

大気中微小粒子状物質 (PM2.5) から生じる 酸化ストレスと脳神経障害：第 1 部

嵯峨井 勝^{*1}, ティンティン・ウィンシュエイ^{*2}

^{*1} つくば健康生活研究所 (青森県立保健大学・名誉教授)

^{*2} 独立行政法人・国立環境研究所環境健康研究センター生体影響研究室

Oxidative Stress Derived from Airborne Fine and Ultrafine Particles and the Effects on Brain-Nervous System: Part 1

Masaru SAGAI^{*1} and Tin Tin WIN-SHWE^{*2}

^{*1} Tsukuba Institute for Healthy Life (Aomori University of Health and Welfare)

^{*2} National Institute for Environmental Studies

Abstract Traffic-related air pollution is a major contributor to urban air pollution. Diesel exhaust (DE) is the most important component of near-road and urban air pollution and is commonly used as a surrogate model of air pollution in health effects studies. In particular, diesel exhaust particles (DEP) and the nanoparticles in DEP are considered hazardous components on health effects. It is widely known that exposure to DEP is associated with mortality due to respiratory and cardiovascular diseases. Recently, there has been accumulating evidence that DEP and the nanoparticles in DEP may be causes of neurodegenerative disorders. Here, we introduce the evidence suggesting their association with such disorders. First, we describe the chemical components and the translocation of DEP and nanoparticles to the brain, and then introduce the evidence and a mechanism by which reactive oxygen species (ROS) and any inflammatory mediators can be produced by DEP phagocytosis of macrophages, microglia and astrocyte cells in the brain. There are many lines of evidence showing that the neurodegenerative disorders are profoundly associated with enhanced oxidative and inflammatory events. Second, we describe a mechanism by which neurodegenerative diseases, such as stroke, Alzheimer's disease and Parkinson's disease, are induced via oxidative stress and inflammatory events.

Key words: PM2.5, diesel exhaust particles (ディーゼル排気微粒子), nanoparticles (ナノ粒子), brain (脳), reactive oxygen species (活性酸素), neurotoxicity (神経毒性)

はじめに

最近, 中国などから飛来する微小粒子状物質 (PM2.5, 粒子の径が 2.5 μm 以下の粒子, 正確には粒子の捕集効率が 50% となる空気力学的径が 2.5 μm となる粒子) が人々の健康に不安を与えている。

微小粒子状物質は人の死亡率の増加や呼吸器疾患あるいは循環器疾患の発症増加に関連していることが知られ

ている。さらに, 長期間微小粒子状物質に晒されると, 上部気道や下部気道で慢性的気道炎症を起こし, さらに脳を含む全身に取り込まれ炎症が誘起されるという。また, 微小粒子状物質は鼻部の嗅覚上皮関門を介しても脳に取り込まれ, そこでも炎症を起こし認知機能の低下や脳の病理学的異常を引き起こすことが疫学研究および実験研究で判明してきた。

これらの結果は, 微小粒子 (PM2.5) が肺や嗅上皮粘膜を介して体内に取り込まれ, 脳を含む全身に侵入して影響を及ぼすことを示している。しかも, その影響に関する報告は高齢者や子供に関するものが多く, 今日の少子高齢社会にあっては公衆衛生上の重大な課題である。

本稿, 第 1 部では, 大都市部の大気中微小粒子 (PM2.5) が脳内に侵入し, そこで活性酸素を産生し, それが脳神経系の組織障害や記憶能低下などに関連すると考えられ

受付 2015 年 1 月 21 日, 受理 2015 年 2 月 16 日
Reprint requests to: Tin Tin WIN SHWE, M. D., Ph. D
Biological Impact Research Section, Center for Environmental Health Sciences, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan
TEL: +81(29)850-2542, FAX: +81(29)850-2334
E-mail: tin.tin.win.shwe@nies.go.jp

る知見を紹介する。1 章で微小粒子の大きさ、発生源、化学組成、微小粒子中の炭素成分による活性酸素生成のメカニズムについて述べ、2 章では、微小粒子の脳神経系組織への侵入様式と侵入した微小粒子が脳神経系組織内で活性酸素を生成するメカニズムについて述べる。

第 2 部では、3～5 章を掲載する。3 章では、活性酸素・酸化ストレスにより生じると報告されている主な脳神経疾患の発症メカニズムを紹介し、脳内で微小粒子によって生じる活性酸素・酸化ストレスが脳神経疾患の発症と深く関わっていることを述べる。最後に、4 章と 5 章で人や動物の脳神経系組織障害や疾患の発症あるいは認知機能低下などに関する疫学研究および実験研究の知見を紹介する。

1 章. 大気中浮遊粒子状物質の種類、サイズとその化学組成

1.1. 3 種類の粒子状物質のサイズと発生源

大気中に浮遊する粒子状物質 (SPM, Suspended Particulate Matters) は、主に自動車の排気や火力発電所、石油精製工場、金属精錬工場、家庭暖房など化石燃料の燃焼に由来するものと土壌や海塩、山火事、火山噴火などの自然に由来する粒子からなっている。

図 1 に示したように、SPM とは粒子の大きさが $10\ \mu\text{m}$ 以下 (捕集効率 100%) の粒子で、その中には、3 種類の粒子がある。その第一は粒径が $10\sim 2.5\ \mu\text{m}$ の間の粗大粒子 ($\text{PM}_{10-2.5}$) である。この粒子の粒径中心 (DGV) は $5\ \mu\text{m}$ 前後で、サイズが大きいため多くは鼻腔や上部気道に沈着し呼吸器深部や脳、血管までは入らない。また、この粒子は土壌や海塩等の自然由来の粒子が多く、昔から浮遊していることが知られており、その毒性は極めて低いとされている。なお、諸外国では SPM の代わりにそれより大きい PM_{10} ($10\ \mu\text{m}$ での捕集効率が 50% の粒

子) が環境指標として用いられている。なお、SPM の粒子の家屋内への侵入率は、鉄筋コンクリート・アルミサッシ家屋でも大気中の 5～15% 程度とされている (1)。

第二の粒子は粒径が $2.5\sim 0.1\ \mu\text{m}$ の間にある、いわゆる「微小粒子 ($\text{PM}_{2.5-0.1}$)」であり、その粒径中心 (DGV) は $0.2\ \mu\text{m}$ 前後にある。第三は $0.1\ \mu\text{m}$ 以下で粒径中心 (DGV) が $0.02\ \mu\text{m}$ 前後にある超微小粒子 (ナノ粒子) である。なお、図 1 から分かるように、微小粒子 ($\text{PM}_{2.5}$) とは正確には第二と第三の粒子を合わせたものを意味し、本稿でも合わせたものを微小粒子 ($\text{PM}_{2.5}$) として使用した。

微小粒子はサイズが小さいため肺や脳の中まで侵入し、また家屋内への侵入率は鉄筋コンクリート・アルミサッシ家屋でも大気中の 70% 以上であり、古い木造家屋では 90% 以上という (1)。その発生源は先進国では主にバスやトラックなどのディーゼル車の排気 (DE) からの粒子 (DEP, Diesel exhaust particles) や船舶、飛行機、建設機械、火力発電所、ごみ焼却施設などである。

国内で $\text{PM}_{2.5}$ 汚染が問題になっているのは主に大都市部であり、そこでの $\text{PM}_{2.5}$ は SPM の約 7 割を占め、田園地区になるほど $\text{PM}_{2.5}$ の割合は低くなり、土壌や海塩由来粒子などの粗大粒子が増える傾向にある。なお、DEP は発生源から付けられた呼び方で $\text{PM}_{2.5}$ の一部であるが、 $\text{PM}_{2.5}$ とイコールではない。

一方、近年注目を集めている中国など発展途上国の $\text{PM}_{2.5}$ は DEP に加えて火力発電所や石油精製工場、金属精錬工場、鉄鋼工業所などの膨大な石炭燃焼施設および家庭暖房用石炭燃焼などに由来する。日本への $\text{PM}_{2.5}$ の越境割合は関東地方で $\text{PM}_{2.5}$ 全体の約 40% と推定され、近畿地方では約 50%、九州・中国地方で約 60% とされている。東日本に行くほど越境汚染の割合は低くなるが、関東地方や近畿地方では国内発生の $\text{PM}_{2.5}$ 濃度がなお高く環境基準を満たしていない所が多い。

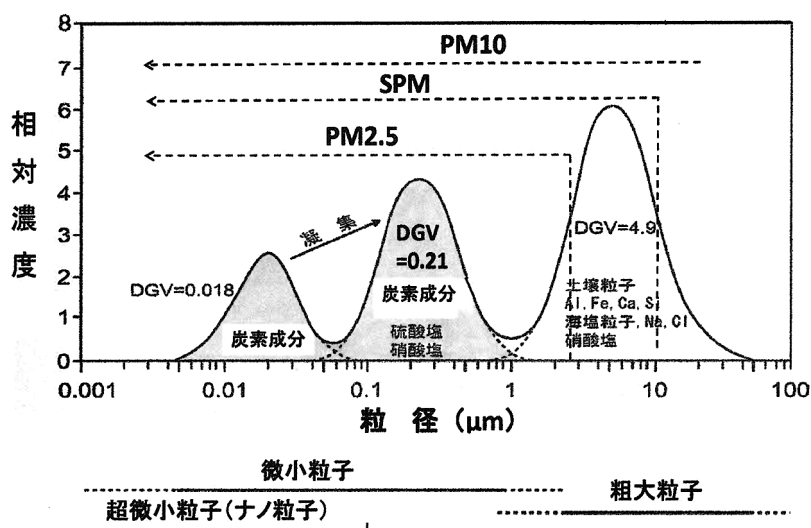


図 1 大気中浮遊粒子状物質の粒形分布と代表的な組成例 (環境省微小粒子状物質健康影響評価検討会報告書:平成 20 年より引用、一部改変)

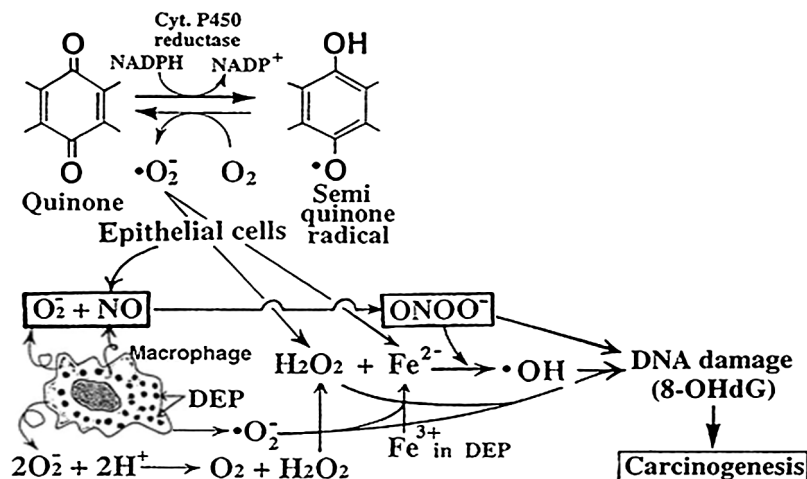


図2 ディーゼル排気微粒子 (DEP) の炭素成分からの活性酸素産生と発がんのメカニズム (Sagai ら (6))

1.2. 微小粒子の化学組成と活性酸素生成メカニズム

微小粒子のサイズや化学組成は燃料の種類、エンジンの型や運転形態、地形、気候、季節など様々な要因で変化する。Schuetzle ら (2) はディーゼル車の排気筒から集めた DEP 中の有機物を非極性の多環芳香族炭化水素 (PAHs) 画分、中度極性画分および高度極性画分に分け、中度極性画分に 100 種類以上の化合物を認め、ほとんどの変異原性はこの画分にあると報告している。この中には PAHs の Quinone 体、Hydroxy 体、Ketone 体、Carboxaldehyde 体、Acid anhydride 体、Dihydroxy 体および 1-Nitro-pyrene を含む 3 種のニトロ-PAHs を見出し、1-Nitro-pyrene は変異原性の約 45% を占めていたとしている。

著者らはディーゼルエンジンを設置した DEP 吸入実験装置を作成し、そこで得られた DEP の有機溶媒抽出画分に非酵素系あるいは NADPH-Cyt.P-450 還元酵素系で活性酸素 (ROS) 産生能が高いことを見出した (3, 4)。この DEP は元素状炭素 (EC) に様々な有機炭素成分 (OC)、および微量重金属、硫酸塩や硝酸塩などが付着したものである。重金属のうち、鉄は約 150 ppm、銅は約 15 ppm 含まれていた。なお、いくつかの報告では EC と OC を合わせた物をブラックカーボン (BC) として測定している。

著者らは、上記の ROS 産生に関する知見をもとに、発がん実験を行い (5)、図 2 に示したキノン化合物を例とした酵素的代謝によるフリーラジカル反応とマクロファージによる微小粒子の貪食過程の両方から活性酸素が繰り返し多量に産生されるメカニズムとそれによる発がんメカニズムを提案した (6)。

図 2 の上段に示したキノン類は、DEP の有機炭素成分に含まれる PAHs 類と同様の代謝過程 (酸化還元サイクル反応) でスーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$) を生じ、それが過酸化水素 (H_2O_2) を経て最強の活性酸素のヒドロキシラジカル ($\cdot OH$) を生じる。なお、PAHs の酸化還元サイクル反応でフリーラジカル体や ROS が生じると共にフェノール、エポキシイド、ジヒドロジオール、キノン類など様々

な代謝中間体が生じることも知られている (7-9)。これら成分からのフリーラジカル体や ROS 産生はタバコタールからの産生と同じ反応で起こるとされている (10)。

またこの時、元素状炭素 (EC) を中心とする微小粒子もマクロファージが異物と認識し、図 2 下段に示すように、粒子を貪食して NADPH-oxidase を活性化し ROS を多量に産生する。この ROS 産生のメカニズムはタバコ煙粒子やアスベスト吸入の場合と同じと考えられている。

一方、Xiao ら (11) は、著者が提供した DEP (3) を用いて、DEP を貪食したマクロファージが多量の $O_2^{\cdot-}$ を産生し、上記と同様の経路で $\cdot OH$ を生成することを示した。また、マクロファージは一酸化窒素 (NO) も産生し、これが $O_2^{\cdot-}$ と反応して $\cdot OH$ を生成することもすでに知られている。この DEP 貪食過程は喫煙者の肺マクロファージがタバコ煙粒子を貪食し $O_2^{\cdot-}$ 産生能が亢進し $\cdot OH$ を生じるメカニズムと同じとされている (12)。

こうして生じた $\cdot OH$ が DNA のグアニン塩基と反応し DNA の酸化損傷物である 8-OHdG を生成する。DEP 投与マウスの肺がん発生率は肺の 8-OHdG 生成量と極めて高い相関を示していた事実 (5) もこのメカニズムによる発がんを支持する大きな根拠である。

Xia ら (13) も、著者が提供した DEP を用いて、化学組成と ROS 産生能を詳しく報告している。DEP の有機成分 (OC) から脂肪族炭化水素 (53.4%)、PAHs (23.8%) および極性画分 (22.7%) を得た後、脂肪族炭化水素画分の GC 分析で炭素数 13-31 の alkanes 類を検出し、PAHs 画分から GC-MS 分析で phenanthrene, fluoranthene, pyrene, chrysene, fluorene, benzo(a)anthracene 等とその誘導体を認めている。さらに極性画分も GC-MS 分析で Ketone, Alcohol, Sulfur 化合物, Phthalate および Quinone 類などを見出し、PAHs 画分より Quinone-rich な極性画分に ROS 産生活性が高いことを示し、この ROS がマクロファージと血管内皮細胞のミトコンドリアの機能障害を起こしているとしている。

また、Li ら (14) は OC 中の PAHs 濃度は OC 率と比

表 1 ロスアンゼルス近郊 2 ケ所で集めた三種類の粒子状物質の濃度と化学組成 (Li ら (16))

化学組成	クラメント地区			南カリフォルニア大学内		
	粗大粒子	微小粒子	超微小粒子	粗大粒子	微小粒子	超微小粒子
濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	12.3	17.3	1.9	21.1	20.9	3.9
有機炭素成分 (%)	16	40	69	20	52	71
元素炭素 (%)	1	3	13	1	3	11
硫酸塩 (%)	5	13	4	7	8	6
硝酸塩 (%)	27	31	5	35	23	3
金属類/総量 (%)	51	13	9	37	14	9

例し, 粒子が小さいナノ粒子ほど毒性が強いとしている。さらに, PAHs 量と ROS 産生能はナノ粒子画分に著しく高く, マクロファージの培養系では ROS 産生能が PAHs 量や HO-1 発現量と相関していたとしている。

また, 彼ら (15) は同じ DEP を用いて, DEP が産生する ROS が肺やマクロファージの抗酸化酵素であるヘムオキシゲナーゼ (HO-1) を誘導すると報告し, DEP による酸化ストレスから生体を防衛するために, 核内転写因子 Nrf2 が活性化され, その結果, 遺伝子の抗酸化応答領域 (ARE) にある HO-1 の他にグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) や第 II 相薬物代謝酵素が誘導されていたとしている。

このような知見は, 生体は一定の酸化ストレスを受けても抗酸化酵素系を誘導して, 自らを守ろうとする仕組みを持っており, こうした酸化ストレスと防御系のバランスが崩れた時に様々な疾病が起こるものと考えられている。

一方, 現実大気中の粒子状物質の化学組成については Li ら (16) が米国カリフォルニア州・ロスアンゼルス近郊で冬季に集めた粒子の化学組成について報告している (表 1)。粗大粒子 ($\text{PM}_{10-2.5}$), 微小粒子 ($\text{PM}_{2.5-0.1}$) および超微小粒子 (ナノ粒子) の中で, 有害な炭素成分の割合は粒子が小さくなるほど高くなっている。超微小粒子 (ナノ粒子) が最も毒性が高いと言われるのは炭素成分が多く, ROS 産生が多いことによると考えられる。

1.3. 硫酸塩, 硝酸塩および金属類の影響について

一方, 微小粒子 ($\text{PM}_{2.5}$) 中にはガス状物質から生じた硫酸塩や硝酸塩などの二次生成物も多い。ここでは, それら成分の健康影響について考察してみる。

表 1 などから分かるように, 硫酸塩や硝酸塩の濃度はナノ粒子より微小粒子, 粗大粒子の方に多い傾向にある。すなわち, 最も毒性が強いとされているナノ粒子には硫酸塩や硝酸塩の含量が極めて少ない。また, 硫酸塩や硝酸塩の毒性を説明する生物学的因果関係を示す実験研究の報告もほとんどみられていない。硫酸塩や硝酸塩は体内でも作られ, 細胞内液中の陰イオンの 10 数 % を占めており, また硫酸抱合やホルモンや神経伝達物質の濃度調節にも働いていることなどから, 毒性が低いことは妥当と考えられる。

一方, 疫学研究では微小粒子による死亡率の増加を初

めて報告した Dockery らのグループの報告 (17–20) を中心に硫酸塩と死亡率の間に高い相関を示す報告がある。しかし, それらの中で具体的に実験的研究から心疾患等の死亡率の増加を説明しうる毒性学的事実を示した論文の引用は見当たらない。唯一の毒性の根拠として引用している論文 (20) は銅精錬工場のストライキの時に硫酸粒子濃度が $2.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 低下し, 死亡率が 2% 低下したとする疫学的因果関係だけで, 生物学的因果関係を示す引用ではない。

さらに, この死亡の低下率は非常に高いことから, 著者は銅そのものか硫酸銅粒子の影響ではないかと推測する。硫酸ニッケルの毒性も高いことが知られているが, それも硫酸銅と同様に重金属側の影響であり, 一般大気中微小粒子の硫酸塩とは異なる。さらに, 硫酸ミストや硫酸アンモニウム塩を気管支喘息患者やモルットに吸わせてもあまり影響は無かったという報告も多い (21–23)。こうした事実から, 硫酸塩が死亡率と相関していたとする知見は今後の動物実験などの毒性学的事実の解明と合わせて評価されるべきであろう。

また, Si, Ca, Na, Mg, Al をはじめとする金属類も粒子中に多い。Valavanidis ら (24, 25) は, ギリシャ・アテネ市中心部の PM_{10} (捕集効率が 50% となる空気力学的径が $10 \mu\text{m}$ となる粒子で, $10 \mu\text{m}$ 以上の粒子も含まれる) と $\text{PM}_{2.1}$ 粒子の化学組成を調べ, 重金属として Fe, Pb, Zn, Cu, Cr, V, Ni, Cd などを微量検出し, 特に $\cdot\text{OH}$ 産生に関しては微小粒子中に多いキノン系化合物の酸化還元サイクルに微量遷移重金属が触媒として重要な役割を果たしているとしている。

2 章. 大気中微小粒子の体内および脳内への侵入様式

2.1. 微小粒子の体内への取り込み

吸入された微小粒子が肺等を介して体内に取り込まれることは多くの研究者によって報告されている。Nemmar ら (26) は $0.1 \mu\text{m}$ 以下のナノ粒子の標識炭素粒子 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled carbon black) を 5 人の健康者に吸入させ, その体内取り込みを調べ, 標識粒子は吸入 1 分後に血液中に検出され, 10 ~ 20 分で血中最大濃度に達し, 60 分までそのレベルを持続し, 最終的には肝臓や膀胱など全身に取り込まれていることを全身ガンマ

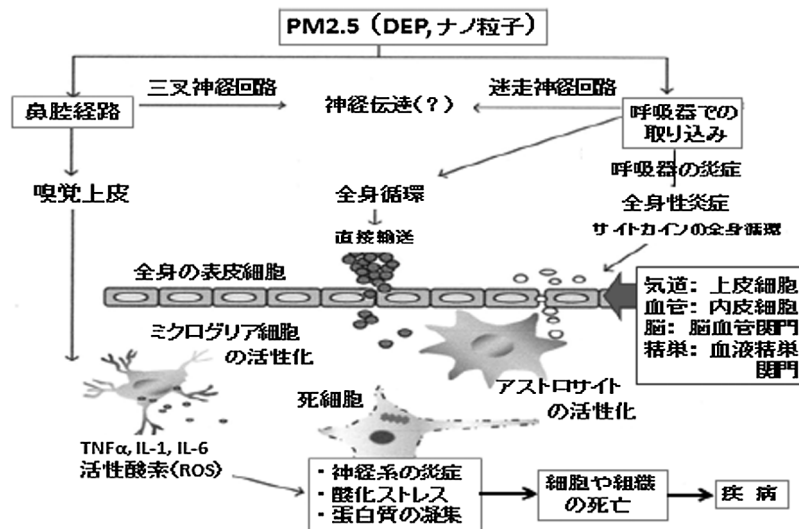


図3 微小粒子が呼吸器と嗅覚上皮を介して脳や各組織に取り込まれる仕組み (Genc ら (31), 一部改変)

カメラ映像で示した。Oberdörster ら (27, 28) も同様の結果を報告している。

2.2. 微小粒子の脳への取り込みとそのメカニズム

微小粒子あるいはナノ粒子は肺に吸入された後、肺胞毛細血管関門 (ACB, alveolar-capillary barrier) を通過し血液中に入るという上記の知見 (26, 27) に加えて、鼻腔上皮層を介して脳 (28) を含む全身に運ばれることも動物実験で示されている。

また、DE を直接吸った動物だけでなく、この動物から生まれた仔の脳内にもナノ粒子が取り込まれていることが東京理科大学・武田、栃木臨床病理研究所・菅又らのグループによって報告されている (29)。脳の末梢血管にある細胞中に DE 由来のナノ粒子が取り込まれ、さらにナノ粒子を取り込んだ細胞は変性し、脳の末梢血管は狭窄し、脳内のグリア細胞の一種で、栄養分の取り込みや不要物・異物除去等に関わるアストロサイト (星状膠細胞) が膨潤していることを認めている。さらに、こうした変化は脳皮質だけでなく記憶を司る海馬にも認められたという。この結果は、脳と血液の間の脳血管関門 (BBB) の未発達な胎児や新生仔ではナノ粒子が血管を通り抜け、特定の細胞内器官に取り込まれ、その細胞や周辺の細胞に影響を及ぼすことを示唆している。

また最近、Onoda ら (30) は、妊娠マウスにカーボンブラックのナノサイズ粒子を妊娠 5, 9 日目の 2 回点鼻投与し、生まれて 6 週目と 12 週目のマウスの脳血管周囲のマクローファージやアストロサイト (星状膠細胞) に顕著な影響が現れていることを報告している。

このように鼻腔から取り込まれる場合は、嗅覚上皮層に存在する嗅覚受容体神経線維が pinocytosis や endocytosis で粒子を取り込むことで中枢神経系まで侵入すると考えられている。こうした事実に基づいて、Genc ら (31) は微小粒子あるいはナノ粒子、LPS (細菌細胞壁成

分) などが呼吸器あるいは嗅覚上皮層を経て脳神経系を含む全身の組織に取り込まれる仕組みを紹介している (図 3)。なお、これらの取り込みには粒子サイズ、電荷、化学組成等の多くの要因が影響するという。

2.3. 脳組織での微小粒子による活性酸素産生メカニズム

上記のようにナノ粒子が脳内に入ると、図 3 に示したように、ミクログリア細胞やアストロサイトがナノ粒子を貪食後、活性化されて脳神経系の炎症、酸化ストレスあるいは β -アミロイドタンパク質 ($A\beta$) の凝集などを起こして脳神経変性疾患を引き起こすと考えられている (32-35)。ミクログリア細胞やアストロサイトは、それら粒子を取り込むと細胞膜上の NADPH-oxidase が活性化され、ROS が多量に作られると考えられている。

また、 α -シヌクレイン依存性のミクログリア細胞やアストロサイトの活性化による ROS 産生には TLR4 (Toll like receptor-4) を必要とする経路も知られている (36)。すなわち、TLR4 が α -synuclein に依存してミクログリアやアストロサイトを活性化し、炎症性サイトカインの遊離と ROS を産生することが認められている。一方、TNF α , IL-1 あるいは ROS のような神経毒性因子の慢性的発生源が活性化されてミクログリアが神経細胞を損傷する (37) ことも知られている。

このように、神経毒性や神経変性性疾患の発症には、活性酸素とサイトカインの関与が決定的に重要な役割を果たしていることが判明してきた。

謝 辞

本総説は、一部文部科学省の科学研究費 (研究課題番号: 25340066) により実施された。

利益相反なし

文 献

- (1) 宮崎竹二, 船坂邦弘, 藁科宗弘, 他: 沿道周辺住宅の室内空気汚染. 大阪市立環境科学研究所報告 1995;58:7-17.
- (2) Schuetzle D, Lee FS, Prater TJ. The identification of polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) derivatives in mutagenic fractions of diesel particulate extracts. *Int J Environ Anal Chem* 1981;9:93-144.
- (3) Sagai M, Saito H, Ichinose T, Kodama M, Mori Y. Biological effects of diesel exhaust particles. I. In vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radical Biol Med* 1993;14:37-47.
- (4) Kumagai Y, Arimoto T, Shinyashiki M, Sagai M, Nakai Y, Yoshikawa T, et al. Generation of reactive oxygen species during interaction of diesel exhaust particle components with NADPH cytochrome P-450 reductase and involvement of the bioactivation in the DNA damage. *Free Radical Biol Med* 1997;22:479-487.
- (5) Ichinose T, Yajima Y, Nagashima M, Takenoshita S, Nagamachi Y, Sagai M. Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxy-deoxyguanosine in mice by diesel exhaust particles. *Carcinogenesis* 1997;18:185-192.
- (6) Sagai M, Lim HB, Ichinose T. Lung carcinogenesis by diesel exhaust particles and the carcinogenic mechanism via active oxygen. *Inhalation Toxicol* 2000;12:215-223.
- (7) Sullivan PD. Free radicals of benzo(a)pyrene and derivatives. *Environ Health Perspect* 1985;64:283-295.
- (8) Melikian AA, Sun P, Prokopczyk B, El-Bayoumy K, Hoffmann D, Wang X, et al. Identification of benzo[a]pyrene metabolites in cervical mucus and DNA adducts in cervical tissues in humans by gas chromatograph-mass spectrometry. *Cancer Lett* 1999;146:127-134.
- (9) Kim HS, Kwack SJ, Lee BM. Lipid peroxidation, antioxidant enzymes, and benzo[a]pyrene-quinones in the blood of rats treated with benzo[a]pyrene. *Chem Biol Interact* 2000;127:139-150.
- (10) Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K. Tobacco smoke: Involvement of reactive oxygen species and stable free radicals in mechanisms of oxidative damage, carcinogenesis and synergistic effects with other respirable particles. *Int J Environ Res Public Health* 2009;6:445-462.
- (11) Xiao GG, Wang M, Li N, Loo JA, Nel AE. Use of proteomics to demonstrate a hierarchical oxidative stress response to diesel exhaust particle chemicals in a macrophage cell line. *J Biol Chem* 2003;278:50781-50790.
- (12) Hoidal JR, Fox RB, LeMarbe PA, Perri R, Repine JE. Altered oxidative metabolic response in vitro of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* 1981;123:85-89.
- (13) Xia T, Korge P, Weiss JN, Li N, Venkatesan MI, Sioutas C, et al. Quinones and aromatic chemical compounds in particulate matter induce mitochondrial dysfunction: implications for ultrafine particle toxicity. *Environ Health Perspect* 2004;112:1347-1358.
- (14) Li N, Venkatesan MI, Miguel A, Kaplan R, Gujuluva C, Alam J, et al. Induction of heme oxygenase-1 expression in macrophages by diesel exhaust particle chemicals and quinones via the antioxidant-responsive element. *J Immunol* 2000;165:3393-3401.
- (15) Li N, Alam J, Venkatesan MI, Eiguen-Fernandez A, Schmitz D, Di Stefano E, et al. Nrf2 is a key transcription factor that regulates antioxidant defense in macrophages and epithelial cells: protecting against the proinflammatory and oxidizing effects of diesel exhaust chemicals. *J Immunol* 2004;173:3467-3481.
- (16) Li N, Sioutas C, Cho A, Schmitz D, Misra C, Sempf J, et al. Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. *Environ Health Perspect* 2003;111:455-460.
- (17) Dockery DW, Pope CA III, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, et al. An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *N Engl J Med* 1993;329:1753-1759.
- (18) Pope CA III, Thun MJ, Namboodiri MM, Dockery DW, Evans JS, Speizer FE, et al. Particulate air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of U.S. adults. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:669-674.
- (19) Pope CA III, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA* 2002;287:1132-1141.
- (20) Pope CA III, Rodermund DL, Gee MM. Mortality effects of a copper smelter strike and reduced ambient sulfate particulate matter air pollution. *Environ Health Perspect* 2007;115:679-683.
- (21) Leduc D, Fally S, De Vuyst P, Wollast R, Yernault JC. Acute exposure to realistic acid fog: effects on respiratory function and airway responsiveness in asthmatics. *Environ Res* 1995;71:89-98.
- (22) Linn WS, Anderson KR, Shamoo DA, Edwards SA, Webb TL, Hackney JD, et al. Controlled exposures of young asthmatics to mixed oxidant gases and acid aerosol. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:885-891.
- (23) Avol EL, Jones MP, Bailey RM, Chang NM, Kleinman MT, Linn WS et al. Controlled exposures of human volunteers to sulfate aerosols. Health effects and aerosol characterization. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:319-327.
- (24) Valavanidis A, Fiotakis K, Vlachogianni T, Bakeas EB, Triantafyllaki S, Paraskevopoulou V, et al. Characterization of atmospheric particles, particle-bound transition metals and polycyclic aromatic hydrocarbons of urban air in the centre of Athens (Greece). *Chemosphere* 2006;65:760-768.
- (25) Valavanidis A, Fiotakis K, Bakeas E, Vlachogianni T. Electron paramagnetic resonance study of the generation of reactive oxygen species catalyzed by transition metals and quinoid redox cycling by inhalable ambient particulate matter. *Redox Rep* 2005;10:37-51.
- (26) Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation* 2002;105:411-414.
- (27) Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Lunts A, et al. Extrapulmonary translocation of ultrafine

- carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats. *J Toxicol Environ Health* 2002;65:1531–1543.
- (28) Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W, et al. Translocation of inhaled ultrafine particles to the brain. *Inhal Toxicol* 2004;16:437–445.
- (29) Sugamata M, Ihara T, Takano H, Oshio S, Takeda K. Maternal diesel exhaust exposure damages newborn marine brains. *J Health Sci* 2006;52:82–84.
- (30) Onoda A, Umezawa M, Takeda K, Ihara T, Sugamata M. Effects of maternal exposure to ultrafine carbon black on brain perivascular macrophages and surrounding astrocytes in offspring mice. *PLoS One* 2014;9:e94336.
- (31) Genc S, Zadeoglulari Z, Fuss S, Genc K. The adverse effects of air pollution on the nervous system. *J Toxicol* 2012;2012:782462.
- (32) Block ML, Wu X, Pei Z, Li G, Wang T, Qin L, et al. Nanometer size diesel exhaust particles are selectively toxic to dopaminergic neurons: the role of microglia, phagocytosis, and NADPH oxidase. *FASEB J* 2004;18:1618–1620.
- (33) Johnstone M, Gearing AJ, Miller KM. A central role for astrocytes in the inflammatory response to beta-amyloid; chemokines and reactive oxygen species are produced. *J Neuroimmunol* 1999;93:182–193.
- (34) Milton RH, Abeti R, Averaimo S, DeBiasi S, Vitellaro L, Jiang L, et al. CLIC1 function is required for beta-amyloid-induced generation of reactive oxygen species by microglia. *J Neurosci* 2008;28:11488–11499.
- (35) Peterson LJ, Flood PM. Oxidative stress and microglial cells in Parkinson's disease. *Mediators Inflamm* 2012;2012:401264.
- (36) Fellner L, Irschick R, Schanda K, Reindl M, Klimaschewski L, Poewe W, et al. Toll-like receptor 4 is required for α -synuclein dependent activation of microglia and astroglia. *Glia* 2013;61:349–360.
- (37) Lull ME, Block ML. Microglial activation and chronic neurodegeneration. *Neurotherapeutics* 2010;7:354–365.