硫酸および硫酸塩ミスト吸入時の 呼吸生理学的変化について

Respiratory Response to Sulfuric Acid and Sulfate Salts Mist

国立公害研究所環境保健部

平野 靖史郎・安達 史朗・小野 雅司
新田 裕史・金子 勇・脇阪 一郎

Seishiro Hirano, Shiro Adachi, Masashi Ono,
Hiroshi Nitta, Isamu Kaneko and Ichiro Wakisaka

*Environmental Health Sciences Division,
National Institute for Environmental Studies, Ibaraki*

In order to investigate the effects of sulfuric acid and sulfate salts mist on the respiratory system, guinea pigs were exposed to acute conditions of sulfuric acid, ammonium bisulfate, ammonium sulfate, sodium bisulfate, sodium sulfate of 50 mg-SO₄/m³, respectively. Animals developed laboured breathing, only when exposed to acidic mist. Furthermore, it was shown that laboured breathing might be related to the acidity of mist. No significant differences in respiratory frequency (*f*), total respiratory system resistance (T.R.S.R) and pseudo-flow rate (*V*_{pse}) were observed between ammonium bisulfate (acidic) exposed group and ammonium sulfate (neutralized salt) exposed group, before laboured breathing development. Histamine content of lung and tracheal tissues were also examined. Tracheal histamine level of ammonium salts exposed group was reduced compared to the control group, but the relationship between laboured breathing development and histamine content was not observed.

Key words: Sulfuric acid, Sulfate salts, Mist, Guinea pig, Respiratory response,
Histamine
硫酸, 硫酸塩, ミスト, モルモット, 呼吸の変化, ヒスタミン

緒 言

大気環境中では、光化学反応によって生じる硫酸ミストのほかに、様々な硫酸塩のミストもサブミクロン大の粒径で存在する¹⁾。これらの粒子状物質は、SO₂, NO₂, O₃のようなガス状物質とともに呼吸器を中心とした人の健康に影響を及ぼしていると考えられる。また、ドノラ事件において硫酸亜鉛アンモニウムが重要な汚染物質であった可能性も指摘されている²⁾。しかし、ガス状物質に比べると粒子状物質による生体影響の研究例は少なく、また、硫酸および硫酸塩の呼吸器に及ぼす影響を同じ条

件で比較した例は稀である³⁾。

そこで著者らは、高濃度急性ではあるが、硫酸、硫酸水素アンモニウム、硫酸アンモニウム、硫酸水素ナトリウムおよび硫酸ナトリウムミストのモルモットへの吸入実験を行なった。硫酸根基準で同濃度、また必ずしも同程度の呼吸器内沈着を意味するものではないが、光散乱式粒子計で測定したとき同じ粒径となるように暴露条件を設定するとともに、主として呼吸生理学的手法を用いて、それぞれのミストに対する影響を比較し、興味ある成績を得たので報告する。

実験方法

1. 供試動物

体重310~360 g の Hartley 系雌性モルモット (常陸動物医研) を用いた。この実験で用いた動物は、導入後の飼育環境はコンペンショナルであるが、導入時はすべて SPF である。

2. 粒子の発生および測定方法

粒子の発生には、定出力アトマイザー (日本科学工業, 3076) および、これと同仕様のガラス製アトマイザーを作成して使用した。Fig. 1 に示すように、アトマイザーは噴霧圧を下げるほど、また、試料溶液の濃度が高いほど大きな径の粒子を発生しうる。この性質を利用して、5 種類のエアロゾル粒径が一定となるように発生条件を調整した。

チャンバー内のエアロゾル濃度の変動は、デジタル粉塵計 (日本科学工業, 3411, アナログ信号が取り出せるように改良) を用いて暴露中モニターした。またチャンバー内エアロゾルの重量濃度は、約 1 l/min の吸引速度で Fluoropore (住友電工, pore size $0.1\mu\text{m}$) に粒子を捕集し、脱イオン水で振盪溶出させた後、硫酸の濃度は

Fig. 1 Changes in mass median diameter (MMD) of NaHSO_4 mist at various concentrations of the solution (●, at 35 psi) and atomizing pressure (▲, at 0.4mol/l).

1. Air drier	8. Mixing box	15. Pressure detector
2. Line filter	9. Exposure chamber	16. Filter (for sampling)
3. Micromist filter	10. Filter	17. Sucking pump
4. Charcoal filter	11. Damper	18. Gas meter
5. Pressure regulator	12. Sucking pump	19. Digital dust monitor
6. Atomizer	13. Thermometer	20. Laser aerosol counter
7. Bubbler	14. Hygrometer	

Fig. 2 Flow diagram of aerosol exposure system.

導電率計（東亜電波工業，CM-30ET），他の硫酸塩の濃度はイオンメーター（ORION RESEARCH 601A，又は，電気化学計器 IOC-10）を用いて測定した。吸引流量は湿式ガスメーターにて積算し，所定の補正を行ない求めた。粒径の測定には Laser Aerosol Counter（Hiac/Royco 236）を用いたが，coincidence error を10%以下におさえるため，エアロゾルを約1000倍希釈してから粒子計に導いた。

3. 暴露方法

使用した暴露装置の概念図を Fig. 2 に示す。アトマイザーより発生した粒子は，清浄空気およびバブラーにより加湿された空気により，混合槽内で希釈される。これより，エアロゾルの一部はチャンパーを経由し，残りはバイパスを経由し，フィルターにて粒子成分除去後排気される。吸入方法は頭部暴露であり，呼吸機能測定用の body plethysmograph をそのままアニマルホルダーとして用いた。ホルダーと動物の首はポリウレタンフォームを用いてシールした。また，モルモットをアニマルホルダーに慣らすため，あらかじめ3時間の sham-exposure を行ない，その翌日に約50mg-SO₄/m³ のエアロゾルに1時間暴露させた。チャンパー内の温湿度は，それぞれ約24°C，50%であった。

4. Laboured Breathing 及びヒスタミン含量

Laboured Breathing（以下 L.B. と略す）のフローパターンを Fig. 3 に示す。L.B. が起こると，モルモットの胸郭，腹筋等は普通とは著しく異なる動きをするので，実際にはこれらの動きを観察することにより，1時間以内に L.B. を起こした動物の匹数，及び暴露開始より L.B. を起こすまでの時間を調べた。また，動物を1時間ミストに暴露させた後，ネブプタール麻酔下で腹大動脈より放

血死せしめ，気管，肺を摘出した。これらの臓器は重量測定の後-20°Cで保存し，ヒスタミンの定量に供した。ヒスタミンの定量は Shore ら⁴⁾の変法である Anton & Sayre⁵⁾の蛍光法に準じて行なった。肺，気管ホモジネート上清からのヒスタミン回収率は，4回の平均でそれぞれ56%（56.1，54.8，55.7，58.8）および50%（49.1，51.1，47.0，52.4）であったので，補正を行ない各サンプルごとのヒスタミン含量を求めた。

5. 呼吸機能の測定方法

呼吸機能の測定は Fig. 4 に示すように，マスクを介してミストに暴露させながら間歇的に行なった。Fig. 5 に測定のプロトコールを示す。モルモットは前述のように Body Plethysmograph やマスクに慣れさせてから実験に用いた。NH₄HSO₄，(NH₄)₂SO₄ ミスト暴露群でそれぞれ9匹中3匹，Sham-exposure 群で8匹中2匹の動物は，測定中マスクをはずそうとしたため測定し得なかったが，慣れの差をなくすために，これらの動物は実験から除外した。動物の顔とマスクは，厚さ2mmの柔らかいゴム製パッキングでシールした。呼吸機能の測定時には，センサーの保護とマスク内のCO₂の貯留防止のため，Fig. 4においてチューブクランプ4を絞め，ストッパー8を開け，室内空気をマスク内に流した。このときポンプの脈流が気流速度の測定に影響しないようにするため，クリティカルオリフィス17（Millipore，1 l/min）および150ccのダンパー用ボトル18，2ケを使用した。

全呼吸器抵抗（T.R.S.R.）の測定は Loud Speaker（36 cmφ）によるサイン波加圧法にて行なった。気流速度は，Pneumotachograph（Fleisch #0000）と Transducer（Validyne，MP-45，±2 cmH₂O）を用いて，またマスクと Body Plethysmograph 間の差圧は，Transducer

Fig. 3 Normal (A) and laboured breathing (B) flow pattern.

1. Low pass filter	8. Stopper	14. Power supply
2. Oscilloscope	9. Pneumotachograph	15. Function generator
3. Carrier demodulator	10. Face mask	16. Air filter
4. Tube clamp	11. Body plethysmograph	17. Critical orifice
5. Transducer (2 cm H ₂ O)	12. Loud speaker	18. Damper
6. Transducer (5 cm H ₂ O)	13. Power amplifier	19. Sucking pump
7. Direct-writing oscillograph		

Fig. 4 Method for measurement of f , T.R.S.R., and $\dot{V}_{pse}$.

Fig. 5 Measurement protocol.

(Validyne, MP-45, ± 5 cmH₂O) を用いて測定した。T.R.S.R.は, Fig. 6において ΔP を $\dot{V}$ で除することにより求まる^{6,7)}。また気流速度のシグナルをローパスフィルター(遮断周波数4.1Hz, 減衰傾度260dB/oct.)にてサイン波成分を除去し, 呼吸数(f)を読みとり, 除去後の peak to peak の高さを pseudo-flow rate ($\dot{V}_{pse}$) と定義した。pseudo としたのは, サイン波成分除去後も自発呼吸の他に, ローパスフィルター由来の高調波が含まれるためである。それぞれの T.R.S.R.および $\dot{V}_{pse}$ の値は, 平均的な波形5ケを選びそれらの平均値とした。

6. 検定

検定はすべて t 検定で行ない, $p < 0.05$ を有意水準とした。

Fig. 6 Simultaneous recording of imposed sine wave oscillating pressure (A) and flow (B) in a guinea pig.

結 果

1. 暴露条件に関して

Table 1 に、暴露チャンバー内のエアロゾル濃度、濃度変動ならびに粒子の重量中央径 (MMD) とその幾何標準偏差 (σ_g) を示した。MMD は、粒子計にて測定した粒子数を各粒径で粒子の密度が同じであるという仮定のもとに重量に換算して求めた。いずれの場合も、濃度は硫酸根基準で $50\text{mg}/\text{m}^3$ 、かつ MMD は $0.55\mu\text{m}$ 前後と一

定であり、粒径の分散に差違はあるが、5 種類のミストがほぼ同一条件で暴露されていることがわかる。

2. 頭部暴露における動物の Training 効果

頭部暴露実験では、動物を何らかの方法でホルダーに保定する必要があるが、往々にして動物が束縛から逃れようとホルダー内で暴れる現象を見受ける。Fig. 7 は、暴露前日、前々日にホルダーに慣れさせる練習をしてから用いた動物と、練習させないで用いた動物が、 $50\text{mg}/\text{m}^3$ の硫酸ミストを吸入したとき、暴露後何分で

Table 1 Exposure condition.

	H_2SO_4	NH_4HSO_4	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	NaHSO_4	Na_2SO_4
Concentration	48.0	50.9	49.6	50.0	51.0
($\text{mg-SO}_4/\text{m}^3$)	$\pm 7.9\%$	$\pm 4.2\%$	$\pm 8.1\%$	$\pm 4.4\%$	$\pm 8.0\%$
MMD ¹⁾ (μm)	0.55	0.56	0.58	0.54	0.54
σ_g ²⁾	1.87	1.85	2.39	1.90	2.62

1) Mass median diameter, 2) Geometric standard deviation.

Fig. 7 Delaying of laboured breathing development depending on training time for head exposure. Number of nonresponsive animals are given in parentheses. (***-----Significantly different from 0 hr value, $p < 0.001$. H_2SO_4 -----50 mg/m^3 .)

L.B.を起こすかを示したものである。ホルダーに一度慣れさせた動物は、慣れてない動物に比べ、L.B.を起こすまでの時間が著しく延長されている。このことは、頭部暴露を行なう際に、動物が安静な状態で暴露するように、あらかじめ慣らしておく事の必要性を示唆している。

3. 呼吸器への影響

Table 2 に、使用した動物の匹数、1時間以内にL.B.を起こした動物の匹数、体重、L.B.を起こした動物と反応しなかった動物の肺の湿重量、ならびに暴露後の肺と気管のヒスタミン含量を示した。L.B.を起こしたのは H_2SO_4 、 NH_4HSO_4 、 NaHSO_4 のミスト暴露群であり、完全に中和された塩である $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 Na_2SO_4 のミスト暴露群ではL.B.は観察されない。また、L.B.を起こした動物の肺はいずれも出血を認め、湿重量は反応しなかった動物の肺に比べ著しく大きい。肺のヒスタミン含量は個体差も大きく、コントロール値に比べ顕著な差はないが、気管のヒスタミン含量は、 NaHSO_4 暴露群で高く、アンモニウム塩暴露群ではいずれもコントロール値に比べ低い値を示した。

また、L.B.を起こすまでに、動物の呼吸機能に何らかの変化を認めるかどうかを確認するために、 f 、T.R.S.R.、 $\dot{V}_{\text{pse}}$ を同じアンモニウム塩でかつL.B.を起こすポテンシャルの高い NH_4HSO_4 とそうでない $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ について検討した。 NH_4HSO_4 ミスト暴露開始よりL.B.を起こすまでの時間は11~35min (平均16.5min) であったので、Fig. 5 に示すように暴露時間は合計7 min とした。T.R.S.R.を測定するにあたり、サイン波の加圧予備実験を行なった。Fig. 8 に加圧したサイン波の差圧 (ΔP) と気流速度 ($\dot{V}$) との関係、ならびにサイン波の周波数 (f)

Table 2 Effects of 1 hr exposure of 50 $\text{mg}\text{-SO}_4/\text{m}^3$ on guinea pigs.

		Control	H_2SO_4	NH_4HSO_4	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	NaHSO_4	Na_2SO_4
Number of animals		13	10	10	10	10	11
Number of animals developed L.B. ¹⁾		—	9	8	—	2	—
Body weight (g)	mean	329	330	326	328	332	327
	S.D.	13.6	14.5	4.69	11.9	8.75	8.79
Lung weight (mean, g)	N.R. ²⁾	1.75	1.67	1.84	1.85	1.86	1.89
	L.B.	—	2.31	2.31	—	1.96	—
Histamine content of lung ($\mu\text{g}/\text{lung}$)	mean	33.7	42.0	30.2	36.0	42.4	32.7
	S.D.	12.7	11.6	14.6	27.4	16.5	10.5
Histamine content of trachea ($\mu\text{g}/\text{g}$)	mean	5.35	4.74	4.12*	4.55*	6.30*	5.45
	S.D.	1.04	0.90	1.36	0.79	1.10	2.02

1) Laboured breathing, 2) No response, * Significantly different from control value ($p < 0.05$).

と T.R.S.R.との関係を示した。 ΔP と $\dot{V}$ は直線関係があるので、 ΔP を特に制御はしなかったが、約 7 cmH₂O (± 3.5 cmH₂O) とし、 f_s は T.R.S.R.が最小値をとる(呼

吸器の粘性抵抗を表わしている) 11Hz に固定した。Fig. 9 に f , T.R.S.R., $\dot{V}_{pse}$ の暴露に伴う経時変化を示した。T.R.S.R.の経時変化においてやや上下の変動が見ら

Fig. 8(a) Relations between differential pressure (ΔP) and respiratory flow rate ($\dot{V}$) of four guinea pigs.

Fig. 8(b) Total respiratory system resistance (T.R.S.R.) of three guinea pigs at different oscillation frequencies.

Fig. 9 Profiles of percent change of (a) f , (b) T.R.S.R., (c) $\dot{V}_{pse}$ with time. ($N=6$, for each exposure, respectively.)

れるが, f , T.R.S.R. に関してはほとんど変化を認めない。 $\dot{V}_{pse}$ は暴露中高い値を示すが, NH_4HSO_4 と $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ミスト暴露群では顕著な差を認めない。

考 察

1. ミストの暴露方法論について

一般に, 粒子状物質の暴露実験においては, その発生方法の違いから, グスト, ミスト, ヒュームに分けて実験方法が考えられている⁹⁾。ミストの発生は, ほとんどの場合アトマイザーか超音波ネブライザーで行なわれているが, この実験では Fig. 1 に示すように, 比較的単純な方法により粒径を変えることができることもあり, アトマイザーを用いてミストを発生させた。ミストの発生条件 (噴霧圧, 溶液濃度) を変えることによるチャンパー内のエアロゾル濃度の違いは, 希釈エアの量を変えることにより一定にすることができる。また頭部暴露の場合あまり問題にならないが, 希釈エアの量により変わるチャンパーの換気回数はバイパスで余剰分を取り除くことにより一定に保たれる。これら 3 つの条件, すなわち噴霧圧, 溶液濃度, 希釈率をうまく組み合わせることにより, 用いた 5 種類の硫酸および硫酸塩のミストを, 同じ濃度, かつ同じ重量中央径で動物に吸入させることが可能となった。ただし, 硫酸塩は高沸点のため, 蒸発凝縮器などを用いて粒子の単分散化⁹⁾を行なうことができないので, 粒径の分散まではそろえることができなかった。

頭部暴露法は全身暴露法に比べ, 長時間の吸入実験や, 動物数の多い実験には不適當であるが, 個々の動物の反応を調べるのに適している。しかし, 動物を保定する必要があるため, 暴露中動物にストレスを与える可能性がある。Fig. 7 は, 動物がホルダーに慣れていないと, 多分, 暴れることによる吸入量の増大と, 呼吸の乱れによる肺内沈着率の上昇などのために, 安静吸入時より, ミストの影響を受け易くなることを意味しているものと思われる。

2. 呼吸器への影響

高濃度の硫酸ミストを吸入したモルモットが L.B. を起こし, 著しい肺の損傷を伴うことが, Wolff¹⁰⁾, Silbaugh^{11,12)} により報告されている。Table 2 に示すように, L.B. は硫酸ミストに特有な反応ではなく, 硫酸水素塩のように酸性度の高いミスト吸入時にも起こる反応である。さらにこの実験で用いた 5 種類の化合物の酸性度が,

であることを考慮すれば, L.B. は粒子の酸性度が高いほど起こり易いことがわかる。しかし, この L.B. は NO_2 , O_3 吸入時¹³⁾ や, ヒスタミン吸入時¹⁴⁾ にも起こることから, 酸すなわち H_3O^+ が直接の原因であると結論するには問題がある。一方, アレルギー性喘息発作の原因物質はヒスタミンや SRS-A であると考えられている^{15,16)} ので, 肺と気管のヒスタミン含量を測定したが, L.B. を起こした動物と反応しなかった動物では特に差を認めなかった。しかし, 各ミスト暴露群の数が少ないのでさらに検討を要する。ヒスタミン含量を, 各ミスト暴露群間で比較すると, NaHSO_4 ミストを暴露した群では気管のヒスタミン含量は高く, アンモニウム塩ミスト暴露群では低くなっている。前者についての理由は不明であるが, 後者については, Charles & Menzel の肺組織を用いた *in vitro* の実験結果¹⁷⁾ と一致するものと考えられる。 NO_2 や O_3 暴露時のヒスタミン含量の変化についての研究例¹⁸⁻²⁰⁾ もあり, 汚染物質吸入時の mediator の動きについてはさらに検討が必要である。

L.B. を起こすポテンシャルの高い NH_4HSO_4 とそうでない $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ のミスト吸入時において, 7 min の暴露では, f , T.R.S.R., $\dot{V}_{pse}$ などの呼吸機能の項目に際違った違いがみられない。また, L.B. は all or nothing の反応であり, モルモットの strain の違いにより L.B. の起こり易さが異なる²¹⁾ ことも考え合わせると, 硫酸や硫酸水素塩のミストにより惹起される L.B. は, 酸性粒子に感受性の高い動物の発作的現象としてとらえることができる。

結 語

モルモットに, H_2SO_4 , NH_4HSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaHSO_4 , Na_2SO_4 のミストを同条件で暴露し呼吸器の影響を観察した。また, ミストの吸入実験方法も合わせて検討した。

1. アトマイザーの噴霧圧と溶液濃度, ならびに希釈エアの量をうまく組み合わせることにより, 異なる化合物のミストの暴露条件 (エアロゾル濃度, 粒径) をそろえることができる。

2. 頭部暴露を行なう際, 影響を同じ条件下で評価するために, 動物をホルダー等に慣らす必要がある。

3. Laboured Breathing は, 粒子の酸性度と密接な関係があると思われる。

4. アンモニウム塩の暴露により, 気管のヒスタミン含量は減少した。

5. Laboured Breathing が起こるまでに, 呼吸機能

の著しい変化は認めなかった。

謝 辞

暴露装置の作製、および粒子の測定法について、野崎亘右先生（日本バイオアッセイ研究センター）ならびに村野健太郎氏（国立公害研究所、大気環境部）から適切な助言をいただきました。また、終始激励して下さい、中野篤浩氏、安藤満氏、遠山千春氏、竹中参二氏に深謝します。

文 献

- 1) Higgins, I.T.T., Albert, R.E., Charlson, R.J., Darley, E.F., Ferris, B.G. Jr., Frank, R., Whitby, K.T. and Redmond, J. Jr.: *Airborn Particles*, p. 65, University Park Press, Baltimore (1979).
- 2) Amdur, M.O. and Corn, M.: The irritant potency of zinc ammonium sulfate of different particle sizes, *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **24**, 326-333 (1963).
- 3) Amdur, M.O., Bayles, J., Ugro, V. and Underhill, D.W.: Comparative irritant potency of sulfate salts, *Environ. Research*, **16**, 1-8 (1978).
- 4) Shore, P.A., Burkhalter, A. and Cohn, V.H. Jr.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues, *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **127**, 182-186 (1959).
- 5) Anton, A.H. and Sayre, D.F.: A modified fluorometric procedure for tissue histamine and its distribution in various animals, *J. Pharmacol. exp. Ther.*, **166**, 285-292 (1969).
- 6) 外山敏夫, 香川順: 空気汚染研究における Total Respiratory Flow Resistance の測定法について, *日衛誌*, **18**, 393-401 (1964).
- 7) Swann, H.E. Jr., Brunol, D. and Balchum, O.J.: Pulmonary resistance measurement of guinea pigs, *Arch. Environ. Health*, **10**, 24-32 (1965).
- 8) 河合清之, 横山栄二編: 環境大気汚染研究のための吸入実験, p. 116, ソフトサイエンス社, 東京 (1979).
- 9) 田町敏夫, 高橋幹二, 伊藤春海, 鳥塚亮爾: 種々の化合物質を含む吸入用エアロゾルの生成, *大気汚染学会誌*, **18**, 147-155 (1983).
- 10) Wolff, R.K., Silbaugh, S.A., Brownstein, D.G., Carpenter, R.L. and Mauderly, J.L.: Toxicity of 0.4- and 0.8- μ m sulfuric acid aerosols in the guinea pig, *J. Toxicol. Environ. Health*, **5**, 1037-1047 (1979).
- 11) Silbaugh, S.A., Wolff, R.K., Johnson, W.K., Mauderly, J.L. and Macken, C.A.: Effects of sulfuric acid aerosols on pulmonary function of guinea pigs, *J. Toxicol. Environ. Health*, **7**, 339-352 (1981).
- 12) Silbaugh, S.A., Mauderly, J.L. and Macken, C.A.: Effects of sulfuric acid and nitrogen dioxide on airway responsiveness of the guinea pig, *J. Toxicol. Environ. Health*, **8**, 31-45 (1981).
- 13) Matsumura, Y.: The effects of ozone, nitrogen dioxide, and sulfur dioxide on the experimentally induced allergic respiratory disorder in guinea pigs, *Amer. Rev. Resp. Dis.*, **102**, 430-437 (1970).
- 14) 山内信和, 須甲松信, 伊藤幸治, 宮本昭正: モルモット気管支喘息モデル, *アレルギー*, **32**, 1084-1092 (1983).
- 15) 伊藤隆: 気管支喘息—抗原吸入誘発における Slow Reacting Substance of Anaphylaxis, ヒスタミンの動態, *アレルギー*, **32**, 1172-1179 (1983).
- 16) Lamm, W.J.E., Lai, Y.L. and Hildebrandt, J.: Histamine and leukotrienes mediate pulmonary hypersensitivity to antigen in guinea pigs, *J. Appl. Physiol.*, **56**, 1032-1038 (1984).
- 17) Charles, J.M. and Menzel, D.B.: Ammonium and sulfate ion release of histamine from lung fragments, *Arch. Environ. Health*, **30**, 314-316 (1975).
- 18) Dixon, J.R. and Mountain, J.T.: Role of histamine and related substance in development of tolerance to edemagenic gases, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **7**, 756-766 (1965).
- 19) Suzuki, T.: Effect of exposure to O₃, SO₂ and NO₂ upon the lung histamine content of guinea pigs, *Bull. Tokyo Med. Dent. Univ.*, **16**, 99-108 (1969).
- 20) 林謙治: 大気汚染の気管支喘息発症に及ぼす影響に関する実験的研究, *日本公衛誌*, **22**, 325-331 (1975).
- 21) Silbaugh, S.A., Wolff, R.K., Mauderly, J.L. and Johnson, W.K.: Pulmonary effects of inhaled sulfuric acid aerosols in guinea pigs, *Doe Symp. Ser.*, **53**, 367-377 (1980). (受付 1984年8月18日)