありがとうございます。

では、議事の(3)に移りたいと思います。令和3年度大気汚染医療費助成制度の患者データ解析についての説明をお願いいたします。

○事務局 議事の(3) 令和3年度大気汚染医療費助成制度の患者データ解析について、事務局より説明させていただきます。

資料のご説明をさせていただきます。資料5、それから参考資料1と2になります。

まず、参考資料1をご覧ください。東京都で大気汚染に係る医療費助成を行っておりまして、その患者様の報告書を医療機関に書いていただいております。また、参考資料2のところ、患者様に健康・生活環境に関する質問票というものも併せて記載いただいております。このデータを用いまして毎年解析を行っているものでございます。

それでは資料5をご覧ください。2ページになっておりまして、1ページ目が保健医療分野に関する解析、2ページ目が生活環境分野に関する解析についてでございます。

まず1枚目、保健医療分野に関する解析といたしましては、先ほど申しました主治医診療報告書、それから健康・生活環境に関する質問票の令和2年度の認定分について解析を行います。解析項目については例年と同様を考えておりまして、こちらに書いてあるような内容を解析する予定でございます。

裏面にいただきまして、生活環境分野の解析でございますが、こちらも同様に主治医診療報告書、それから健康・生活環境に関する質問票で令和2年度の認定分と合わせて平成30年度の認定分についての解析を行います。こちらも例年と同様、こちらに書いてある解析報告を予定しております。

詳細につきましては、次回、作業委員会、それから第2回の分科会までに作成いたしたいと思っております。

議事(3)については以上でございます。

○安達委員長 ご説明ありがとうございます。ただいまの令和3年度大気汚染医療費助成制度の患者データ解析について、ご意見やご質問をお願いいたします。

松木先生、お願いします。

○松木委員 大変な解析で本当にご苦労さまでございます。

このデータ解析についてではないのですが、やはり最近、こういう生活環境が変わってきている。一つはやはり、今、新型コロナウイルス感染症の問題で、換気というのは非常に大きな問題になってくるだろうと思うんですね。それで、生活・環境に関する質問票を拝

見ると、これは今後の話でいいと思うのですが、質問の21に「窓を開けて掃除をしている」ということで、もう少し換気について、今後、検討したほうがいいんじゃないかということと、それから喫煙に関しても、最近やはり加熱式たばこであるとか、電子たばこが、喫煙者の方には増えてきていらっしゃるということで、私たちとしても、やはり受動喫煙の問題あるいは三次喫煙というんですかね、サードハンド・スモーク、1回壁に吸着したものが、また染み出してくるみたいなお話が出ていますので、その辺のことを加味して、今後、調査を続けていただければ、大変ありがたいかなと思うのですが。これはちょっと、ない物ねだりで申し訳ありませんが、今後、ご検討いただければと思います。

以上です。

○安達委員長 ありがとうございます。ほかにいかがでしょうか。

これは、また作業委員会があつて、また第2回の分科会ということになりますので、そのときに、またご議論いただければと思いますが、この時点ではよろしいでしょうか。

○松木委員 結構です。

○安達委員長 ありがとうございます。これをもちまして予定した議題は終了しましたが、委員の皆様から議題（1）まで戻って何か、ご意見、ご質問がありましたらお願いいたします。

(なし)

○安達委員長 ないようですので、それでは事務局にお返ししたいと思います。よろしくお願ひいたします。ありがとうございました。

○環境保健事業担当課長 安達委員長、どうもありがとうございました。委員の皆様におかれましては貴重なご意見をいただきまして、誠にありがとうございます。

これをもちまして、令和3年度東京都環境保健対策専門委員会第1回大気汚染保健対策分科会を終了いたします。

本日の議事録につきましては、後日、委員の皆様にご確認をいただきます。

次回の分科会につきましては、来年2月頃を予定しております。日程につきましては改めてご連絡を申し上げますので、どうぞよろしくお願いいたします。

本日はお忙しい中、誠にありがとうございました。

(午前11時05分 閉会)