

4. 開発システムの評価

NEDO 開発新技术を搭載した大型エンジン 1 台（以下、NEDO 開発エンジンと称す）と小型車両 1 台（NEDO 開発車両）を選定した。また、革新的システムの性能を既存システムと比較するために、対照用の大型エンジン 2 台（長期規制対応、新長期規制対応）および小型車両 1 台（対照車両）を選定した。

NEDO 開発エンジンは、NO_x と PM を同時に低減する DPF と SCR を組み合わせたシステムである。対照エンジンのうち長期規制対応は、後処理システムを用いていない。新長期規制対応は、尿素 SCR システムを用いている。これらベースとなるエンジンの基本的な仕様はほぼ同一である。

NEDO 開発車両は、新燃焼技術、触媒、DPF 技術を組み合わせ、排ガス低減、燃費向上を図るシステムである。対照車両は、評価試験時に市場より調達可能な最新のディーゼル乗用車とし、コモンレール式燃料噴射システムと NO_x 触媒、DPF によって排ガス低減を図る車両が選定された。

これらの試験エンジンおよび車両について市販 JIS2 号軽油を用いて、JE05 モード（エンジン）と JC08 モード（車両）試験を実施した。粒子や NO_x などの規制物質の排出量とともに、粒子個数や微量成分を計測した。試験は原則として繰り返し 3 回実施し、平均値と標準偏差を求めた。また、モード運転時に排出される芳香族成分についても計測した。試験燃料の性状を表 4.0.1 に示す。また、試験モード走行パターンを Fig.4.0.1 と Fig.4.0.2 に示す。評価試験装置全体の概要を Fig.4.0.3 に、試験装置の主要な諸元を表 4.0.2 から表 4.0.7 に示す。評価試験は、表 4.0.8 に示す項目について計測を行った。各チームが実施する未規制物質の評価試験に JARI はサンプリング・分析の協力を実施した。

表 4.0.1 燃料性状

		NEDO	NEDO	試験方法
		エンジン試験用	車両試験用	
密度 (15°C)	g/cm ³	0.8281	0.8277	JIS K2249
動粘度 @30°C	mm ² /s	4.214	4.215	JIS K2283
引火点	°C	77.0	78.0	JIS K2265
曇り点	°C	-3	-3	JIS K2269
目詰まり点	°C	-8	-14	JIS K2288
流動点	°C	-25	-25	JIS K2269
硫黄分	wtppm	4	4	JIS K2541-6
セタン指数		61.6	61.8	JIS K2280
蒸留性状	初留点 °C	185.5	188.5	JIS K2254
	5% °C	216.5	216.0	
	10% °C	232.0	232.0	
	20% °C	252.5	252.5	
	30% °C	268.0	267.0	
	40% °C	278.5	278.5	
	50% °C	288.5	288.0	
	60% °C	298.0	297.5	
	70% °C	308.0	307.5	
	80% °C	320.5	320.5	
	90% °C	337.5	338.0	
	97% °C	356.5	359.0	
	終点 °C	356.5	359.0	
全留出量	%	98.0	98.5	
残油量	%	2.0	1.5	
減失量	%	0.0	0.0	
窒素分	wtppm	<1	<1	JIS K2609
潤滑性(HFRR摩耗痕径)	μm	298	237	JPI-5S-50-98
炭化水素組成 vol%	Mono-Arom.	15.7	15.1	JPI-5S-49-97
	Di-Arom.	1.1	1.0	
	Tri-Arom.	0.4	0.5	
	Olef.	0.4	0.5	
	Sat.	82.4	82.9	

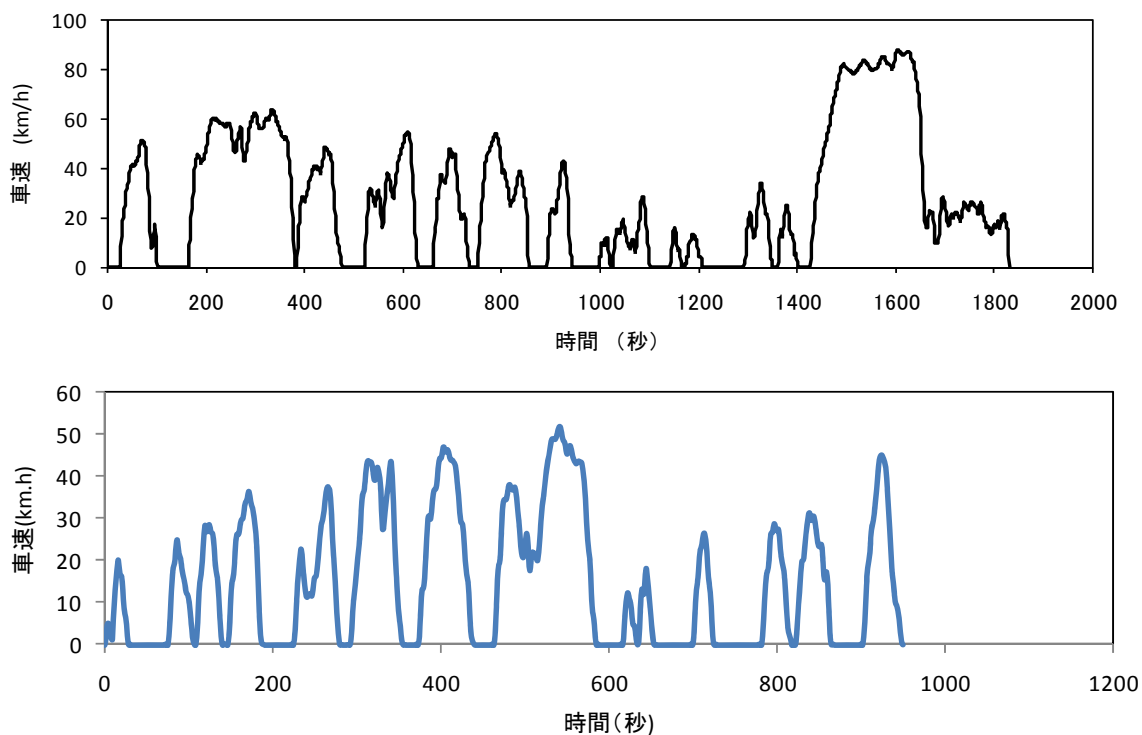


Fig. 4.0.1 試験走行モードパターン (上図 : JE05、下図 : HDV15)

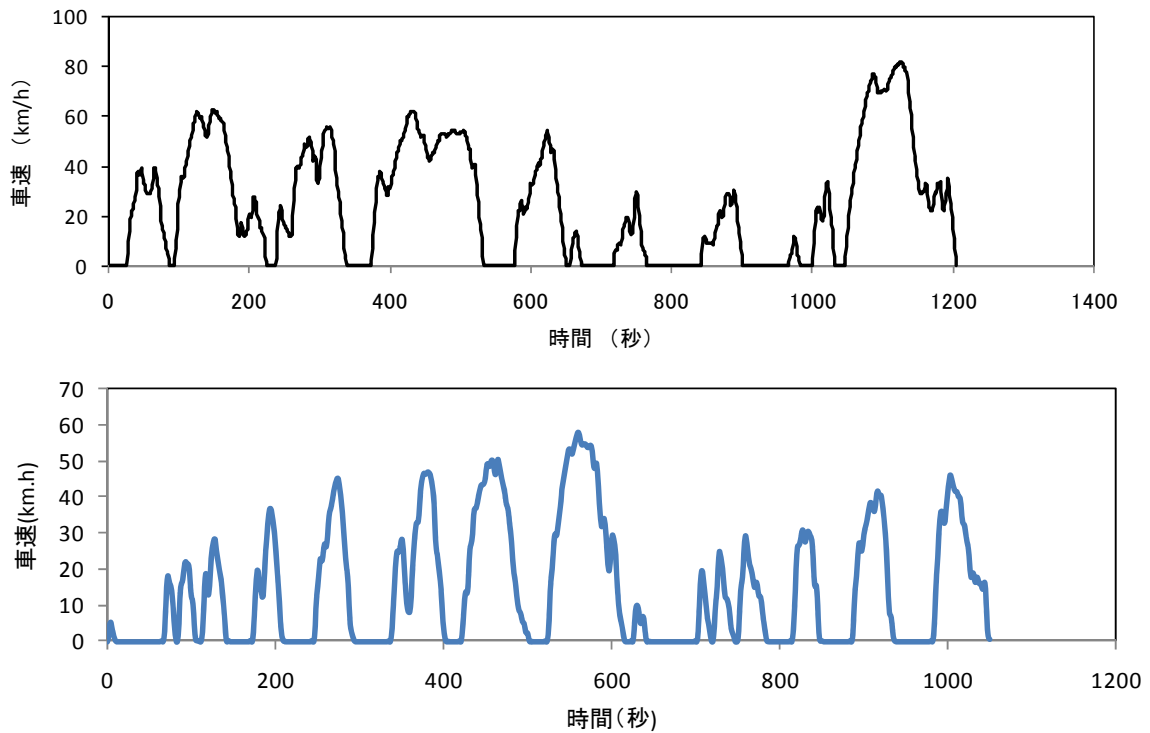


Fig. 4.0.2 試験走行モードパターン（上図：JC08、下図：LDV15）

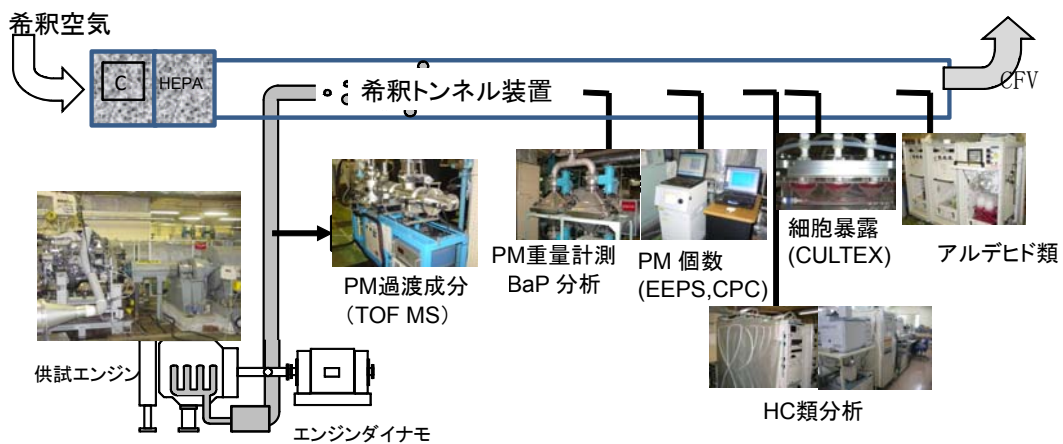


Fig. 4.0.3 評価試験装置の概要

表 4.0.2 エンジンダイナモメーター主要諸元

ダイナモメータ	型式	DC-DY
	容量	吸収/駆動 : 370/300kW
	回転速度	最大 : 4000rpm
	回転方向	可逆
	センターハイト	950mm
軸トルクメータ	トルク	1961N・m(200kgf・m)
操作制御盤	運転方法	自動運転
		手動運転

表 4.0.3 エンジン試験用希釈トンネル装置主要諸元

型式	CVS-9300T	
CVS流量	CFV : 20,40,60,70m ³ /min	
希釈トンネル直径	1段	60.56cm
	2段	8.31cm
粒子サンプル流量	50～ 200 L/min	
二次希釈空気流量	15～ 200 L/min	
希釈空気	温度	25±2℃
	湿度	50 ± 8 %RH

表 4.0.4 エンジン試験用排出ガス連続分析計諸元

型式		MEXA-9100DEGR
成分	測定原理	レンジ範囲
CO	NDIR	500, 1000, 3000(ppm), 1, 3, 10 (%)
CO ₂	NDIR	4, 8, 16 (%)
NO _x	CLD	10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000 (ppm)
THC	FID	10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000 (ppmC)

表 4.0.5 シャンダイナモメーター主要諸元

ローラ直径(mm)	1591
ローラ幅(mm)	600
最高速度(km/h)	150
ローラ材質	アルミ合金
等価慣性質量(kg)	650～2525
動力吸収方式	直流電気動力計
吸収容量(kW)	110
エンジン冷却ブロー	車速追従式
実験室温度(℃)	25±5
実験室湿度(%)	50±5

表 4.0.6 車両試験用希釈トンネル装置主要諸元

希釈 トンネル	型式	DLT-24
	全長(mm)	6200
	有効長(mm)	3048
	内径(mm)	304.8
	呼び径	12B
	材質	SUS304 鏡面バフ研磨仕上げ
	希釈空気温度(°C)	実験室と同様
	希釈空気湿度(%)	実験室と同様
C V S 装置	型式	CVS-56T
	吸引流量(m ³ /min)	3, 4, 5, 6, 9, 1215, 18, 24
	流量制御方式	CFV式

表 4.0.7 車両試験用排出ガス連続分析計諸元

	型式	MEXA-9400F
	用途	希釈分析計
分析 方法	THC	FID
	CO	NDIR
	CO ₂	NDIR
	NO _x	CLD
測定 レンジ	THC (ppmC)	10~5000
	CO (ppm)	100~3000
	CO ₂ (%)	1.0~6.0
	NO _x (ppm)	10~5000

表 4.0.8 総合評価の試験項目

物質等	エンジン NEDO	対照エンジン (長期)	(新長期)	車両 NEDO	対照	各チームへの 計測協力
1,3-Butadiene	○	○	○	○	○	○
Benzene	○	○	○	○	○	○
Toluene	○	○	○	○	○	○
Ethylbenzene	○	○	○	○	○	○
1,3,5-Trimethylbenzene	○	○	○	○	○	○
o-Xylene	○	○	○	○	○	○
m-Xylene	○	○	○	○	○	○
p-Xylene	○	○	○	○	○	○
Styrene	○	○	○	○	○	○
Formaldehyde	○	○	○	○	○	○
Acetaldehyde	○	○	○	○	○	○
Acrolein	○	○	○	○	○	○
Benzaldehyde	○	○	○	○	○	○
B[a]P	○	○	○	○	○	○
1-Nitropyrene	○	○	○	○	○	○
Di-Nitropyrene	○	○	○	○	○	○
N ₂ O, CH ₄	○	○	○	○	○	△
PM個数濃度	○	○	○	○	○	○
PM過渡排出成分	○	○	○	○	○	○
尿素由来成分	○	○	○	○	○	○
培養細胞暴露	○	○	○	○	○	○
エームス試験	○	○	○	○	○	○

4.1 未規制物質

4.1.1 未規制物質の計測

評価対象未規制物質としては、環境省の PRTR 制度対象物質と優先取組み 22 物質のうち自動車排出関連 5 物質、および米国の MSAT (Mobile Source Air Toxics) 21 物質、米国 ACES 研究などを参考に選定した。有害微量成分は多々あるが、今回の評価対象物質は内外の動向と照らし合わせても妥当なものとする。具体的には環境省の PRTR 対象物質のうち、自動車排出ガスが関連する物質 11 物質と多環芳香族炭化水素 (PAH) を代表してベンズ[a]ピレン (B[a]P)、ニトロ PAH を代表して 1-ニトロピレン(1-NP)とジニトロピレン (DNP) を選定した。B[a]P を代表とした理由は、PAH 類全体の健康への影響を評価する上で PAH 成分ごとの毒性換算係数を用いて全体の毒性値を算出することが試みられており、B[a]P は他の数多い PAH のなかで最も毒性換算係数が高いことによる。ニトロ PAH は、ディーゼル排気の後処理システムには酸化触媒の利用が当面不可欠と考えられ、この酸化触媒によって排気中の NO₂ の増加が予想され、しいてはニトロ化の促進が懸念されることによる。その他、温暖化ガスとして N₂O と CH₄ を、各種の金属化合物や炭素などのナノ粒子(超微小粒子)の健康への影響が懸念されていることから後処理装置によるナノ粒子排出有無を PM 個数濃度で、過渡運転時の高沸点の有害成分の排出動向を PM 過渡排出成分でそれぞれ評価した。また、NO_x 低減に尿素を用いる場合には尿素由来成分排出の有無を調べた。

これらの計測方法を表 4.1.1.1～表 4.1.1.10 に示す。また、各成分の検出下限値を表 4.1.1.11 に示す。

表 4.1.1.1 アルデヒド類分析方法

Equipment	High-performance liquid chromatograph (Shimadzu LC-10AD)
Detector	UV/VIS (Shimadzu SPD-M10A VP)
	Wavelength for detection : 365 nm
Column	Zorbax ODS 4.6 mm i.d. × (15 cm + 25 cm)
Oven temperature	50°C
Mobile phase	CH ₃ CN%/H ₂ O%
	50/50 → (30 min, linear gradient) → 80/20 (5 min) → 50/50 (10 min)
Mobile phase flow rate	1 ml/min
Injection volume	10 μl

表 4.1.1.2 ベンゼン等分析方法

Equipment	Gas chromatograph (Shimadzu GC-14B, GC-17A)	
Column	CH-1	PLOT($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{KCl}$); 0.32 mm i.d. × 30 m
	CH-2	HP-INNOWax 19091N-133; 0.25 mm i.d. × 30 m (0.25 μm film thickness) DB-1; 0.32 mm i.d. × 0.5 m (5.0 μm film thickness)
Detector	Flame ionization detector	
Detector temperature	250°C	
Injection temperature	150°C	
Oven temperature	GC-1; 150°C GC-2; 50°C (0 min) → (12°C/min) → 120°C (25 min) GC-3; 50°C (7.5 min) → (10°C/min) → 75°C (0 min) → (20°C/min) → 130°C (0 min) → (40°C/min) → 200°C (2 min)	
Gas	P-He:Carrier H ₂ :FID N ₂ :For liq.N ₂ injection C-Air:Valve drive	

表 4.1.1.3 1,3,5-TriMeB 分析方法

	Pre-separation	Main-separation
Equipment	Gas chromatograph (GL Sciences GC-353B)	Gas chromatograph (HP6890)
Detector	Flame ionization detector	Flame ionization detector
Detector temperature	250°C	250°C
Column	CHROMPAK CP-Sil 5CB; 0.32 mm i.d. × 30 m (1 μm film thickness)	SUPELCO WAX-10
Oven temperature	80°C (1 min) → (20°C/min) → 180°C (3 min)	40°C (1.2 min) → (20°C/min) → 200°C (2 min)
Injection temperature	50 °C	100 °C
First pressure	240 kPa (100°C)	300 kPa (100°C)
Carrier gas	He	He

表 4.1.1.4 1,3-ブタジエン分析方法

Equipment	Gas chromatograph (GL Sciences GC-353B)
Column	BX-10 2.2 mm i.d. × 30 cm 60/80 mesh PLOT ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{KCl}$); 0.32 mm i.d. × 4 m (5 mm film thickness) PLOT ($\text{Al}_2\text{O}_3/\text{KCl}$); 0.32 mm i.d. × 10 m (5 mm film thickness)
Detector	Flame ionization detector
Temperature	Oven; 80°C (1 min) → (20°C/min) → 135°C Detector; 200°C injection; 80°C
Gas	Carrier; P-He FID; H ₂ , Air For liquid N ₂ injection; P-N ₂

表 4.1.1.5 BaP 分析方法

Equipment	High-performance liquid chromatograph (Waters)
Detector	Fluorescence detector (Waters)
	Wavelength for detection;
	PAHs Ex (nm) Em (nm)
	Naphthalene 283 330
	Acenaphthene 296 337
	Fluorene 268 304
	Phenanthrene 296 367
	Fluoranthene 352 452
	Anthracene 381 403
	Pyrene 340 393
	Benz[<i>a</i>]anthracene 293 415
	Chrysene 274 360
	Benzo[<i>b</i>]fluoranthene 306 455
	Benzo[<i>k</i>]fluoranthene 382 407
	Benzo[<i>a</i>]pyrene 382 407
	Benzo[<i>ghi</i>]perylene 382 407
	Dibenz[<i>a,h</i>]anthracene 302 400
	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]Pyrene 388 508
Column	Guard column; Inertsil ODS-P (3 mm i.d. × 10 mm) Separation column; Inertsil ODS-P 3.0 mm i.d. × (25 cm) Separation column; Waters PAH C ₁₈ 2.0mm i.d. × (25 cm)
Oven temperature	40°C
Sample temperature	4°C
Mobile phase	CH ₃ OH 50% in H ₂ O%/H ₂ O%/CH ₃ CN% 50/50/0 (1min) → (29 min, linear gradient) → 0/100/0 → (30 min, exponential gradient) → 0/0/100 (15 min) → 50/50/0 (?? min)
Mobile phase flow rate	0.2 ml/min
Injection volume	2 μl

表 4.1.1.6 1-NP 分析方法

Equipment	High-performance liquid chromatograph (Shimadzu LC-10A VP)
Detector	Fluorescence detector (HITACHI L-7485)
	Wavelength for detection: Ex 360nm, Em 430nm
Column	Concentration column; Cosmosil 5C18MS, (4.6 mm i.d. × 250 mm) Separation column; Cosmosil 5PBB, (4.6 mm i.d. × 250mm) Concentration column; Cosmosil 5C18MS, (4 mm i.d. × 10 mm) Reduction column; Platinum black, 4 mm i.d. × 10 mm
Oven temperature	Guard column, Separation column; 30°C Reduction column; 150°C
Mobile phase	CH ₃ CN/H ₂ O 97%/3%, CH ₃ CN 100%
Mobile phase flow rate	0.5 ~ 3 ml/min
Injection volume	30 μl

表 4.1.1.7 N₂O 分析方法

Equipment	Gas chromatograph (Shimadzu GC-14A)
Precut column	Pora pack N; 3 mm i.d. × 1 m
Main column	Pora pack Q; 3 mm i.d. × 2 m
Detector	Electron capture detector ⁶³ Ni 10 mCi
Temperature	Detector; 300°C Precut column; 80°C Main column; 60°C
Carrier gas	Ar/CH ₄ (95/5 vol%)

表 4.1.1.8 CH₄ 分析方法

Equipment	Gas chromatograph (Shimadzu GC-14A)
Precut column	Pora pack N; 3 mm i.d. × 1 m
Column	Shin pack Q; 3 mm i.d. × 1 m Molecular sieve 13 X; 3 mm i.d. × 0.5 m Pora pack N; 3 mm i.d. × 0.2 m
Detector	Flame ionization detector
Temperature	Detector; 60°C Precut column; 80°C Main column; 60°C
Carrier gas	He

表 4.1.1.9 NH₃ 分析方法

Equipment	Ion chromatograph (DIONEX IC20)
Detector	Electrical conduction detector
Column	Guard column; CG16A (5 mm i.d. × 50 mm) Separation column; IonPac CS16A (4 mm i.d. × 250 cm) Trap column; CTC-1 (9 mm i.d. × 24 cm)
Oven temperature	35°C
Suppressor	ASRS
Mobile phase	30 mM methanesulfonic acid in H ₂ O
Mobile phase flow rate	1.25 ml/min
Injection volume	25 µL

表 4.1.1.10 ジニトロピレン分析方法

Equipment	GC-MS (Agilent 6890/5973)
Column	DB-5MS 0.25mm i.d. × 30m
Detector	NCI
Temperature	Detector; 280°C 90°C (2 min) → (8°C/min) → 120°C (3 min) → (30°C/min) → 210°C → (10°C/min) → 310°C (10min)
Carrier gas	He
Injection volume	3 µl

表 4.1.1.11 各成分の検出下限値

	ppb		(ng/ml)		ng/ml
1, 3-Butadiene	0.41	Formaldehyde	0.90	尿素	
Benzene	0.18	Acetaldehyde	0.89	シアヌル酸	3
Toluene	0.23	Acrolein	1.03	アンメリド	2
Ethylbenzene	0.17	Benzaldehyde	1.59	アンメリン	2
p-Xylene	0.17	Benzo[a]pyrene	6	メラミン	9
m-Xylene	0.10	1-NP	3	HCN	50
o-Xylene	0.22	1, 3-DNP	60		
1, 3, 5-TMB	0.15	1, 6-DNP	100		
Styrene	0.33	1, 8-DNP	120		
CH4	50	SO2	2.8		
N2O	39	NH3	7.8		

未規制物質等のサンプリング方法は、炭化水素類はバッグ、アルデヒド類は DNPH カートリッジ、BaP はフィルタを用いて捕集した。BaP、1-NP、DNP 分析、エームス試験は粒子を捕集したフィルタをジクロロメタンを抽出溶媒として湯浴温度 60°C のソックスレー抽出を 24 時間行い、得られた抽出液を窒素気流下 KD 濃縮し、減溶後に DMSO 添加濃縮した。エームス試験にはこの抽出物を所定の濃度に希釈して用いた。PAH 類の分析にはメタノールを加えて定容として分析試料とした。ジニトロピレンの分析は、抽出液をカラム分画で精製し、ベンゼン層を回収濃縮し、トルエンに転溶して GC-MS にて行った。

尿素由来成分として、尿素、シアヌル酸、アンメリド、アンメリン、メラミンをろ紙とメタノール捕集液に捕集した。また、シアンをアルカリ捕集液に捕集した。

尿素由来成分の分析のために、ろ紙についてはメタノールソックスレー抽出（約 24 時間）を行いメタノール捕集液と合わせた。この試料液をフラスコに移し、エバポレータで溶媒除去した。BSTFA10%アセトニトリル溶液 2ml で再溶解し、加熱処理して、GC/MS(SIM)測定を行った。尿素を誘導体化するとシアナミド(カルボジイミド)誘導体化も生成することから、シアナミド誘導体化物と尿素誘導体化物を各々定量、両者の合計値を尿素的定量値とした。また、尿素標準から検出されるシアナミドを定量してシアナミド変成尿素的定量値を算出した。シアン化水素の定量は、JIS K 0102 ピリジン-ピラゾロン吸光光度法によった。

PM 個数濃度は、前述した EEPS を用いて粒径 6nm から 523nm の範囲を 0.1 秒毎に計測し、過渡走行時の個数排出傾向を把握するとともに、この瞬時値を積分してモード走行あたりの排出個数を算出した。また、固体のナノ粒子の健康への影響が懸念されている状況から、サーモデニューダーを用いて 320°C 加熱処理によって揮発性粒子を除いた後の個数を計測した。さらに、自動車排ガス中の PM 規制に関する欧州における動向を鑑みて、加熱処理時の個数排出傾向をも調べた。すなわち、加熱処理をサーモコントローラー

(DEKATI 社製) で 320°C にて行った後に核凝縮カウンター-CPC を用いて PM 個数を計測した。これらの計測値は試験時の応答遅れを補正して PM 排出量を算出した。なお、対照エンジンの場合には、EEPS の計測上限を超えるため希釈装置を用いた。また、PM 個数濃度が低値であっても、低希釈倍率時にはナノ PM の生成が起こり得ることから、全ての試

験で同一の計測条件に設定した。EEPS の計測値が装置のノイズレベル以下の場合は、計測値をゼロとした。

4.1.2 未規制物質等の計測結果

4.1.2.1 NEDO エンジンと対照エンジン

1) 規制物質等

PM、NO_x、CO、THC 排出量を **Fig.4.1.2.1** に示す。NEDO 開発エンジンからの PM、NO_x 排出量は、それぞれ 0.001g/kWh、0.19 g/kWh と対照エンジンよりも非常に低値であり、いずれも NEDO 開発目標値 (PM : 0.01 g/kWh、NO_x : 0.2 g/kWh) を下回っている。その他、CO、THC についても NEDO 開発エンジンは対照エンジンに比較して極めて低値である。CO₂ 排出量が対照エンジンに比較して僅かであるが増加、燃費が僅かに低下の方向にあるが、これは排出ガス低減を最優先にしたためと思われる。

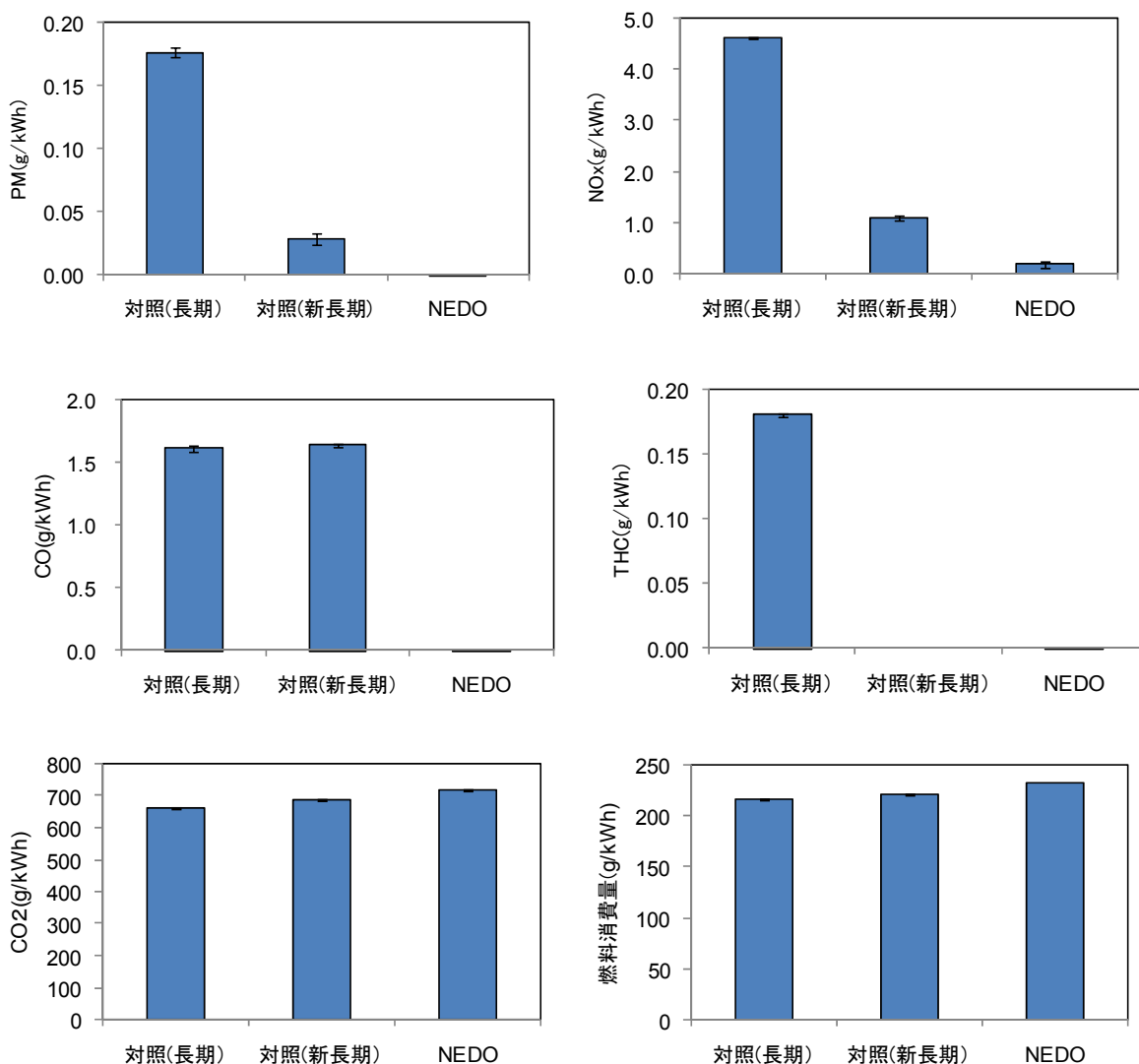


Fig.4.1.2.1 NEDO 開発エンジンと対照エンジンからの規制物質等の排出量

2) 未規制物質等

未規制物質等の計測結果を **Fig.4.1.2.2** に示す。NEDO エンジンからのアルデヒドはホルムアルデヒドとアセトアルデヒドのみが検出され、対照エンジン（新長期）とともに対照エンジン（長期）に比して大きく低減している。HC 類も同様に概ね大きく低減している。1-NP とジニトロピレンは定量下限値以下であり NEDO エンジンが特にニトロ化促進の排気特性を示すことはなかった。CH₄ と N₂O および NH₃ と尿素由来成分が尿素添加しない対照エンジンに比して若干増加している。

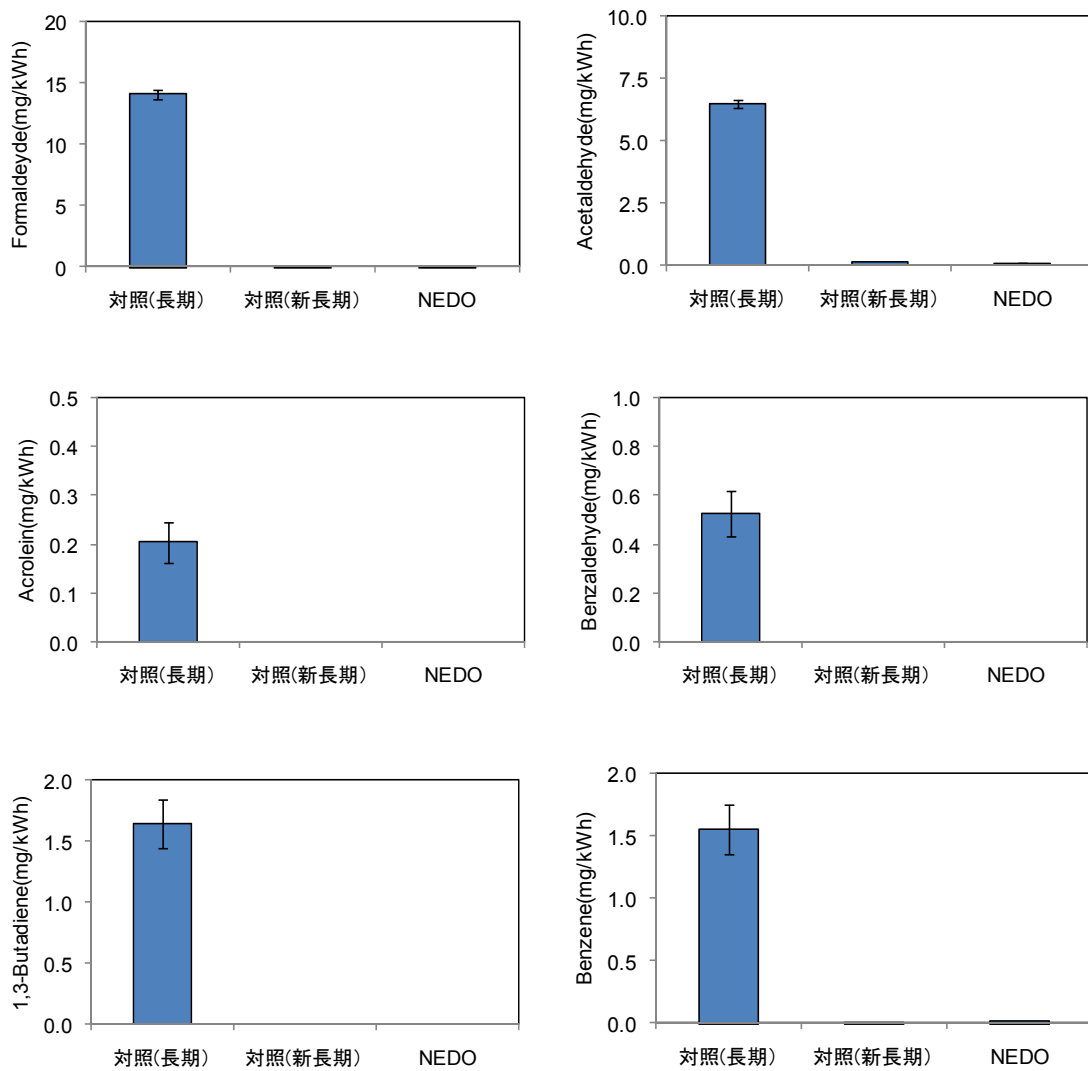


Fig.4.1.2.2 NEDO 開発エンジンと対照エンジンからの未規制物質等の排出量
 (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

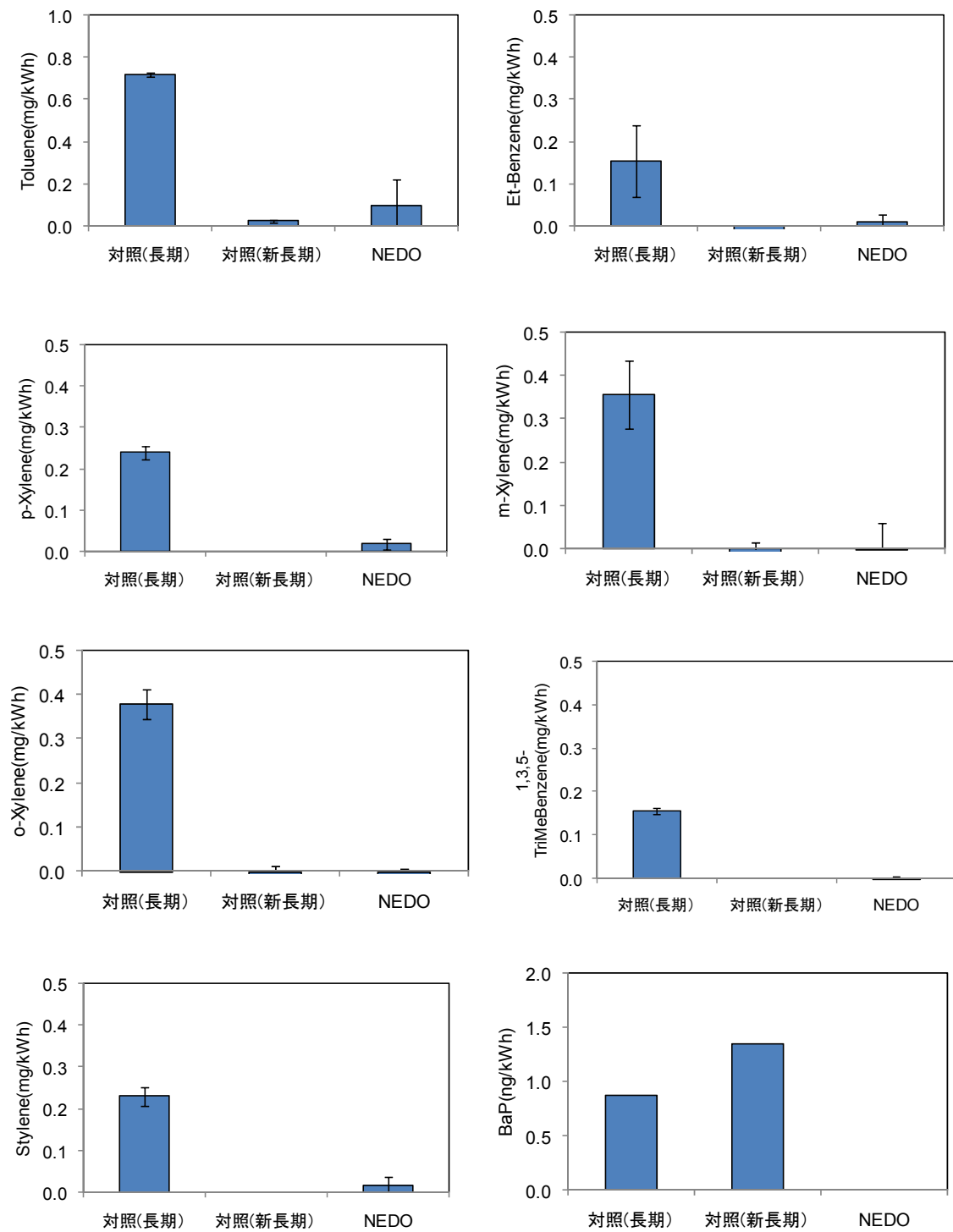


Fig.4.1.2.2 (続き) NEDO 開発エンジンと対照エンジンからの未規制物質等の排出量
 (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

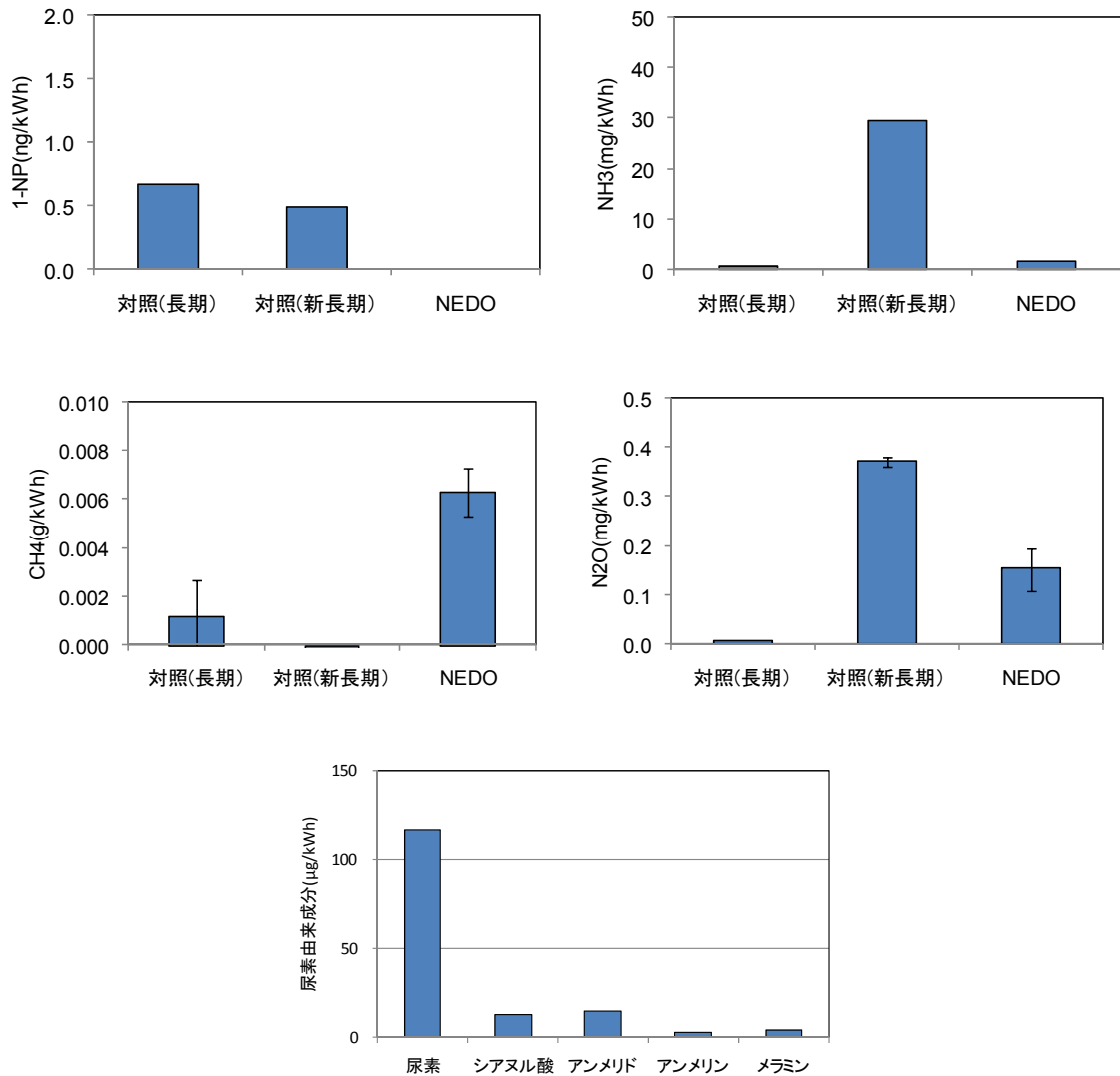


Fig.4.1.2.2 (続き) NEDO 開発エンジンと対照エンジンからの未規制物質等の排出量 (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

3) PM 個数

PM 個数の連続測定時の濃度レベルを色表示で **Fig.4.1.2.3** に、測定結果を **Fig.4.1.2.4** から **Fig.4.1.2.6** に、CPC 連続測定結果を **Fig.4.1.2.7** から **Fig.4.1.2.9** に示す。測定した走行モードは JE05 と HDV15 であり、それぞれ常温条件と 320℃加熱条件を設定した。図中エンジン回転数を白線で示す。

(1) 対照エンジン (長期)

エンジンが高回転時に PM 個数濃度は粒径 100 nm 付近で高値を示し、一部加減速時にも高値を示した。低回転時にはより小さく粒径 10 nm 付近が比較的高濃度を示した。320℃加熱条件では、粒径 100 nm 付近の個数濃度の減少が僅かに対して、粒径 10 nm 付近は大きく減少した。このことから、エンジン回転数が低い条件で排出される PM の粒径は小さく揮発性を示すことが分かる。

(2) 対照エンジン (新長期)

PM 個数濃度の測定条件は上記の対照エンジン (長期) と同一である。長期エンジンに比して PM 個数濃度は大きく減少しており、加熱条件下での揮発減少割合は長期エンジンほど大きくはなく、常温条件と加熱条件との同レベルの個数濃度であった。このことから、対照エンジン (新長期) から排出される PM は、PM 中の有機物などが除去された揮発性を有しないこと PM であるといえる。この有機物の除去は酸化触媒によるものであろう。

(3) NEDO エンジン

PM 個数濃度の測定条件は上記の対照エンジンと同一である。対照エンジンに比して PM 個数濃度は極めて大きく減少しており計測装置の測定下限値に近い場合が多い。従って加熱条件下での揮発減少も明確ではない。

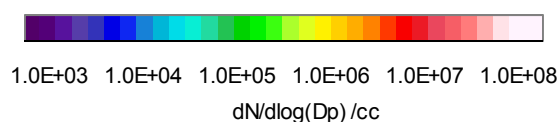
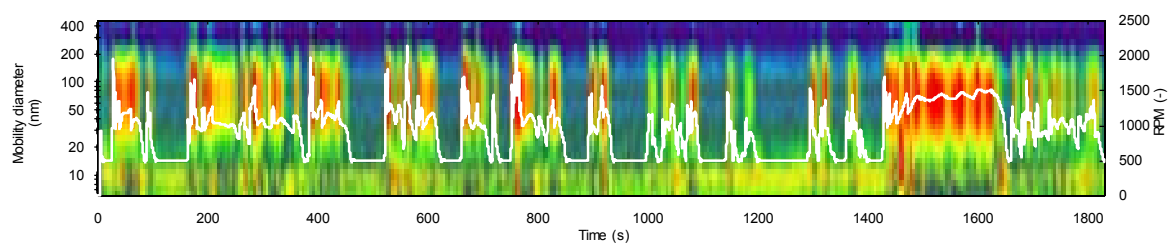
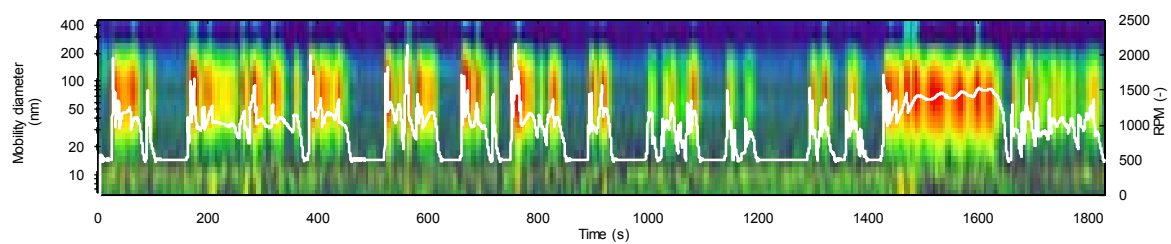


Fig.4.1.2.3 PM 個数濃度の色表示

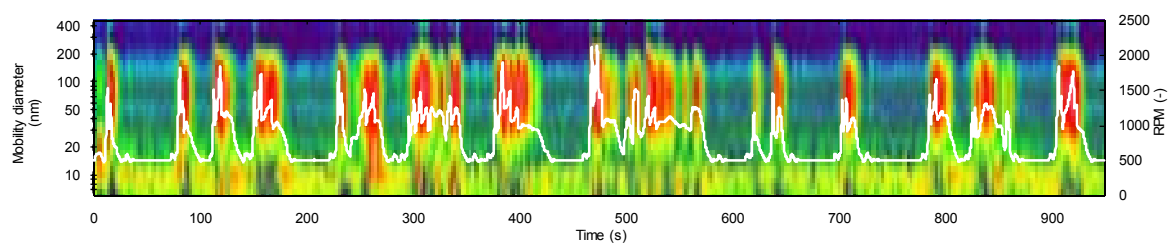
JE05 モード (JE05-1)



JE05 モード 320°C加熱条件 (JE05-4TD)



HDV15 モード (HDV15-1)



HDV15 モード 320°C加熱条件 (HDV15-4TD)

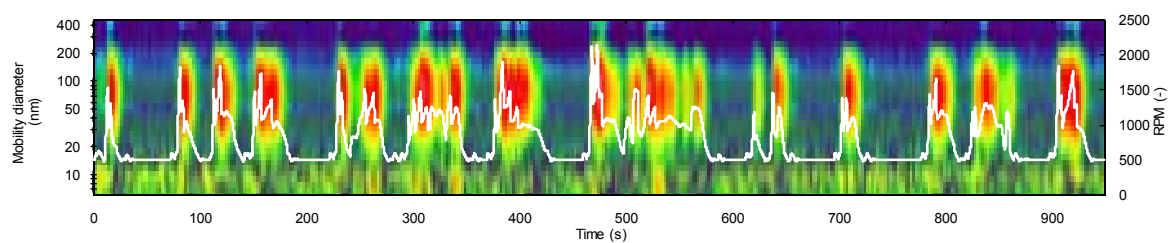
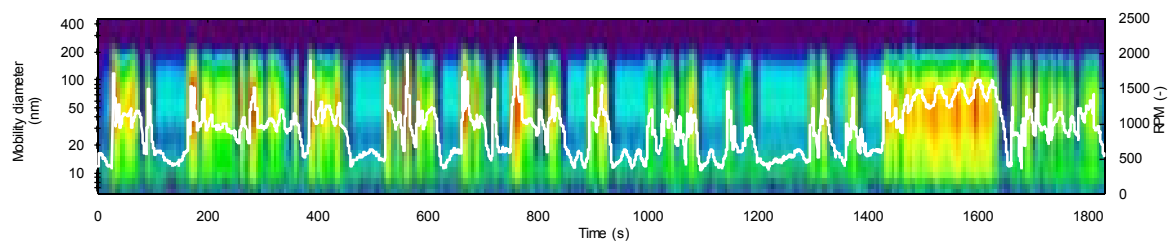
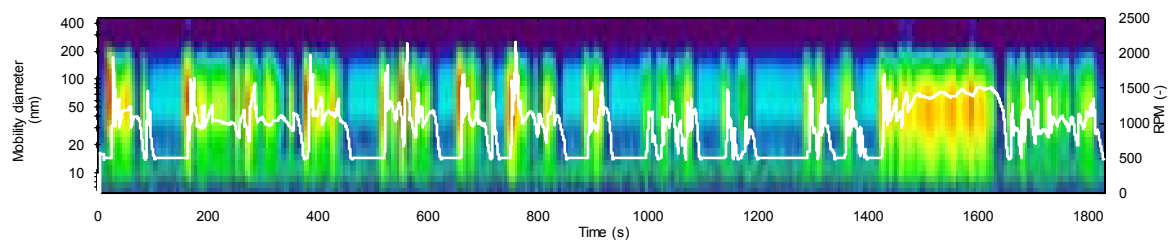


Fig.4.1.2.4 対照エンジン (長期) から排出される PM 個数濃度連続測定結果

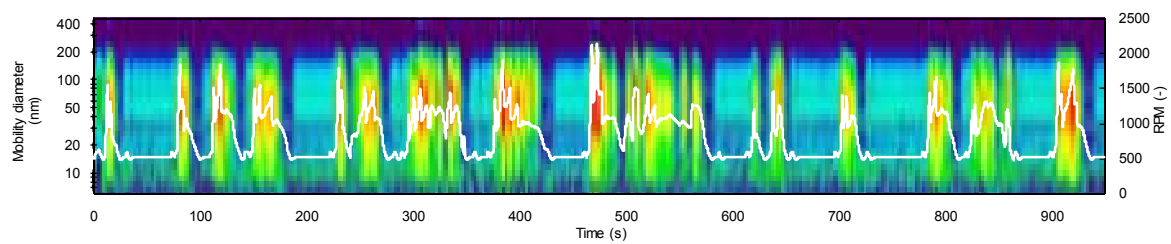
JE05 モード (JE05-1)



JE05 モード 320°C加熱条件 (JE05-4TD)



HDV15 モード (HDV15-1)



HDV15 モード 320°C加熱条件 (HDV15-4TD)

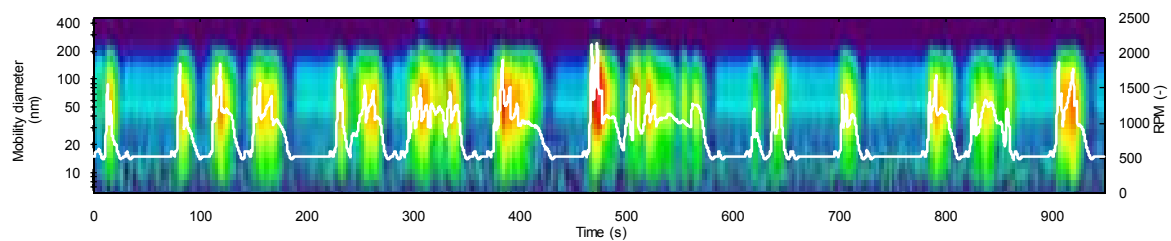
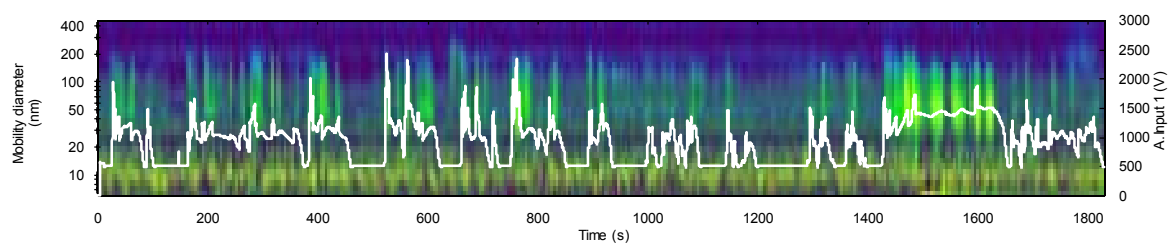
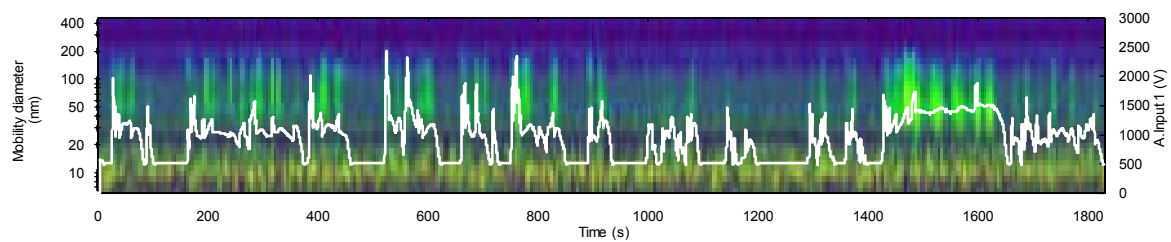


Fig.4.1.2.5 対照エンジン（新長期）から排出されるPM 個数濃度連続測定結果

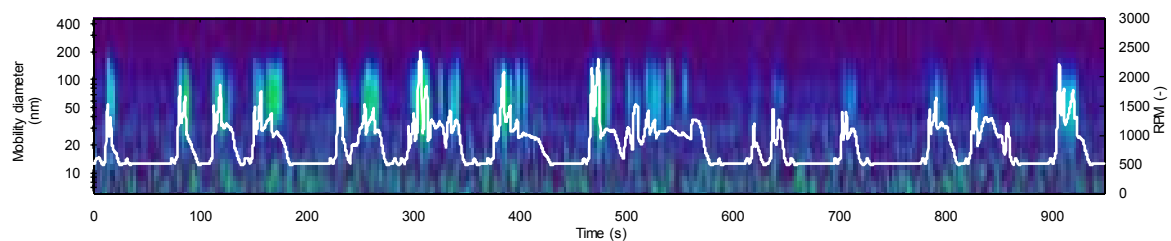
JE05 モード (JE05-1)



JE05 モード 320°C加熱条件 (JE05-4TD)



HDV15 モード (HDV15-1)



HDV15 モード 320°C加熱条件 (HDV15-4 TD)

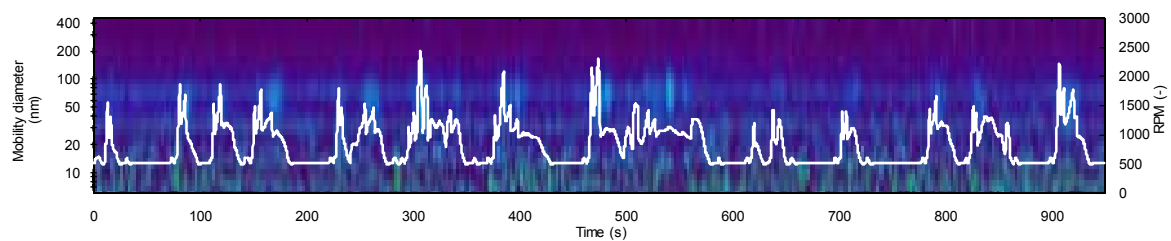


Fig.4.1.2.6 NEDO エンジンから排出される PM 個数濃度連続測定結果

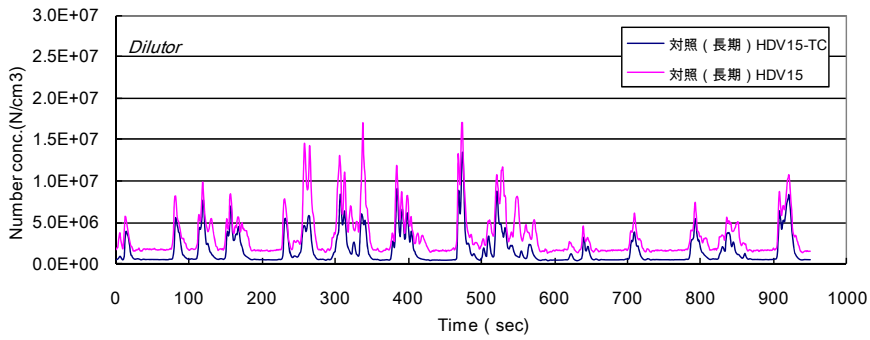
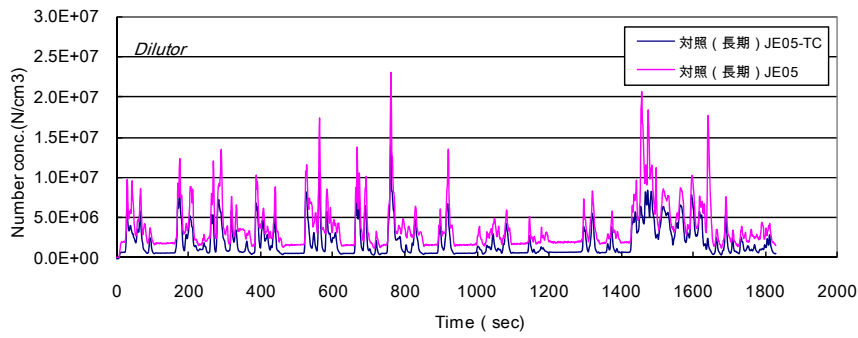


Fig.4.1.2.7 対照エンジン（長期）から排出される全 PM 個数濃度

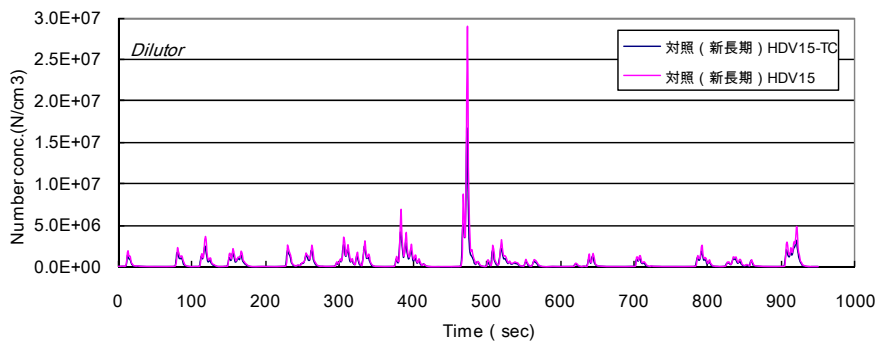
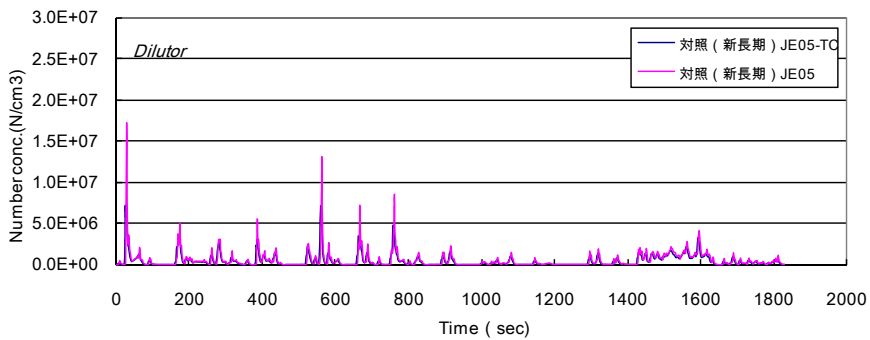


Fig.4.1.2.8 対照エンジン（新長期）から排出される全 PM 個数濃度

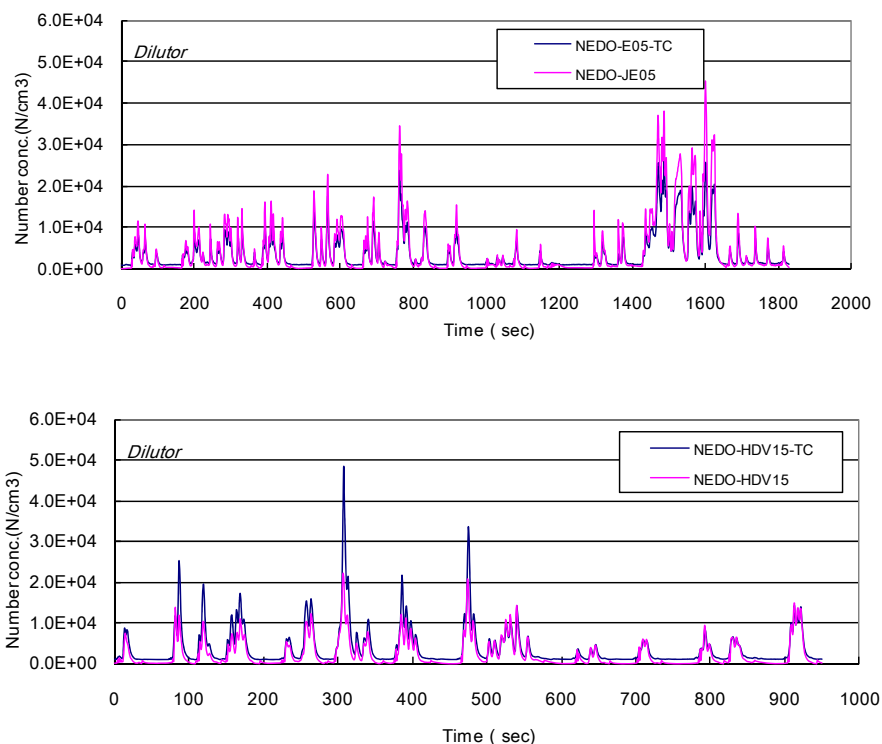


Fig.4.1.2.9 NEDO エンジンから排出される全 PM 個数濃度

4) PM 個数濃度分布

上記連続測定結果からモード平均の PM 個数分布を算出した。算出に際して計測器の測定下限値以下 (**Fig. 4.1.2.10** のノイズレベル) の個数濃度はゼロとした。常温条件下の計測は原則 3 回繰り返す、図中に標準偏差を示した。

各エンジンから排出される PM 個数分布を **Fig.4.1.2.11** から **Fig.4.1.2.13** に示す。対照エンジン (長期) では、10 nm と 80 nm に極大値を示すバイモーダルな分布を示し、JE05 モードでは 3×10^{14} 個/kWh、HDV15 モードではその 2 倍の排出量を示した。加熱条件下での PM 個数は約 30% 程度減少した。対照エンジン (新長期) では、60 から 70 nm に極大値を示す分布であり 10 nm 付近の値は低い。加熱条件では凡そ 30% 程度減少した。NEDO エンジンでは測定粒径に対する個数濃度の多くが測定下限値以下であり、排出量に換算した結果は対照エンジンの 1/1000 程度の値であり、加熱条件下でも個数排出量に大きな変化はない。

これらの PM 個数排出量を比較して **Fig.4.1.2.14** に示す。NEDO エンジンからの PM 個数排出量は対照エンジンに比して大きく低減していることがわかる。

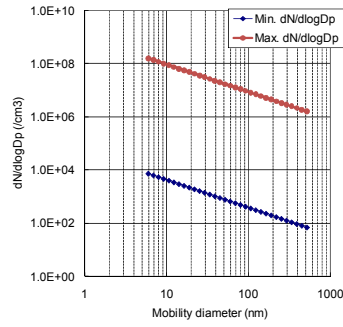


Fig.4.1.2.10 PM 個数濃度計測器の測定上下限值

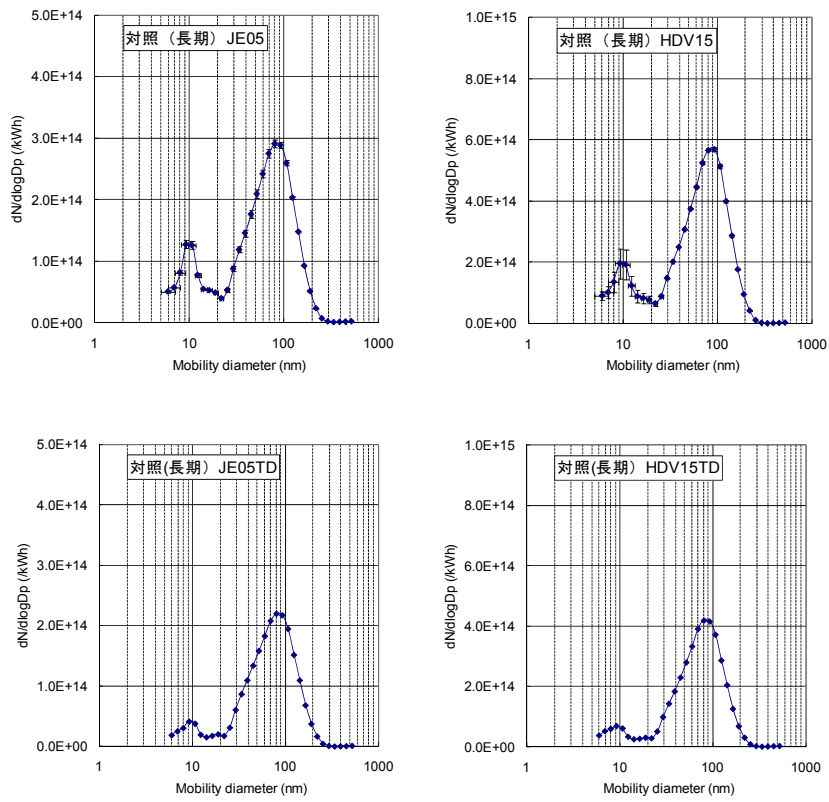


Fig.4.1.2.11 対照エンジン（長期）のPM 個数濃度分布
 (左図：JE05モード、右図：HDV15モード、上段：常温、下段：加熱)

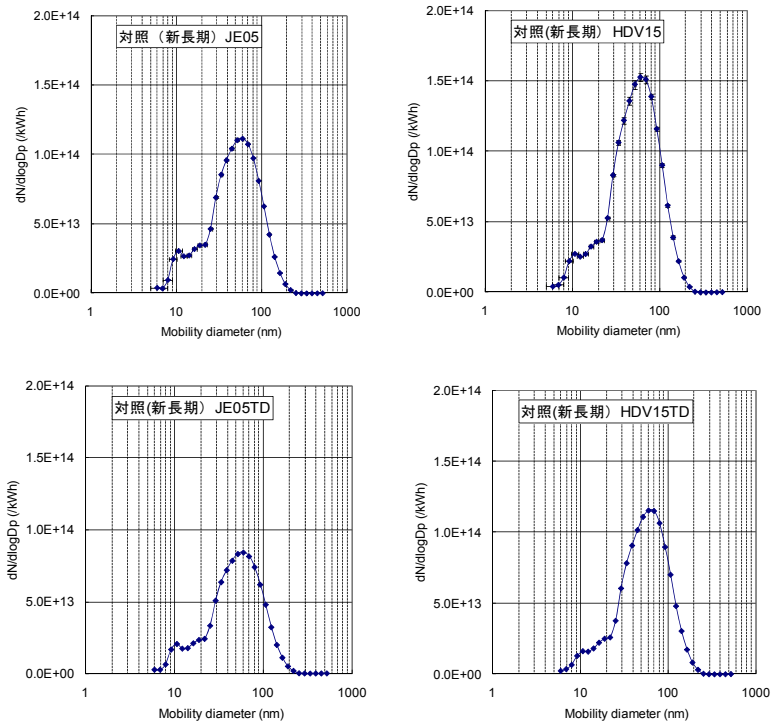


Fig.4.1.2.12 対照エンジン（新長期）のPM 個数濃度分布
 (左図：JE05 モード、右図：HDV15 モード、上段：常温、下段：加熱)

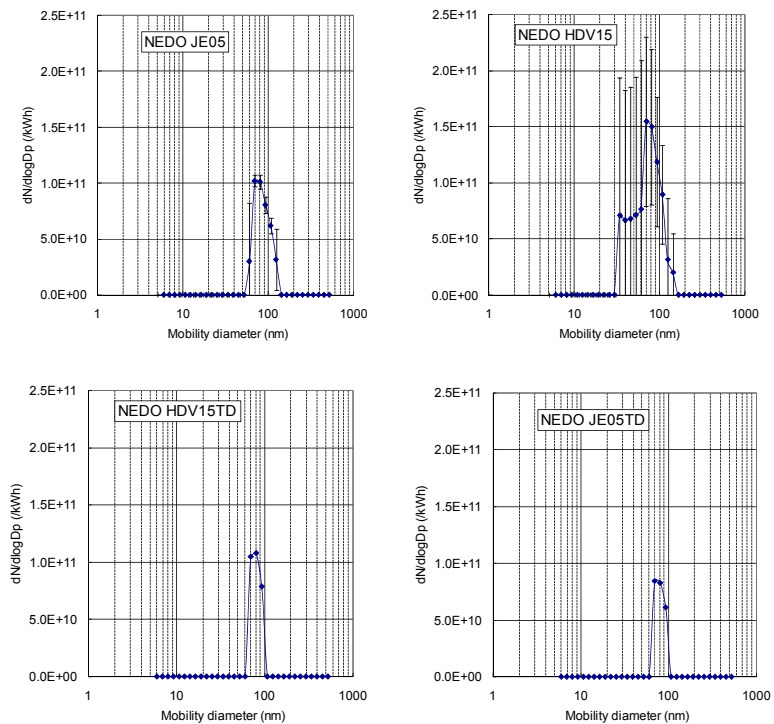
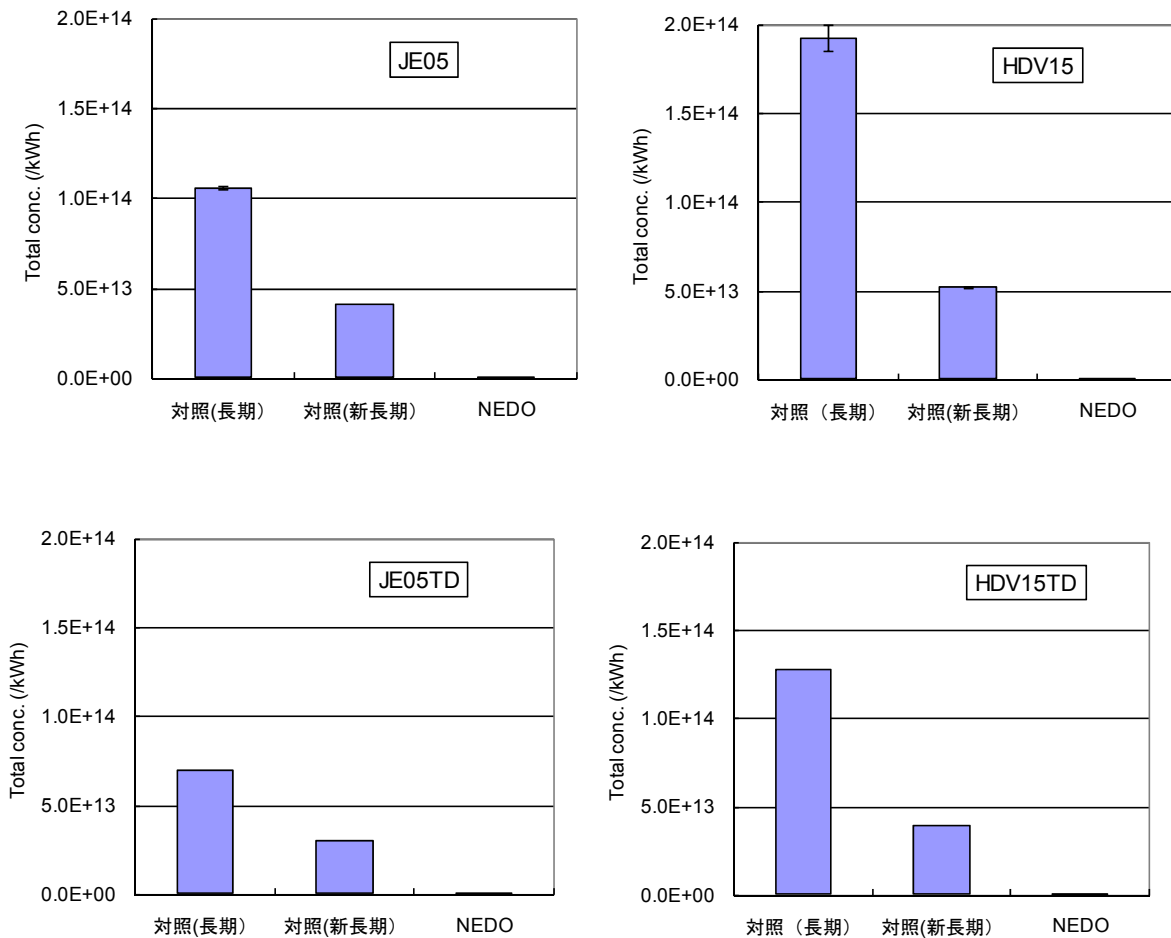


Fig.4.1.2.13 NEDO エンジンのPM 個数濃度分布
 (左図：JE05 モード、右図：HDV15 モード、上段：常温、下段：加熱)



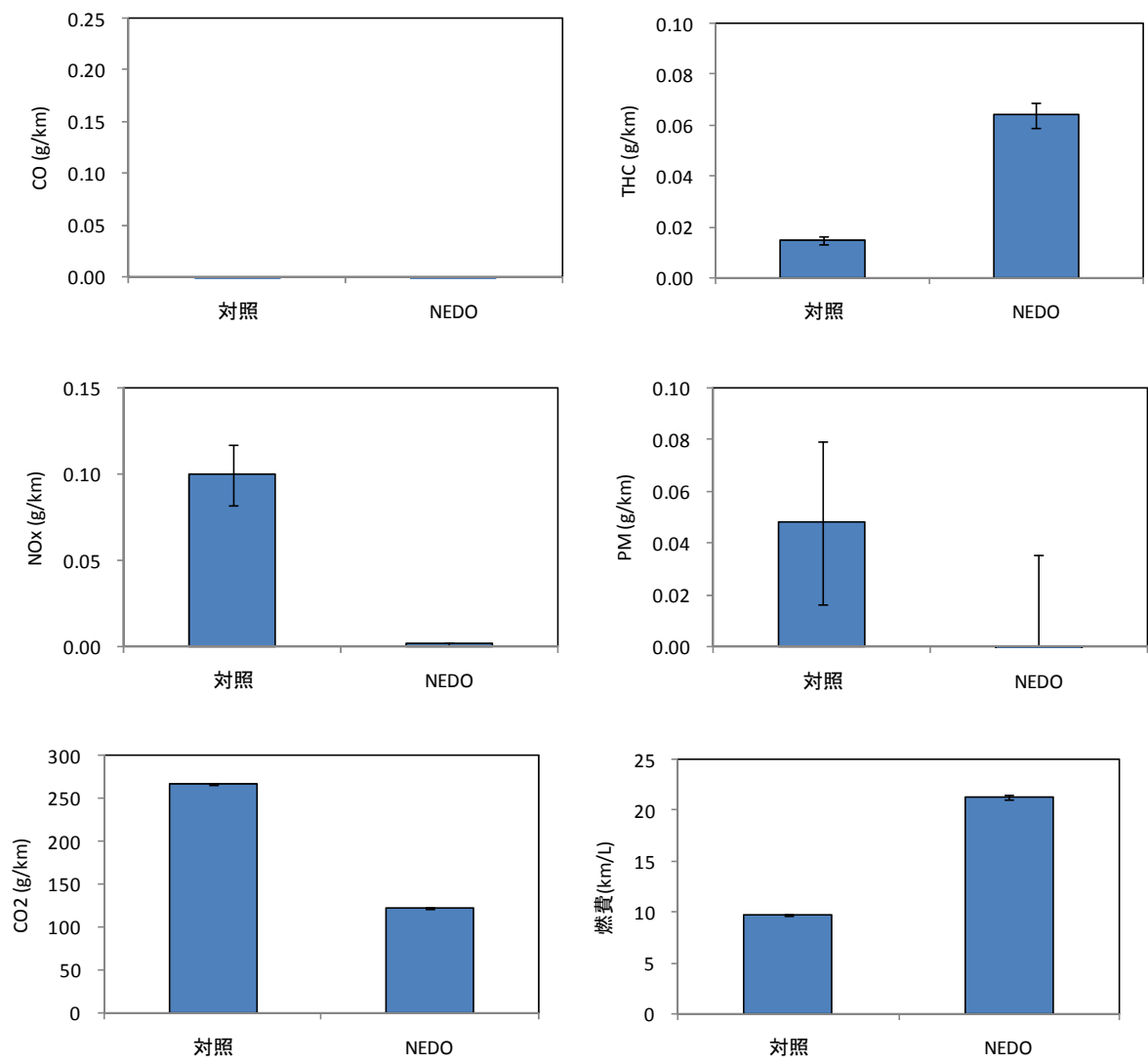
Fig

4.1.2.14 試験エンジンからの PM 個数排出量の比較
 (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

4.1.2.2 NEDO 車両と対照車両

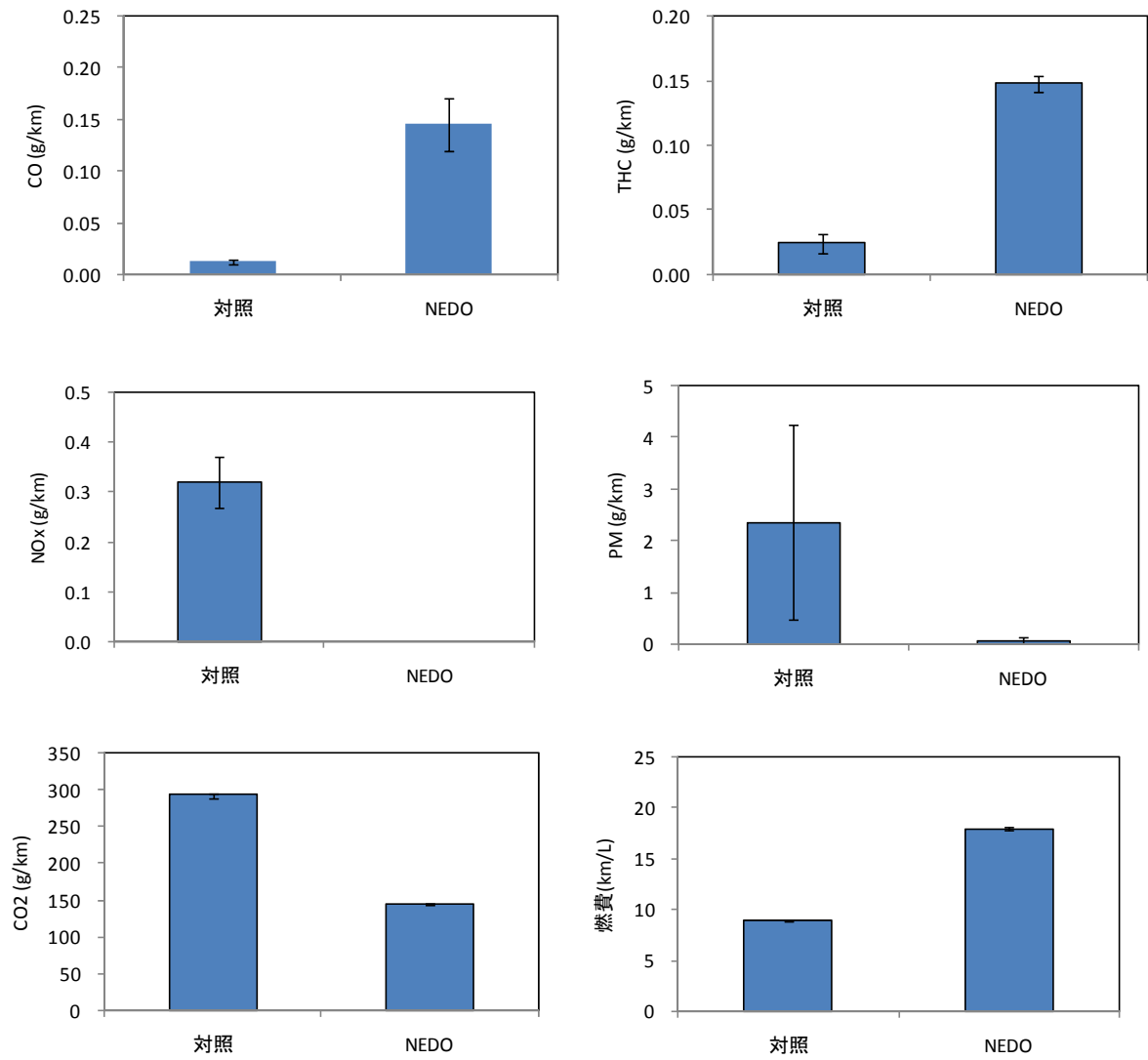
1) 規制物質等

JC08 ホットモード、コールドモードおよび LDV15 モードの PM、NO_x、CO、THC 排出量を **Fig.4.1.2.15**～**Fig.4.1.2.17** に示す。NEDO 開発車両からの PM 排出量は、それぞれのモードに対して 0.00 g/km、0.065 g/km、0.00 g/km であり、対照車両の PM 排出量 0.048 g/km、2.36 g/km、0.02 g/km よりも低減されている。同様に NO_x 排出量は、NEDO 開発車両がそれぞれのモードで 0.005 g/km 以下であり、対照車両 0.05～0.32 g/km に比して大きく低減されている。JC08 ホットモードの PM、NO_x 排出量達成目標値 (PM : 0.005g/km、NO_x : 0.05 g/km) を大きく下回っている。その他、CO は両車両とも極めて低値であり、THC は NEDO 車両が対照車両よりも増加しているがその値は小さい。CO₂ 排出量は対照車両に比較しておおきく低減されており、燃費は大きく向上している。JC08 コールドモード、LDV15 モードとも排出傾向は同様であり、PM、NO_x 排出量は大きく低減している。



Fig

.4.1.2.15 対照車両と NEDO 開発車両からの規制物質等の排出量 (JC08 ホットモード)



Fig

.4.1.2.16 対照車両と NEDO 開発車両からの規制物質等の排出量 (JC08 コールドモード)

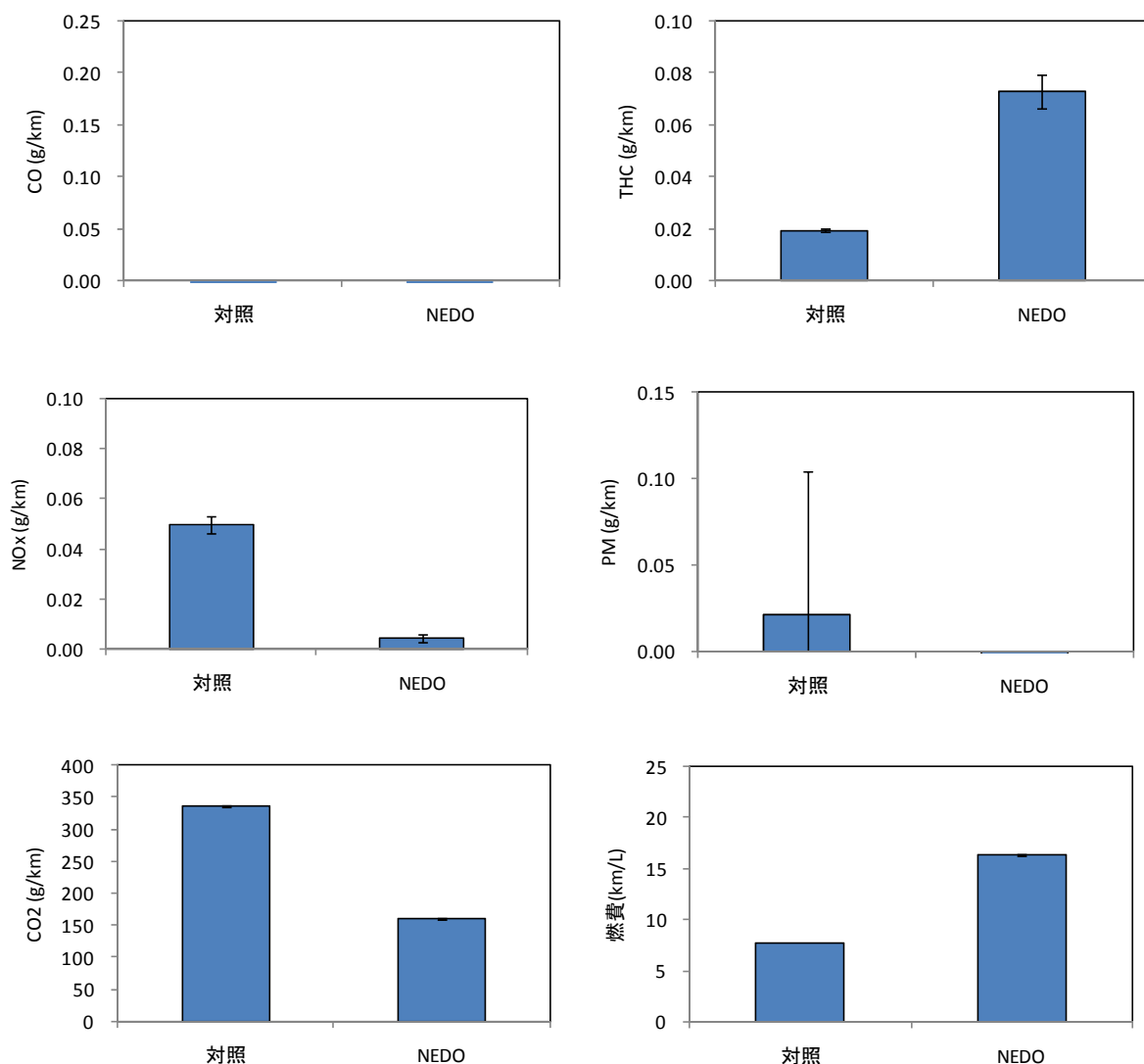


Fig.4.1.2.17 対照車両と NEDO 開発車両からの規制物質等の排出量 (LDV15 モード)

2) 未規制物質等

未規制物質等の計測結果を **Fig.4.1.2.18** と **Fig.4.1.2.19** に示す。NEDO 車両、対照車両ともアルデヒドはホルムアルデヒドとアセトアルデヒドのみが検出された。対照車両に比して、ホルムアルデヒドは NEDO 車両が僅かに増加、アセトアルデヒドは同レベルであった。HC 類は概ね低減しており、増加が見られた場合もその量は極く低値である。BaP が若干増加したが、これは対照車両との後処理装置の仕様の差によるものと思われる。1-NP は減少、ジニトロピレンは定量下限値以下であり NEDO 車両が特にニトロ化促進の排気特性を示すことはなかった。CH₄ が対照車両に比して増加している。

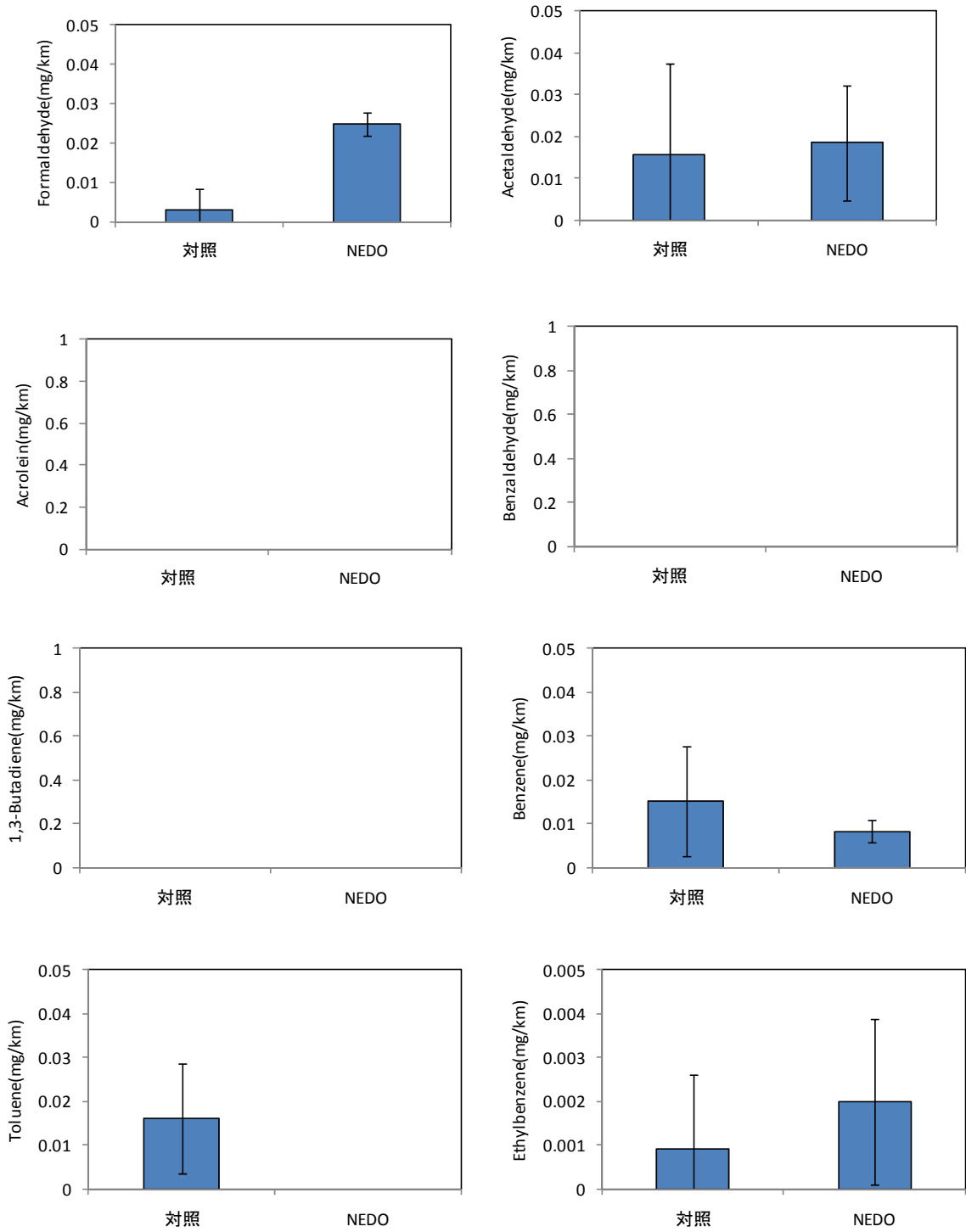


Fig.4.1.2.18 NEDO 車両および対照車両からの未規制物質等の排出量 (JC08 ホットモード) (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

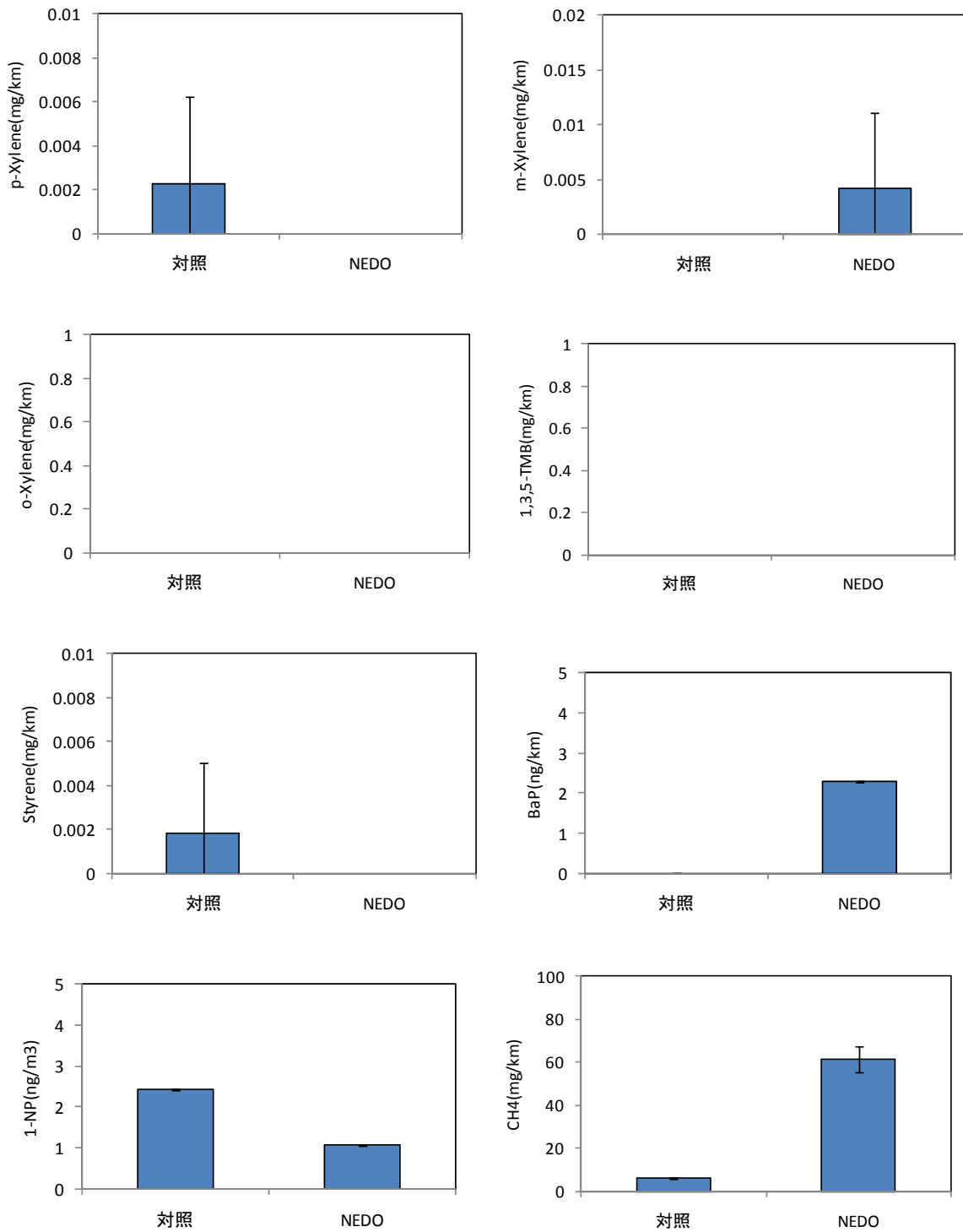


Fig.4.1.2.18 (続き) NEDO 車両および対照車両からの未規制物質等の排出量 (JC08 ホットモード) (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

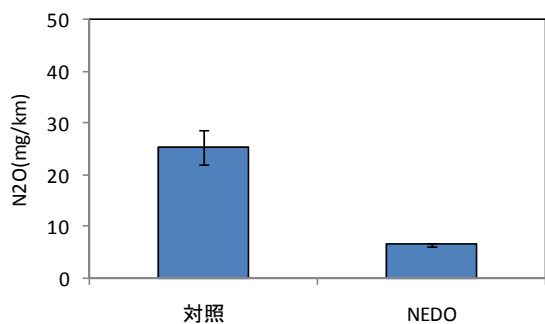


Fig.4.1.2.18 (続き) NEDO 車両および対照車両からの未規制物質等の排出量 (JC08 ホットモード) (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

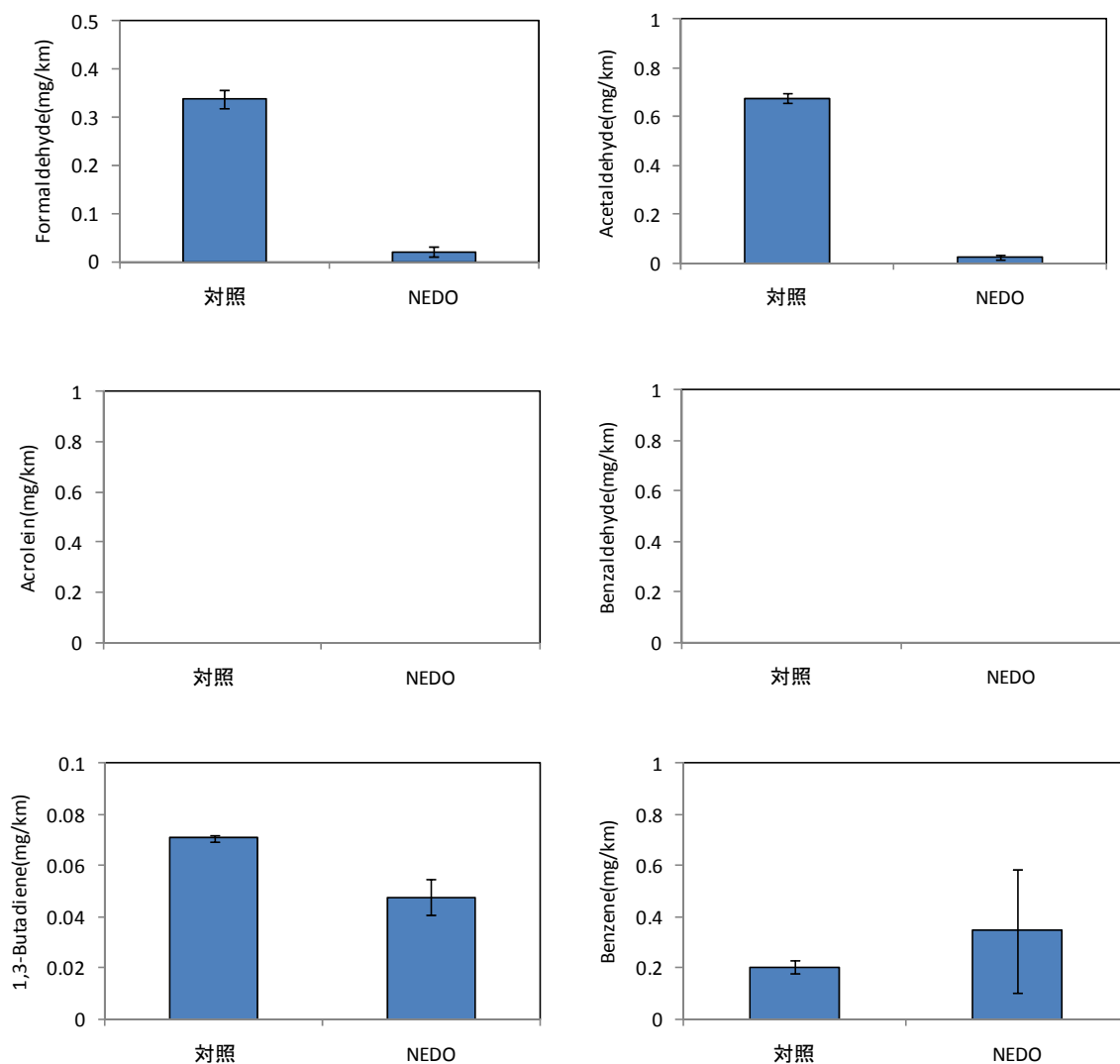


Fig.4.1.2.19 NEDO 開発車両と対照車両からの未規制物質等の排出量 (JC08 コールドモード) (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

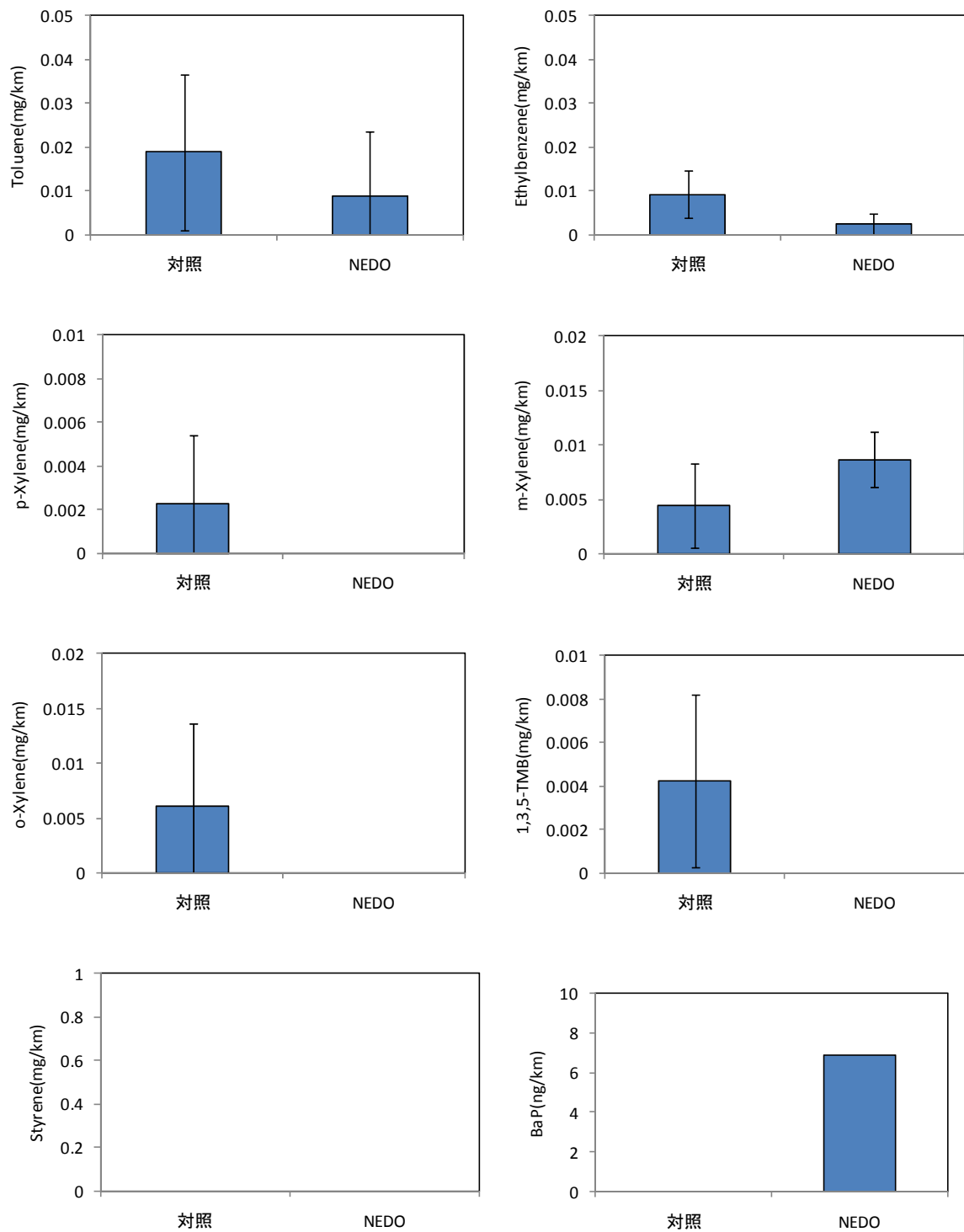


Fig.4.1.2.19 (続き) NEDO 開発車両と対照車両からの未規制物質等の排出量 (JC08 コールドモード) (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

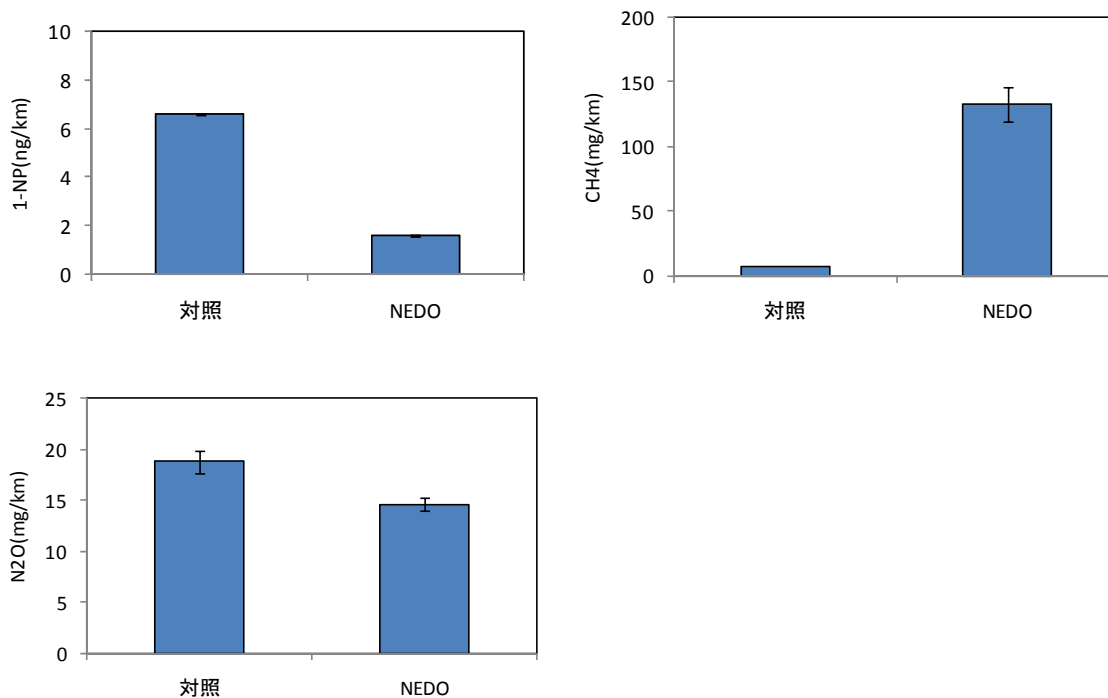


Fig.4.1.2.19 (続き) NEDO 開発車両と対照車両からの未規制物質等の排出量 (JC08 コールドモード) (図中、排出量表示がない成分は検出下限値以下である)

3) PM 個数

EEPS を用いて PM 個数濃度と粒径を連続測定した。個数濃度レベルのスケールを色表示で **Fig.4.1.2.20** に示す。

(1) 対照車両

対照車両からの PM 個数の連続測定結果を **Fig.4.1.2.21** に、CPC 連続測定結果を **Fig.4.1.2.22** に示す。測定した走行モードは JC08H、JC08C と LDV15 であり、それぞれ常温条件と 320℃加熱条件を設定した。図中に車速を白線で示す。

ホット時に比してコールド時の個数濃度が高値である。両モードとも加速時の排出が目立つ。ホット時には 50 nm 以下の個数が、コールド時には 100 nm 付近の個数が高値である。320℃加熱条件での PM 個数濃度の減少は大きくは無く、排出される PM の多くは不揮発性であることを示している。

(2) NEDO 車両

対照車両からの PM 個数の連続測定結果を **Fig.4.1.2.23** に、CPC 連続測定結果を **Fig.4.1.2.24** に示す。M 個数濃度の測定条件は上記の対照車両と同一である。対照車両に比して PM 個数濃度は極めて大きく減少している。加熱条件下での個数濃度減少は大きくは無く、対照車両と同様に排出される PM の多くは不揮発性であることを示している。

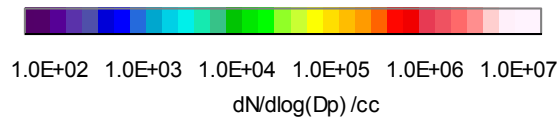
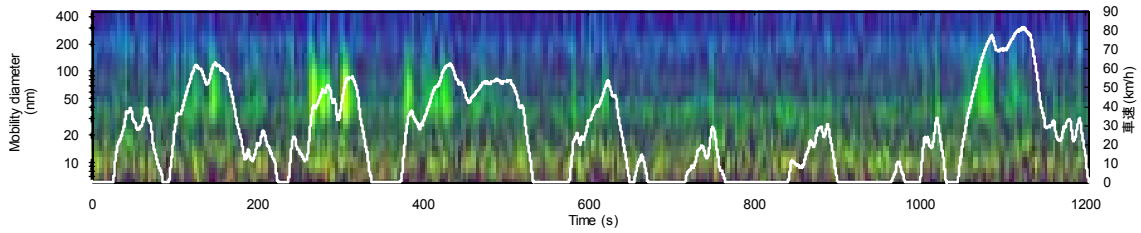
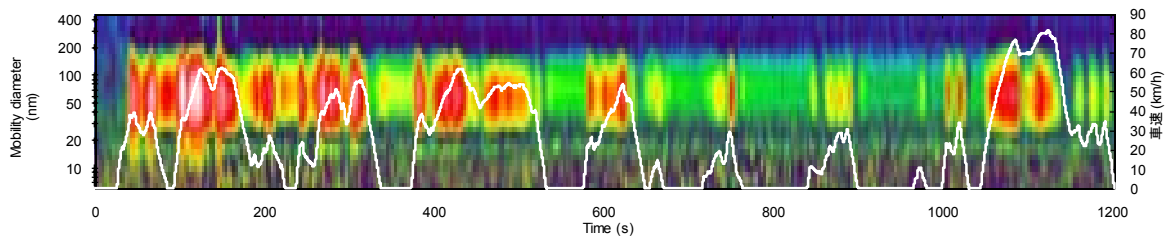


Fig.4.1.2.20 PM 個数濃度の色表示

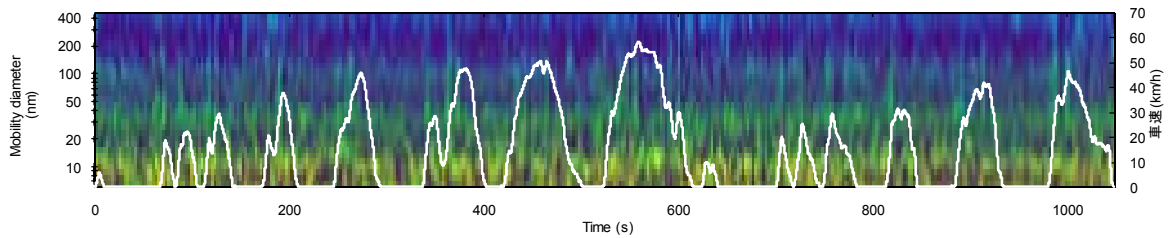
JC08 ホットモード (JC08H)



JC08 コールドモード (JC08C)



LDV15 モード



JC08 ホットモード 320°C加熱条件 (JC08H-4TD)

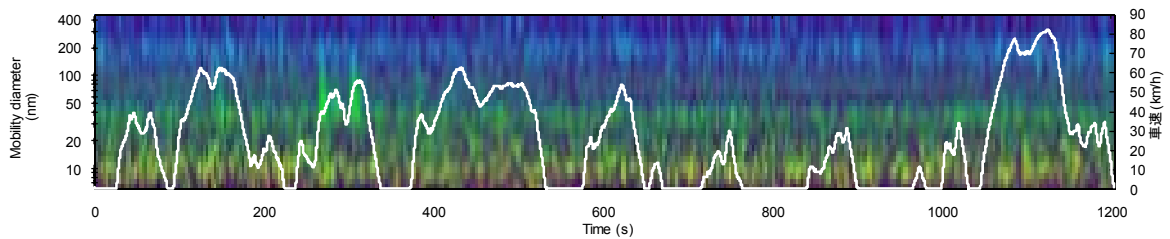
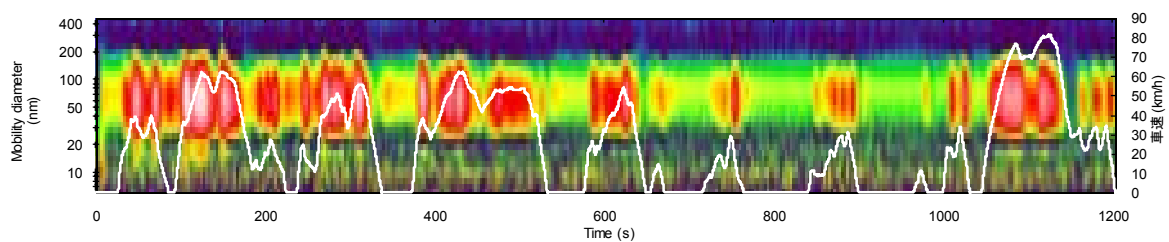
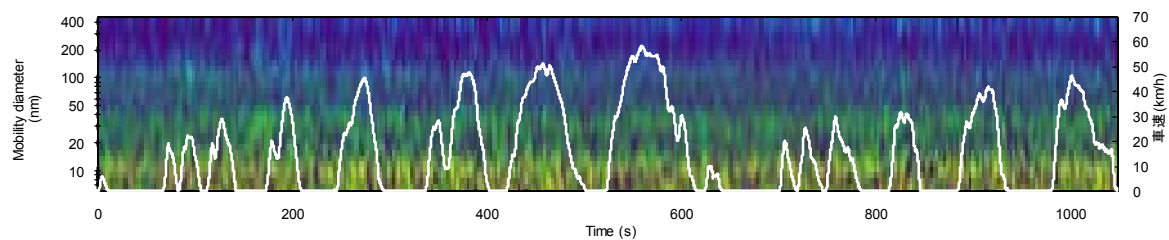


Fig.4.1.2.21 対照車両から排出される PM 個数濃度連続測定結果

JC08 コールドモード 320℃加熱条件 (JC08C-4TD)



LDV15 モード 320℃加熱条件 (LDV15-4TD)



Fi

g.4.1.2.21 (続き) 対照車両から排出される PM 個数濃度連続測定結果

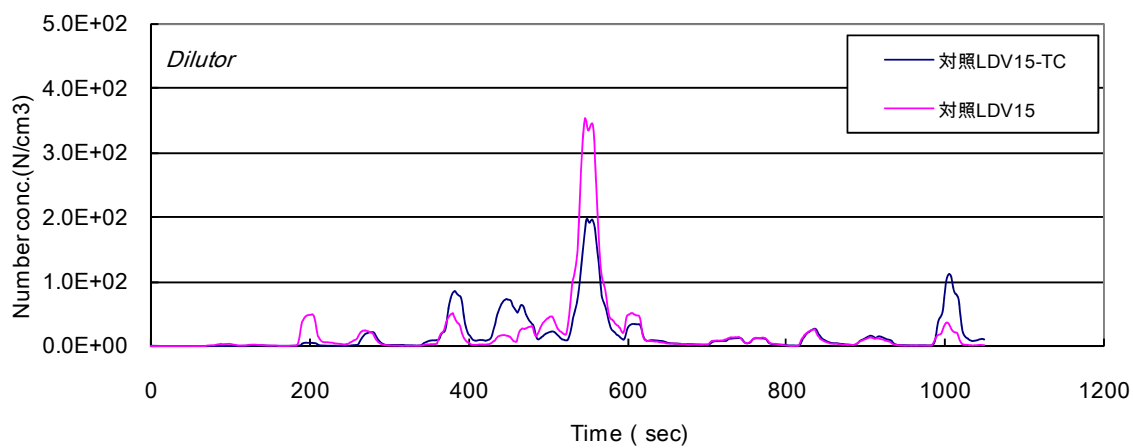
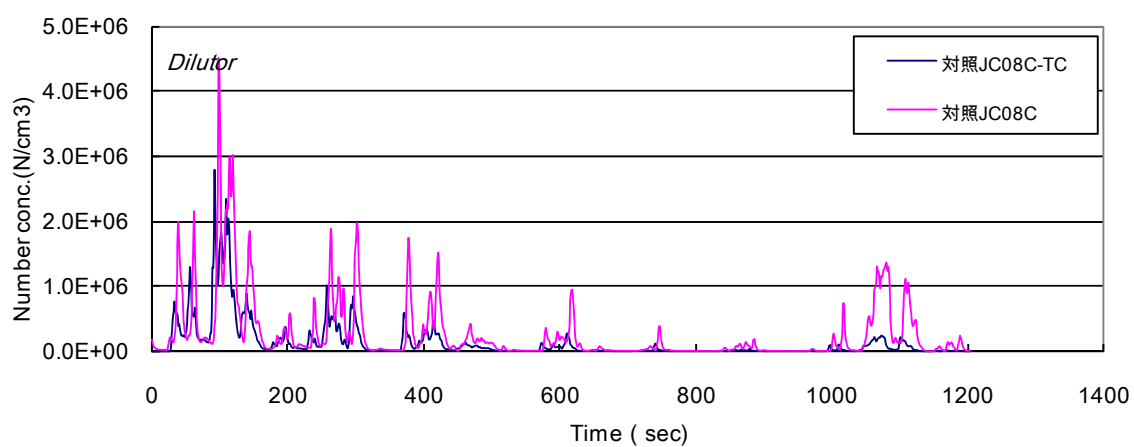
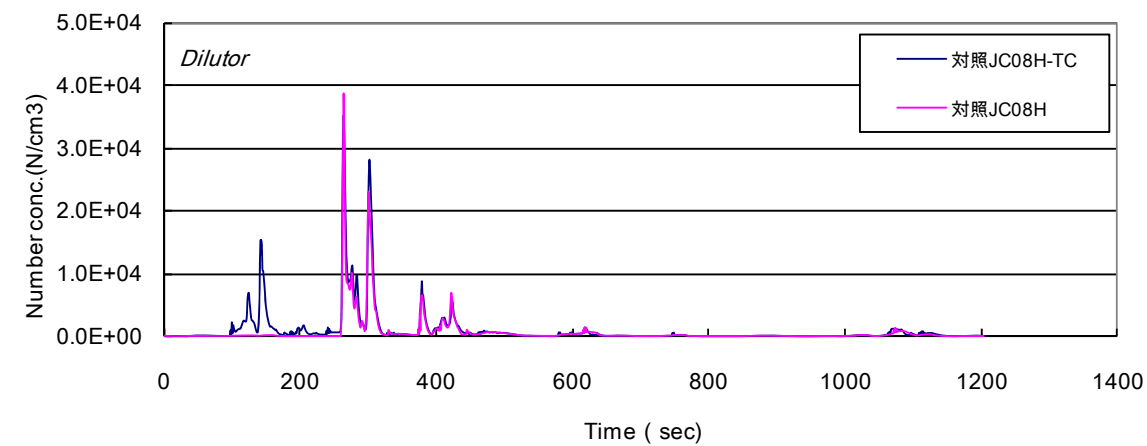
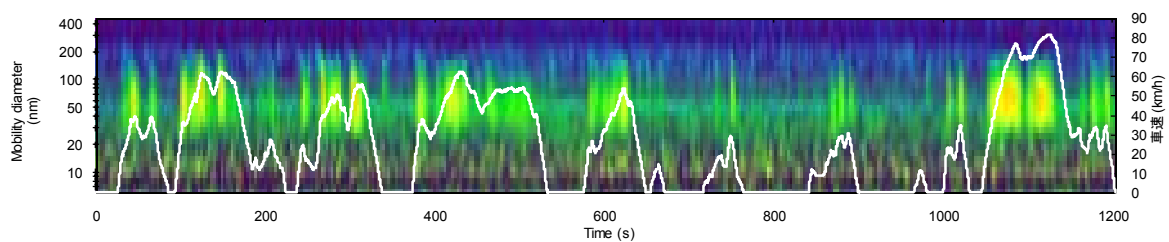
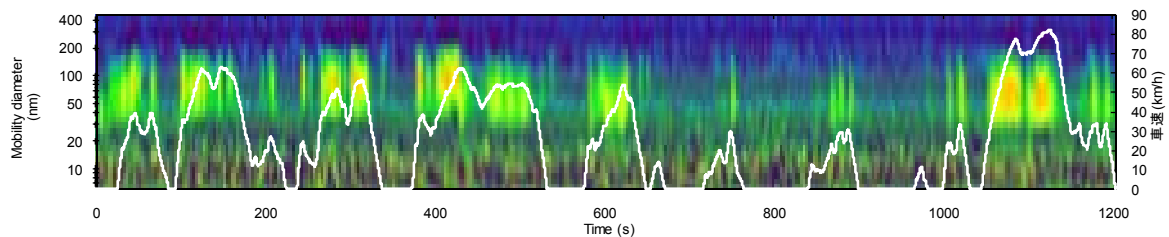


Fig.4.1.2.22 对照車両から排出される全 PM 個数濃度

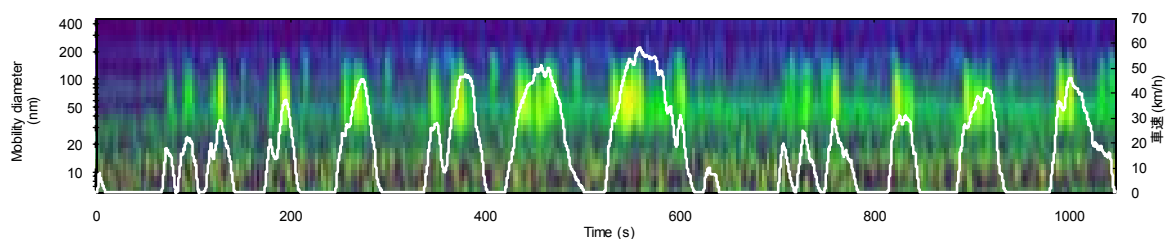
JC08 ホットモード (JC08H)



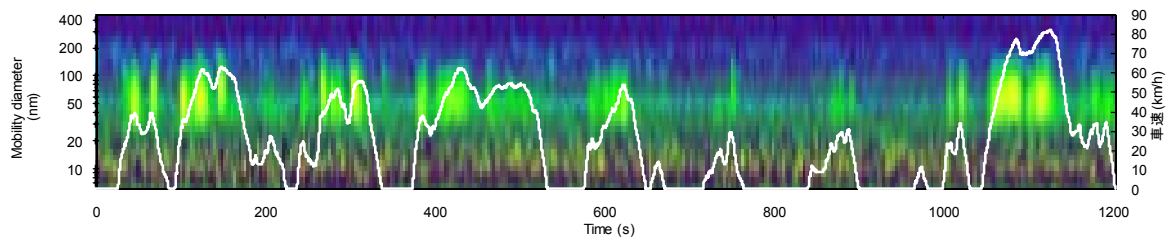
JC08 コールドモード (JC08C)



LDV15 モード



JC08 ホットモード 320°C加熱条件 (JC08H-4TD)



JC08 コールドモード 320°C加熱条件 (JC08C-3TD)

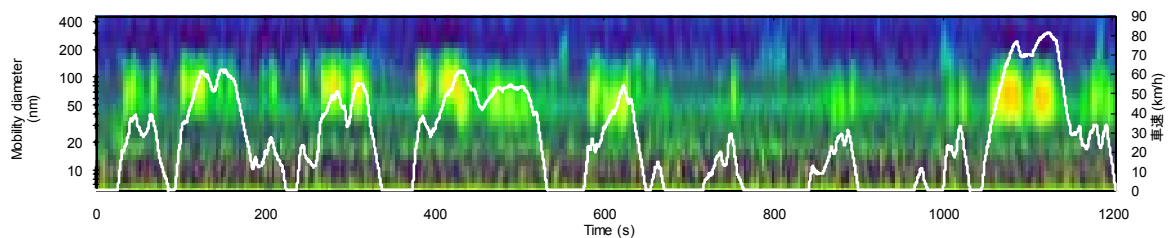


Fig.4.1.2.23 NEDO 車両から排出される PM 個数濃度連続測定結果

LDV15 モード 320°C加熱条件 (LDV15-4TD)

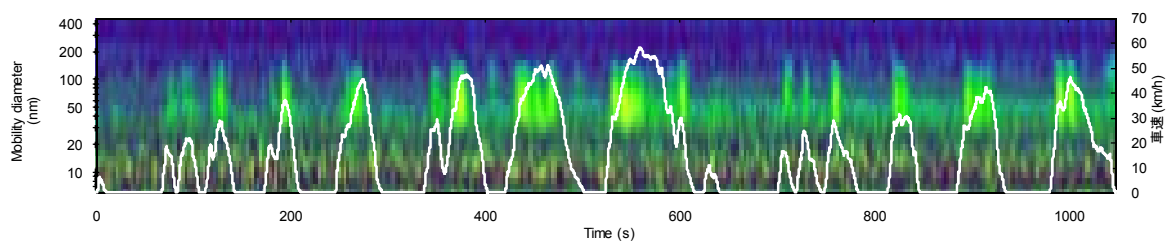


Fig.4.1.2.23 (続き) NEDO 車両から排出される PM 個数濃度連続測定結果

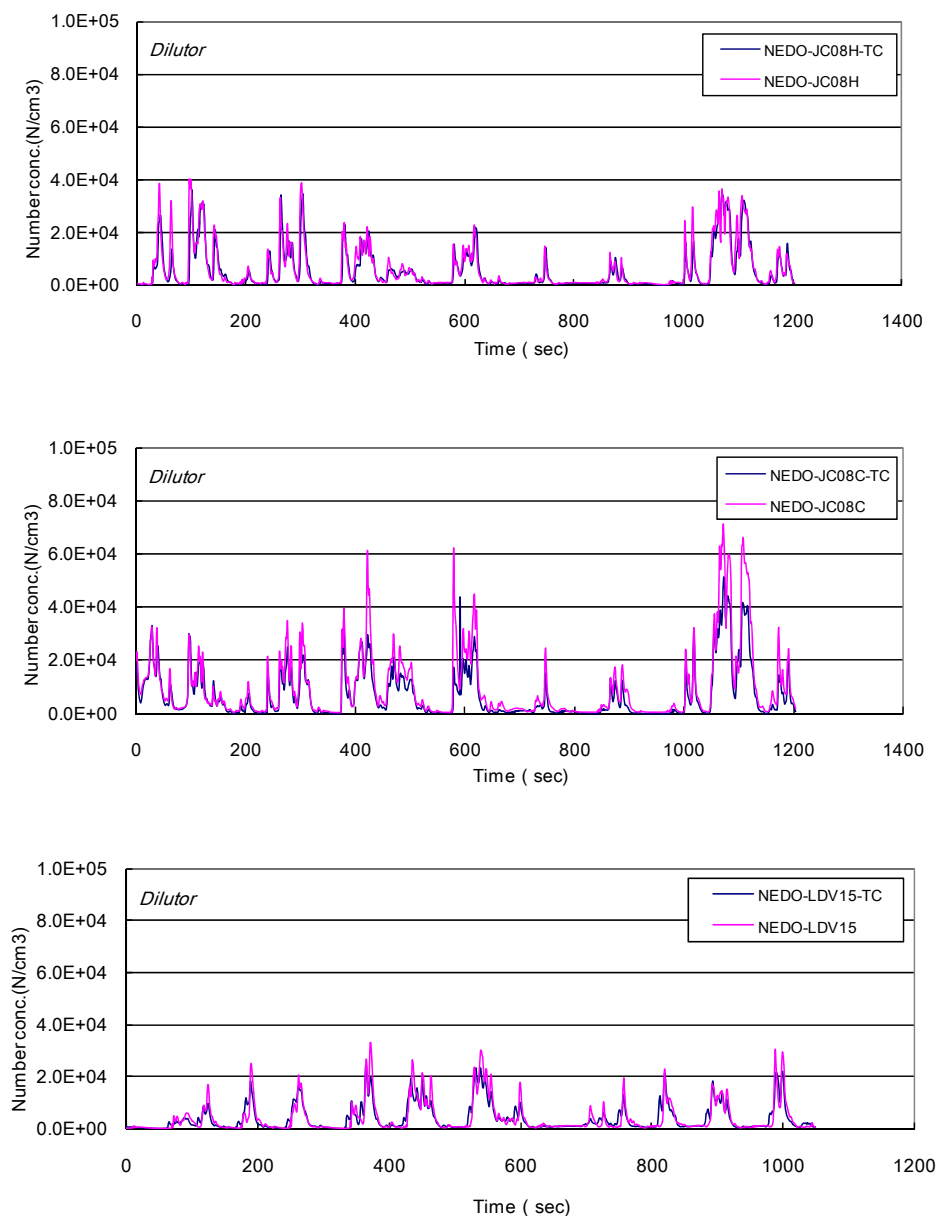


Fig.4.1.2.24 NEDO 車両から排出される全 PM 個数濃度

4) PM 個数分布

上記連続測定結果からモード平均の PM 個数分布を算出した。算出に際して計測器の測定下限値以下（図のノイズレベル）の個数濃度はゼロとした。常温条件下の計測は原則 3 回繰り返し、図中に標準偏差を示した。

各車両から排出される PM 個数分布を **Fig.4.1.2.25** と **Fig.4.1.2.26** に示す。対照車両では、ホット時とコールド時で PM 個数分布は異なり、ホット時には 10 nm、コールド時には 80 nm 付近に極大を示す分布を示した。加熱によっても分布は殆ど変化しない。NEDO 車両では 10 nm と 40~80 nm に極大を示すバイモーダルな分布を示した。加熱によっても分布は殆ど変化しない。

PM 個数排出量を **Fig.4.1.2.27** に示す。対照車両の個数排出量は、JC08 ホットモードでは 4×10^{11} 個/km、JC08 コールドモードでは 5×10^{12} 個/km、LDV15 モードでは 7×10^{11} 個/km であった。これに対して NEDO 車両からの個数排出量はそれぞれ 5×10^{11} 個/km、 6×10^{11} 個/km、 7.5×10^{11} 個/km であり、ホットモードでは対照車両に比して NEDO 車両が若干ではあるが個数排出量が増加している。コールドモードでは NEDO 車両が大きく低減している。加熱条件下でも個数排出量に大きな変化はない。

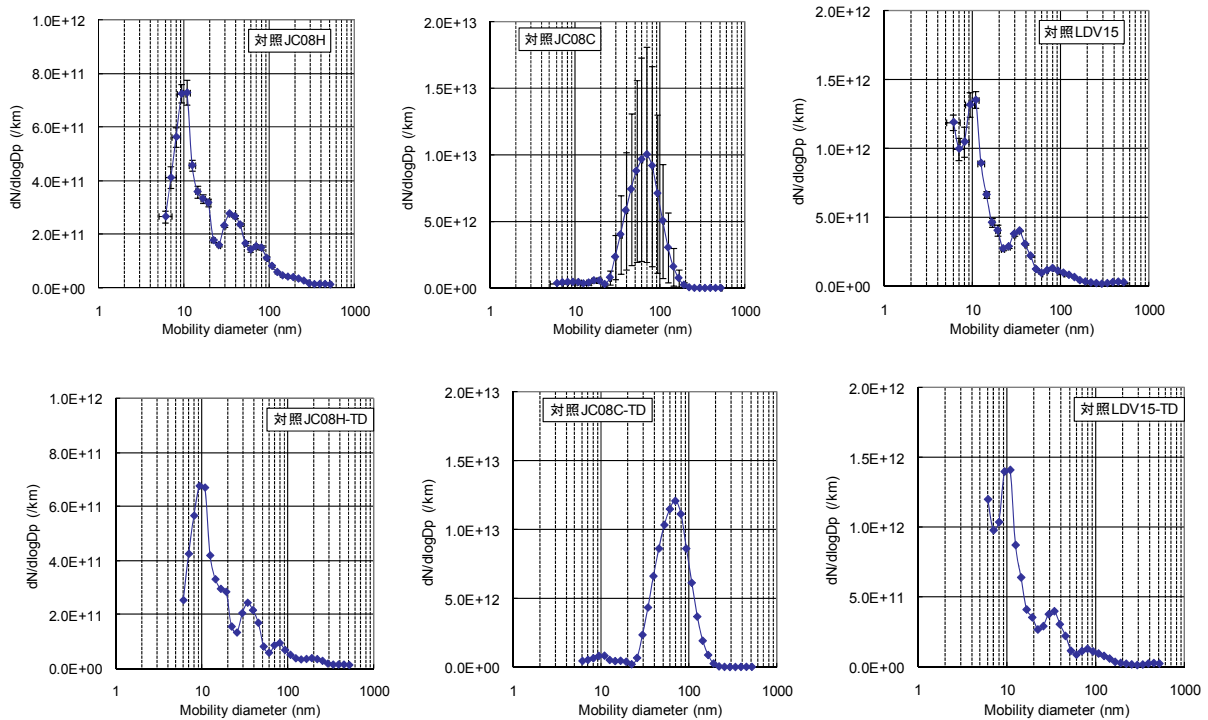
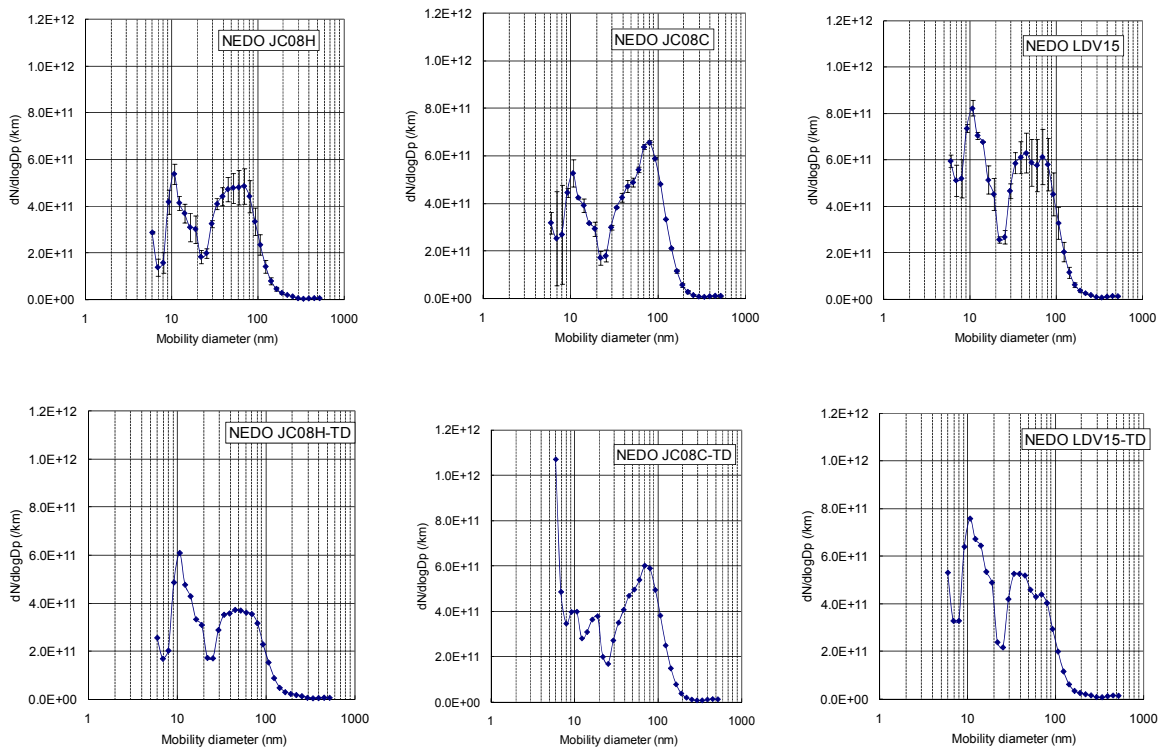


Fig.4.1.2.25 対照車両のPM 個数濃度分布

(左図：JC08H、中図：JC09C、右図：LDV15 モード、上段：常温、下段：加熱)



Fig

.4.1.2.26 NEDO 車両のPM 個数濃度分布

(左図：JC08H、中図：JC09C、右図：LDV15 モード、上段：常温、下段：加熱)

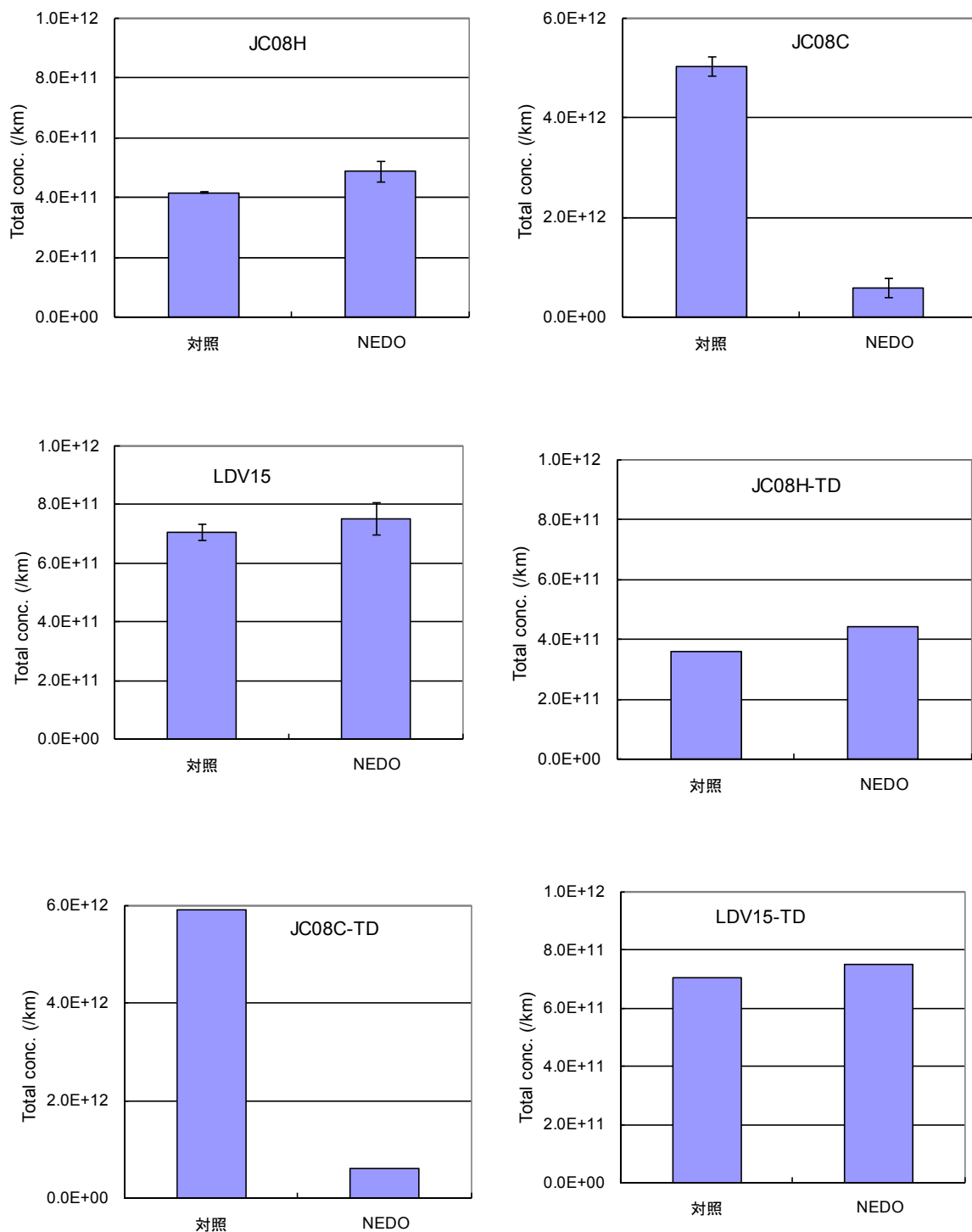


Fig.4.1.2.27 対照車両、NEDO 車両からの PM 個数排出量の比較

1.1.2.3 小括

NEDO 開発エンジン、車両の総合評価に適用可能な技術を検討確立し、開発システムの

評価試験を実施した。微量有害物質等の排出量に関しては、規制値のような比較にし得る値がないため、NEDO 開発エンジン、車両に対して、それぞれ対照エンジン（長期規制対応と新長期規制対応）と対照車両（新長期規制対応）を設定した。対照車両は、国内でディーゼル乗用車は殆ど生産されていないため、試験実施時に市場から調達可能な最新規制に対応した車両を選択した。さらに、エンジンに関しては文献等の公表データとの比較を行ったが、大型車両試験の結果が殆どであり排出量は g/km の単位で表記されており、エンジンベースの排出量 g/kWh と直接的に比較できる例は少なかった。

エンジン試験の結果、対照エンジン（長期規制対応）では、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、ベンゼン等が数 mg～数 10 mg/kWh 排出され、対照エンジン（新長期規制対応）では 0.1mg/kWh 以下程度排出されていたが、この値は文献値と同程度であった。これに対して、開発エンジンでは成分により多少の差はあるが、微量有害物質の排出量は対照エンジンに比較して増加は見られなかった。NEDO 開発エンジンから排出される PM 個数濃度は極めて低値であった。

NEDO 開発車両に関しても同様に対照車両に比して微量有害物質等の排出が大きく増加することはなく、概ね低減されていた。PM 個数濃度も同様に対照車両と同等レベルか低減されていた。この対照車両は DPF を装着しており、PM 排出量は相当低値であるため、試験条件によっては NEDO 開発車両が高値となる場合もあったが、低濃度レベルでの比較であり、特に問題となるとは思えない。

以上、NEDO 開発エンジンと車両では、微量有害物質やナノ PM の排出量が概ね低減されることを確認した。

4.1.3 PM 過渡排出成分

4.1.3.1 エンジン排出ガスの評価

Fig.4.1.3.1 に実験装置図を示す。NEDO 開発エンジンおよび対照エンジン 2 台（長期規制対応、新長期規制対応）をエンジンダイナモ上で JE05 モード運転し、その直接排出ガスの一部を質量分析装置に導入し、質量スペクトルを求めた。イオン化のためのレーザは YAG レーザの第四高調波 266 nm で、エネルギーは 90 mJ とした。

Fig. 4.1.3.2 および **Fig. 4.1.3.3** に対照エンジン（長期規制対応）から排出される芳香族成分の過渡計測結果を示す。単環および 2 環芳香族に関しては、減速時に信号が大きくなる傾向が観測された。3 環および 4 環芳香族ではモード開始 1647 秒の最も大きな減速時のみピークが観測された。ただし、これらのピークは非常に小さく、ほぼ検出限界に近い。予備検討の結果から、1647 秒時の 3 環、4 環芳香族の直接排出ガス濃度は数 ppb 程度と推察される。

Fig. 4.1.3.4 に対照エンジン（長期規制対応）直接排出ガスの質量スペクトルの代表例として、1485 秒時と 1647 秒時の場合を示す。1485 秒のときは 2 環以下の芳香族やそのフラグメントピークが観測されているが、1647 秒時では 4 環までピークが明確に観測され、単環成分に関しても信号が大きいがわかる。ベンゼンやトルエンに関しては信号の大きさから数十 ppb 程度の濃度であると推察される。

また、**Fig. 4.1.3.5** に示すように、モードの加速や減速、アイドリング等の 16 のポイントで質量スペクトルの測定を行った。その結果を **Fig. 4.1.3.6** と **Fig. 4.1.3.7** に示す。これらからも減速時に信号が（特に単環、フラグメントで）大きくなっていることがわかる。

Fig. 4.1.3.8 は同様の計測を対照エンジン（新長期規制対応）でおこなった場合の過渡計測結果である。また、**Fig. 4.1.3.9** と **Fig. 4.1.3.10** に **Fig. 4.1.3.5** で示したポイントで測定した質量スペクトルを示す。これらからわかるように、ピークは一切観測されず、検出限界（数 ppb～数十 ppb）以下であることがわかった。

Fig. 4.1.3.11 は同様の計測を NEDO 開発エンジンでおこなった場合の過渡計測結果である。また、**Fig. 4.1.3.12** と **Fig. 4.1.3.13** に **Fig. 4.1.3.5** で示したポイントで測定した質量スペクトルを示す。これらからわかるように、ピークは一切観測されず、検出限界（数 ppb～数十 ppb）以下であることがわかった。

以上の結果から、NEDO 開発エンジンでは過渡的にも特異な排出がなく、その濃度レベルは新長期規制対応のエンジンと同等以下であることがわかった。

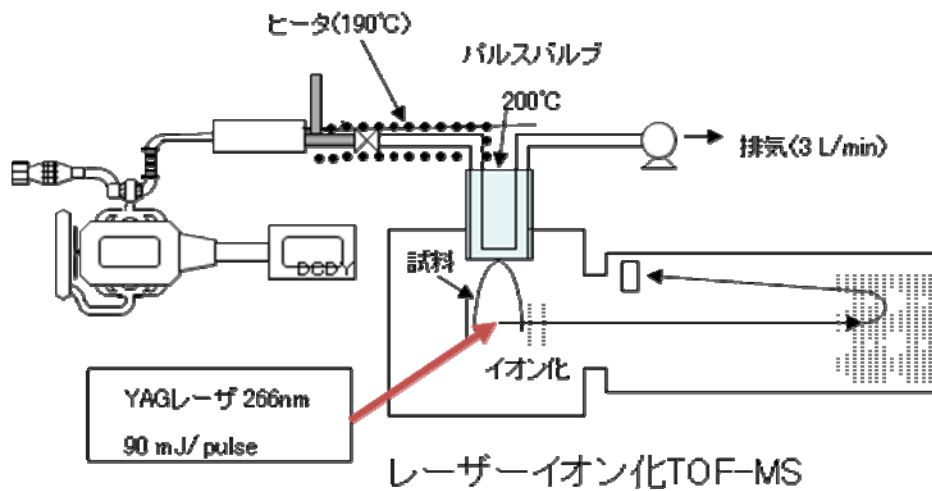
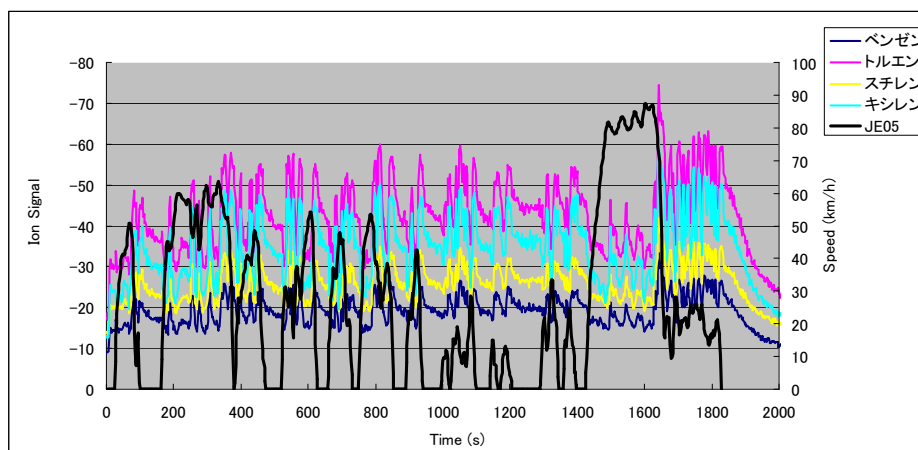
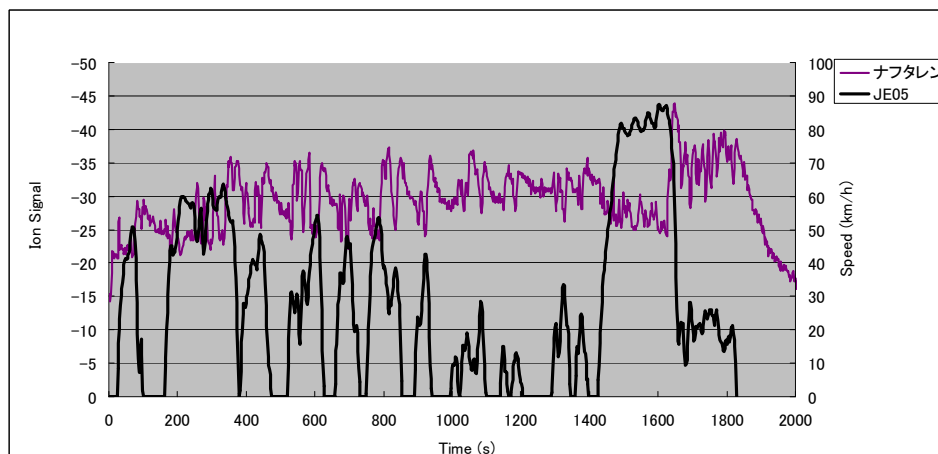


Fig. 4.1.3.1 実験装置図

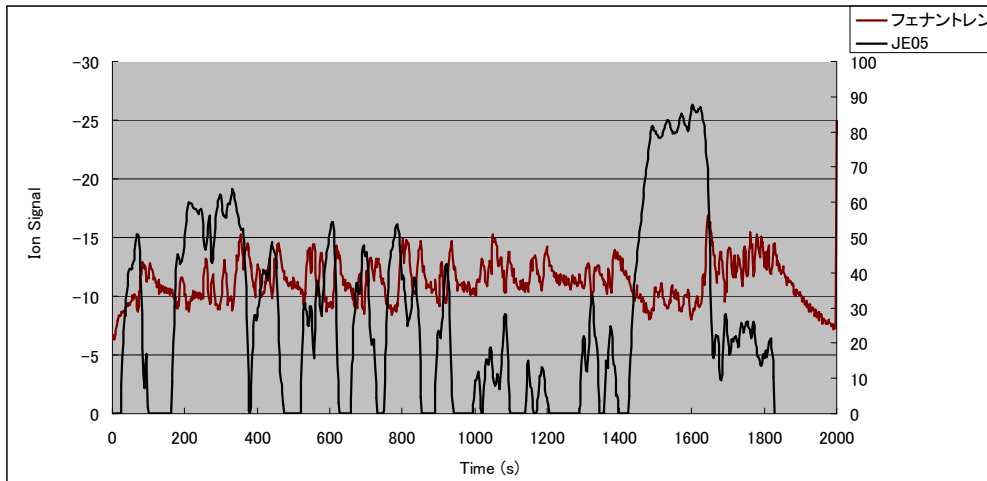


単環芳香族

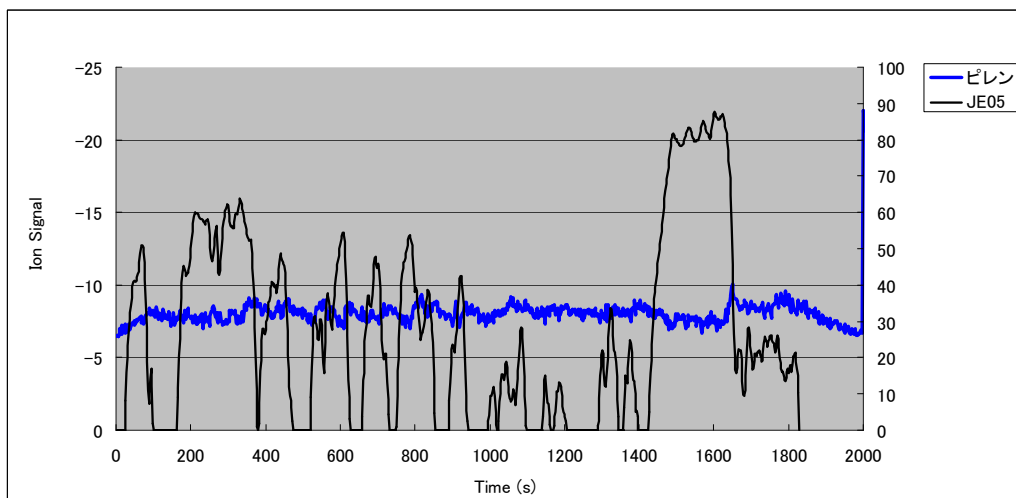


2環芳香族 (ナフタレン)

Fig. 4.1.3.2 対照エンジン (長期規制対応) から排出される芳香族成分の過渡排出特性 (JE05モード)

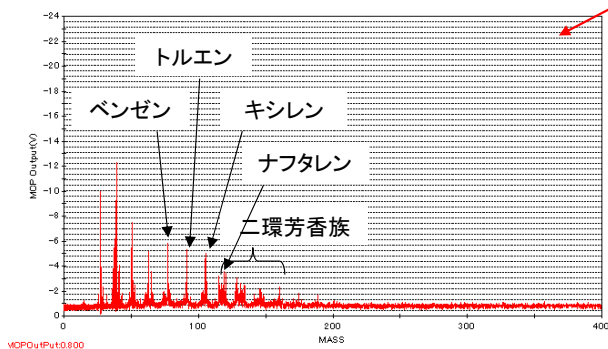
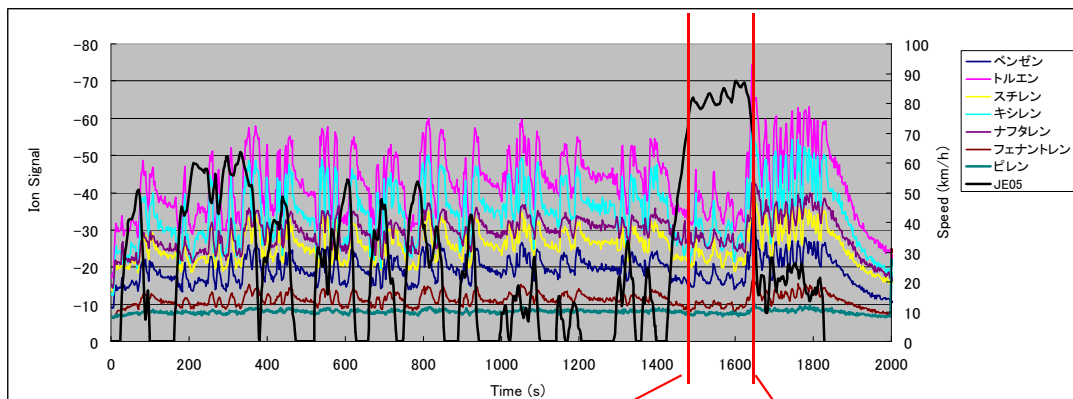


3 環芳香族 (フェナントレン)

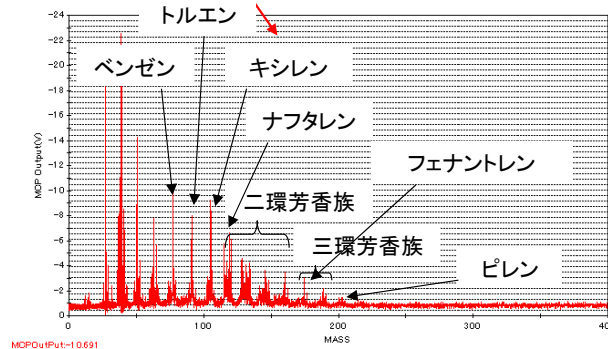


4 環芳香族 (ピレン)

Fig. 4.1.3.3 対照エンジン (長期規制対応) から排出される芳香族成分の過渡排出特性 (JE05 モード)



1485秒時の質量スペクトル



1647秒時の質量スペクトル

Fig. 4.1.3.4 対照エンジン（長期規制対応）直接排出ガスの質量スペクトル

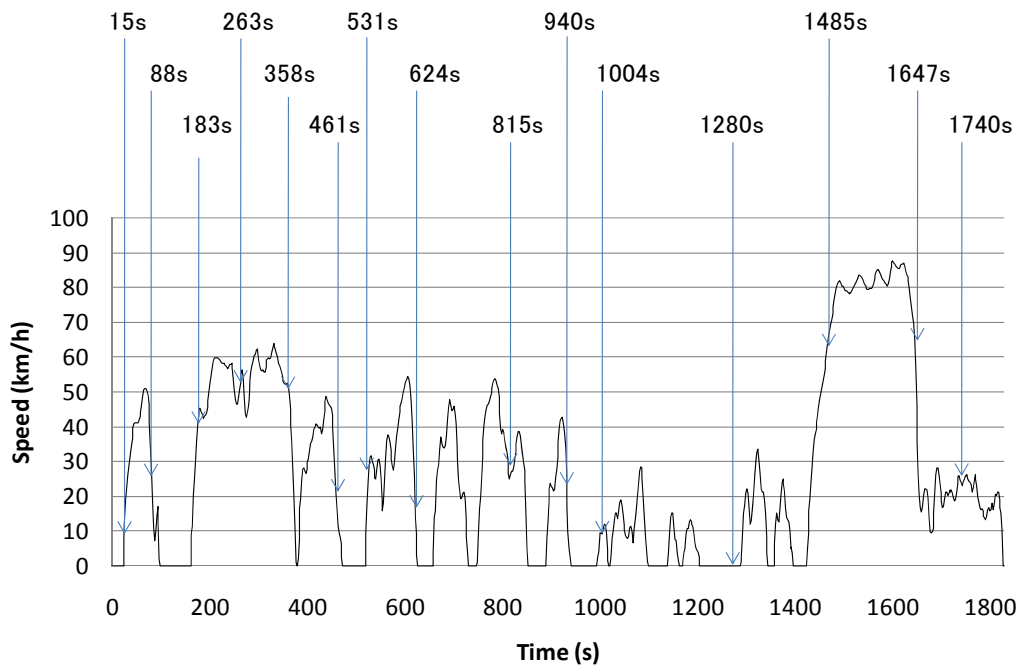


Fig. 4.1.3.5 JE05 モードでの質量スペクトルの測定ポイント

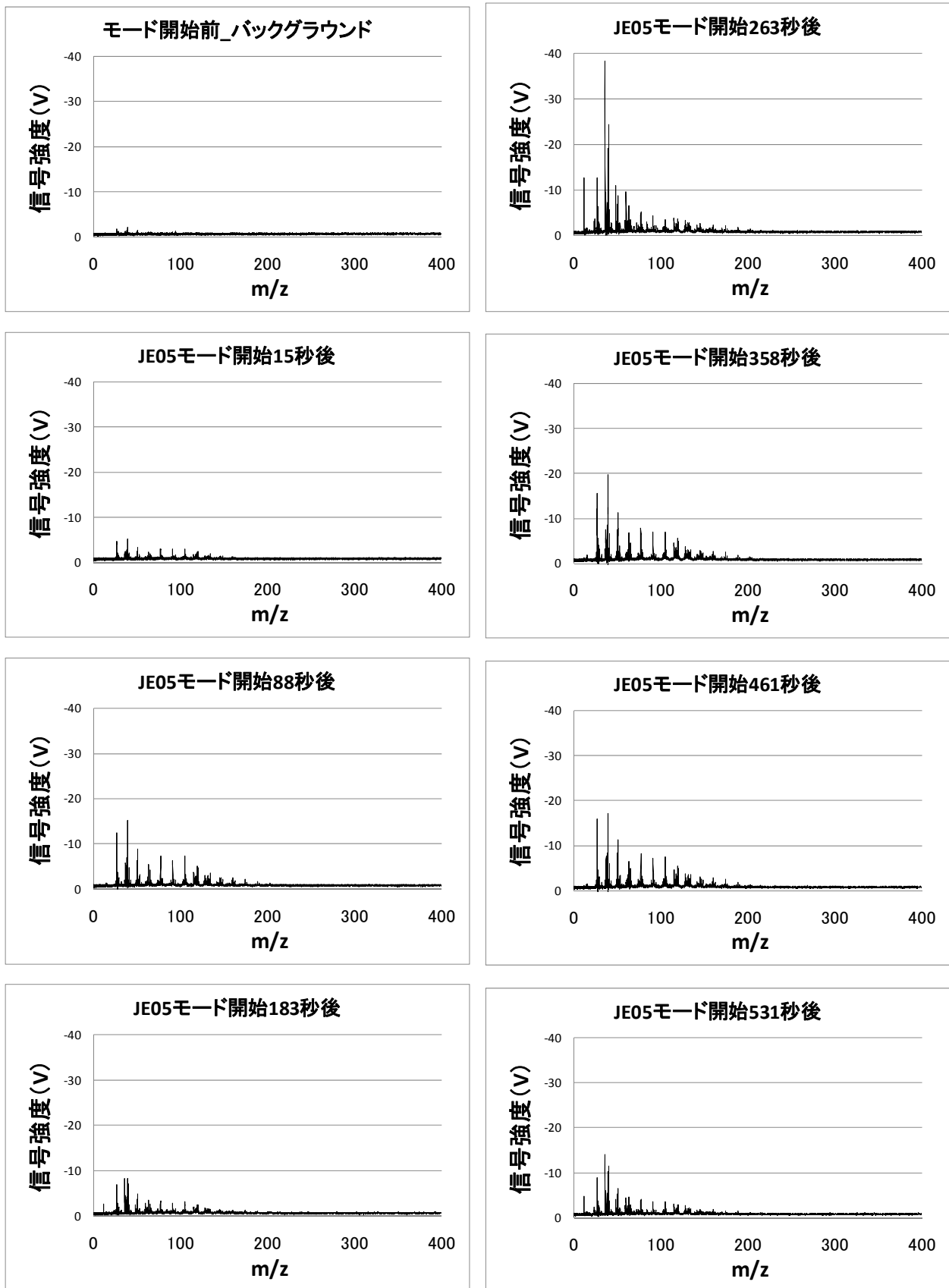


Fig. 4.1.3.6 対照エンジン（長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル

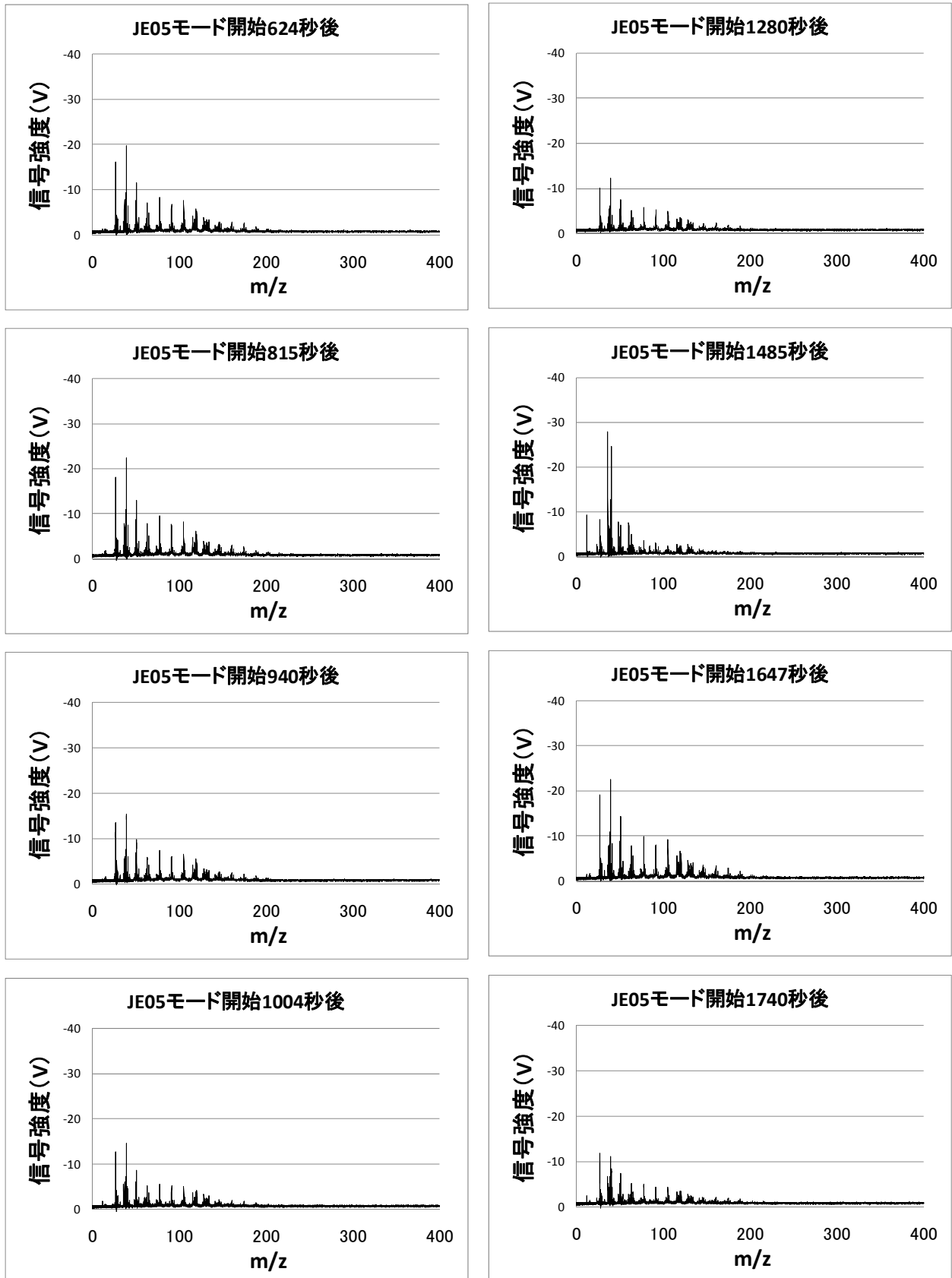


Fig. 4.1.3.7 対照エンジン（長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル

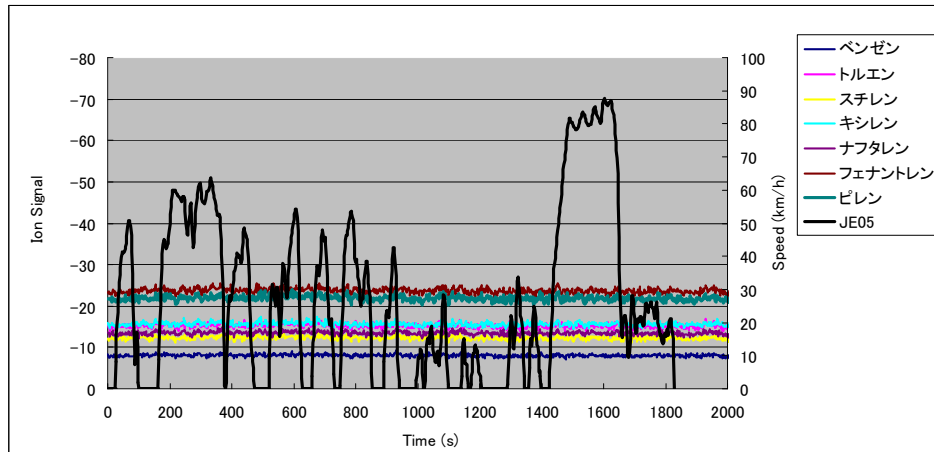


Fig. 4.1.3.8 対照エンジン（新長期規制対応）から排出される芳香族成分の過渡排出特性（JE05モード）

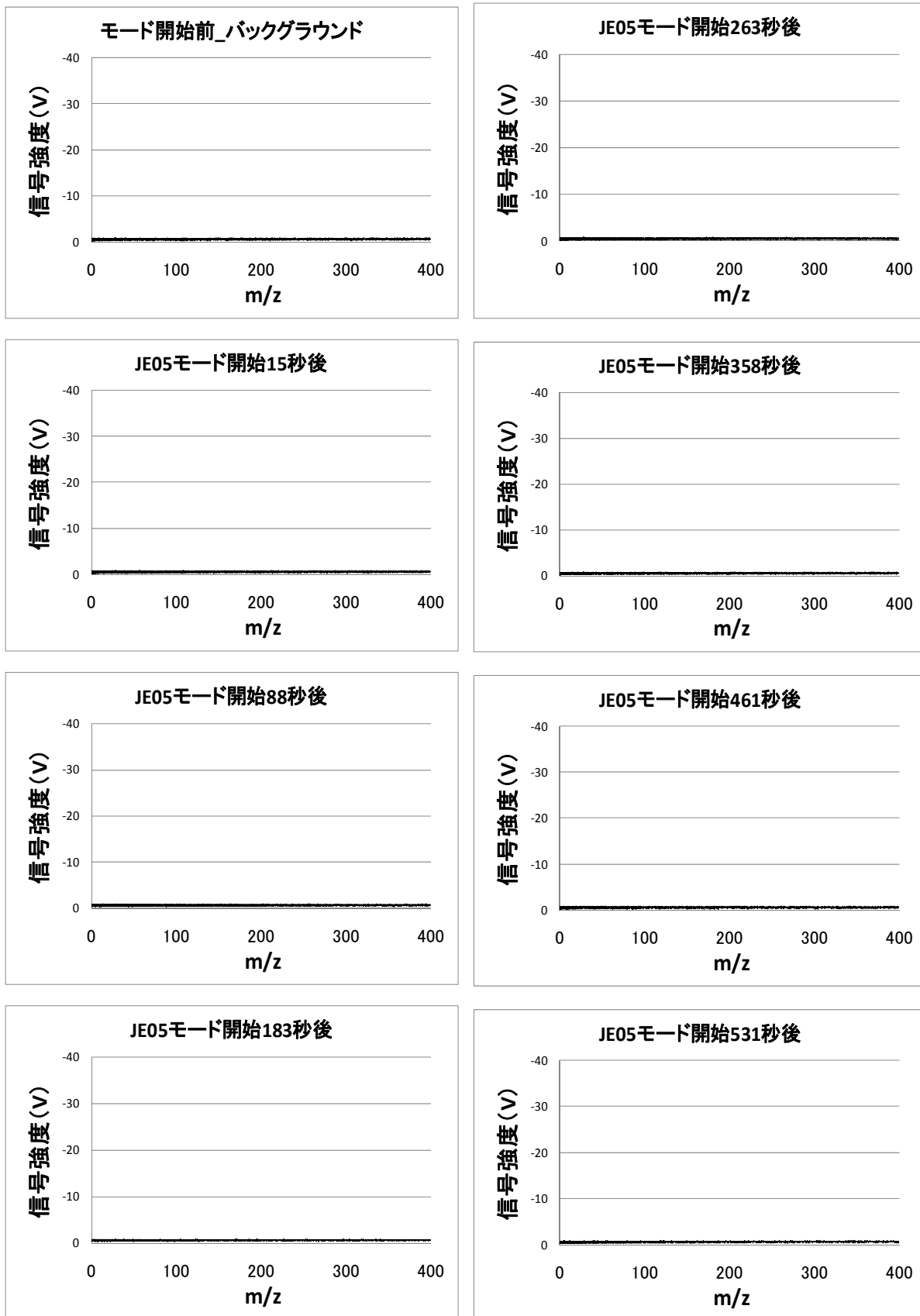


Fig. 4.1.3.9 対照エンジン（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル

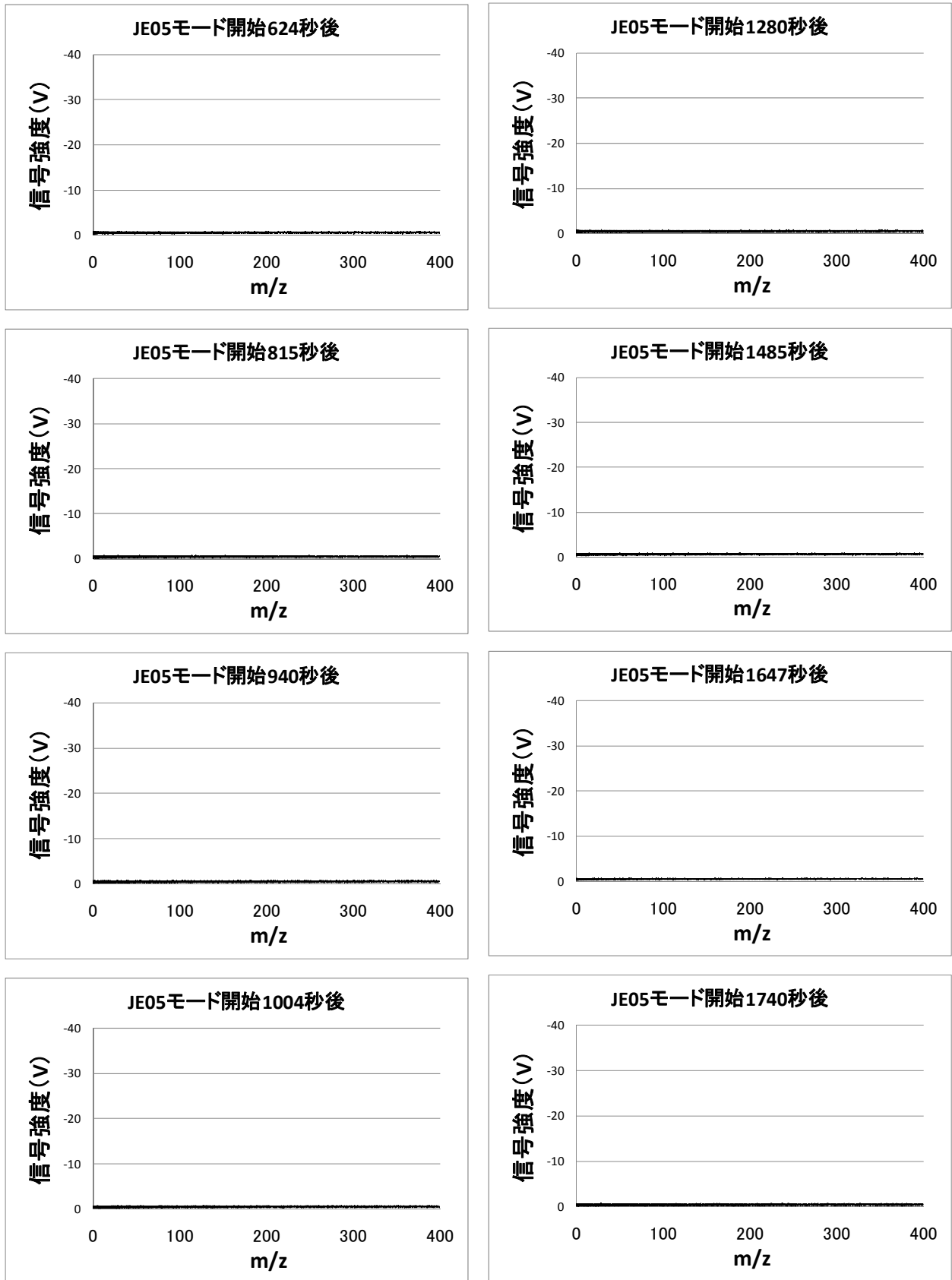


Fig. 4.1.3.10 対照エンジン（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル

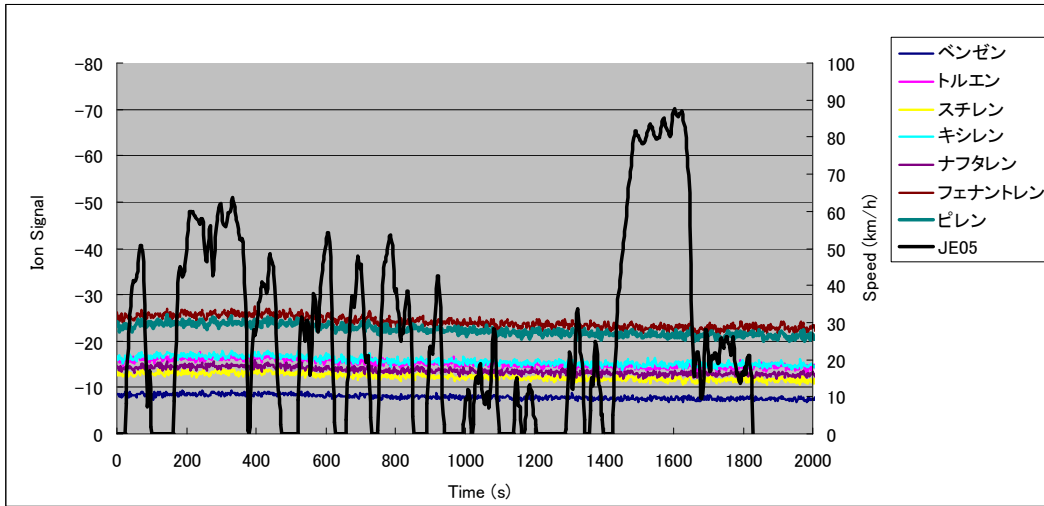


Fig. 4.1.3.11 NEDO 開発エンジンから排出される芳香族成分の過渡排出特性 (JE05 モード)

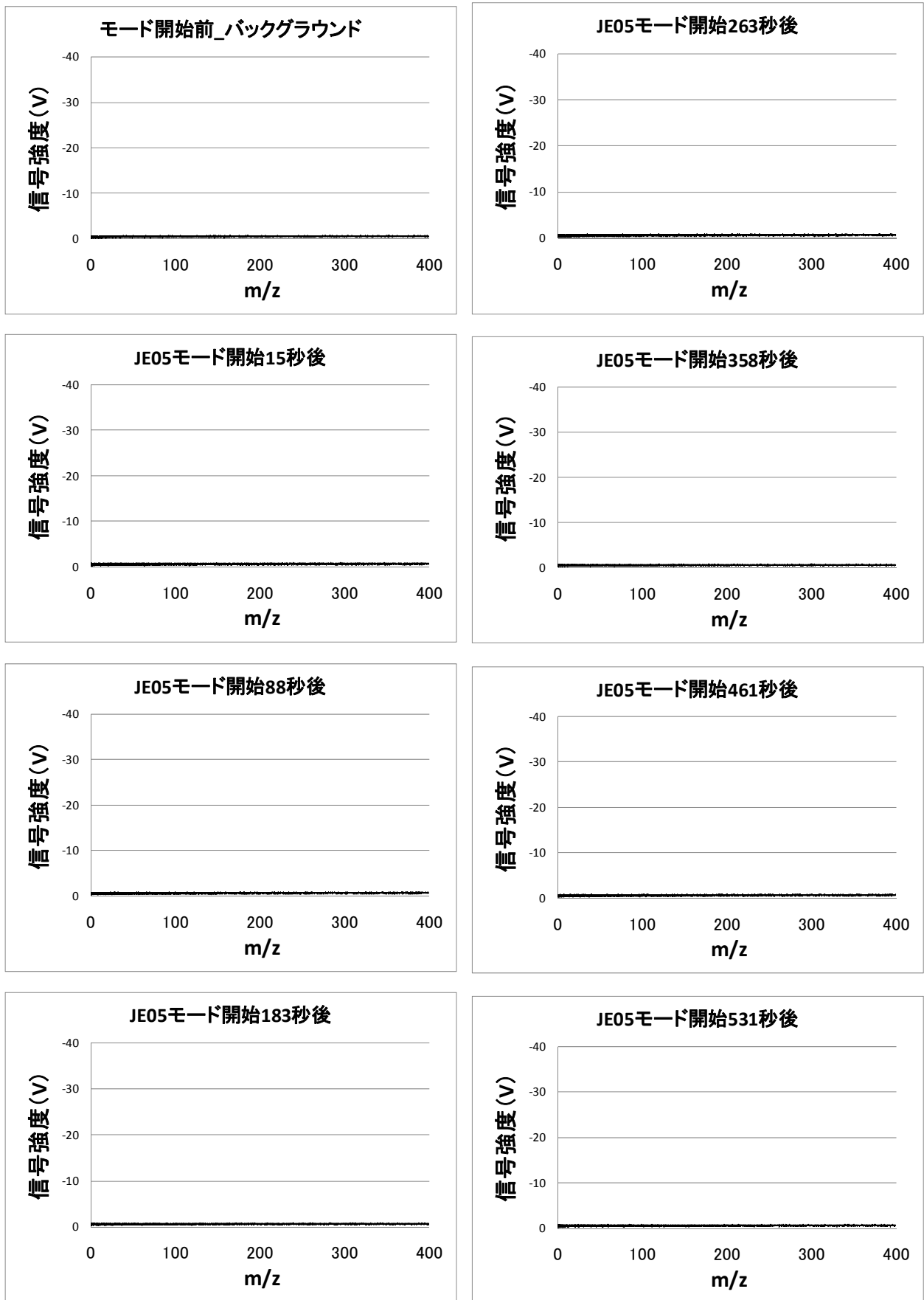


Fig. 4.1.3.12 NEDO 開発エンジンの直接排出ガスの質量スペクトル

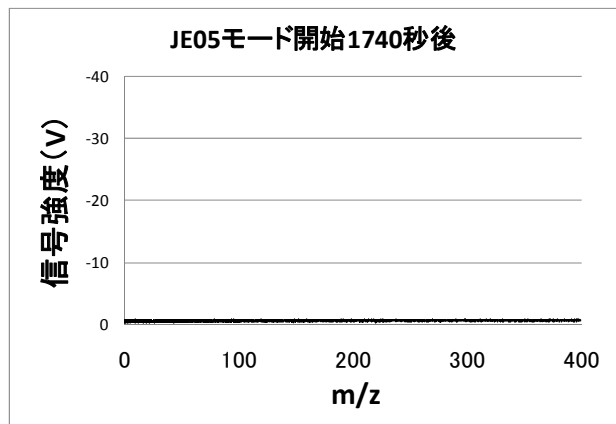
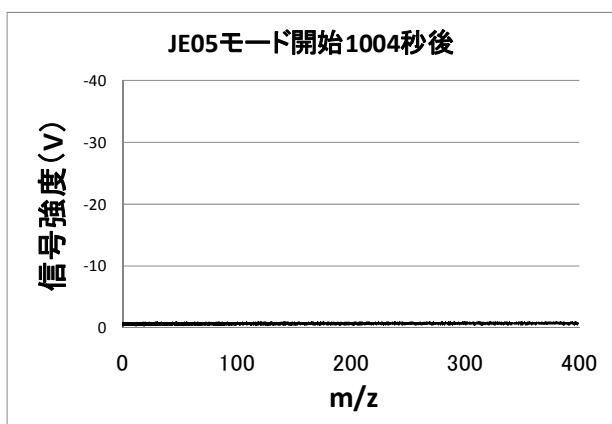
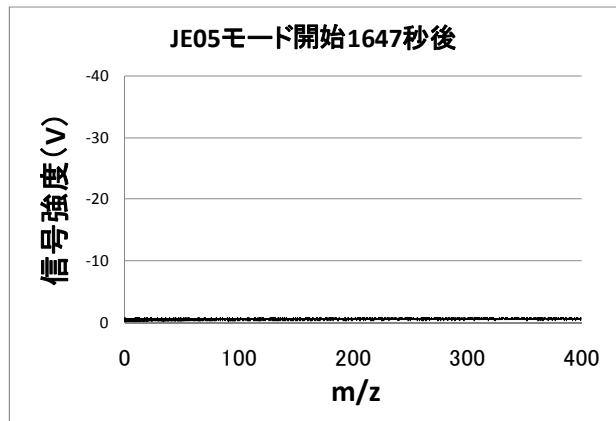
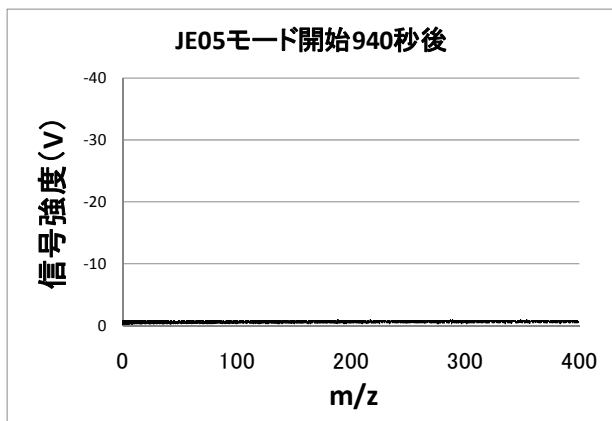
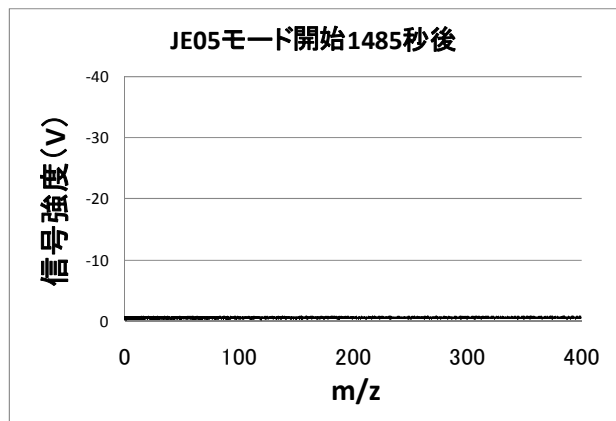
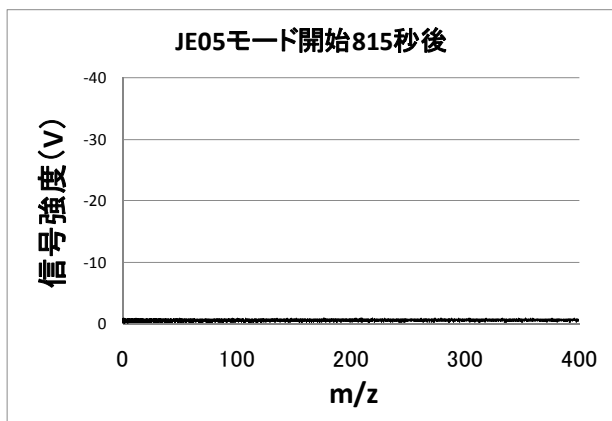
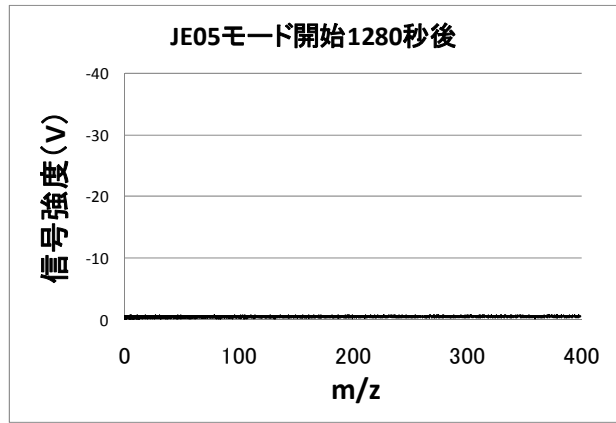
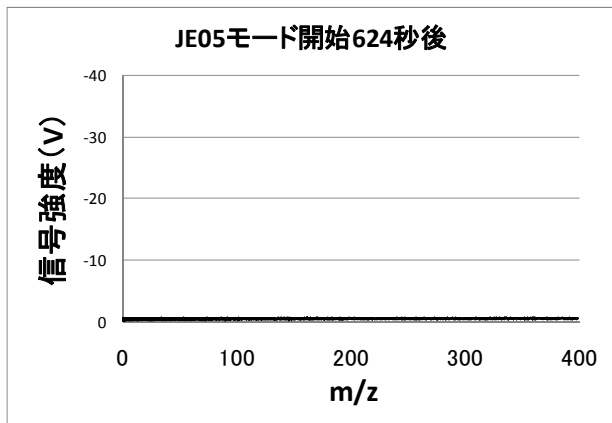


Fig. 4.1.3.13 NEDO 開発エンジンの直接排出ガスの質量スペクトル

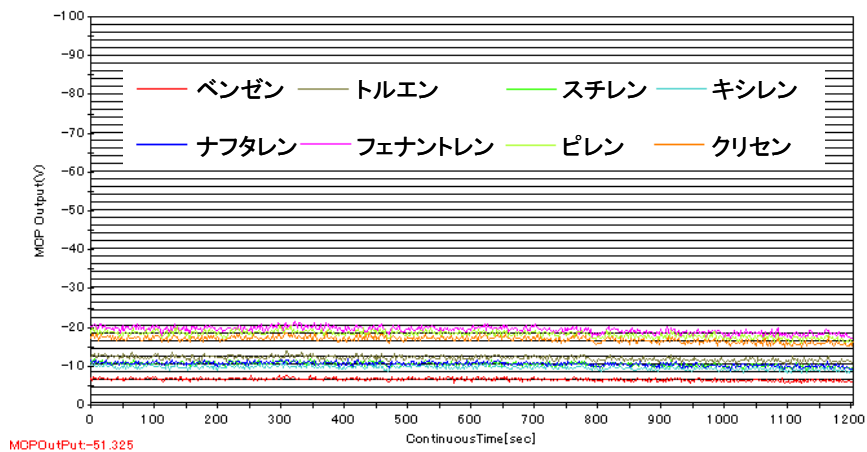
4.1.3.2 車両排出ガスの評価

NEDO 開発車両および対照車両（新長期規制対応）をシャシダイナモ上でモード運転し（JC08 モード_コールドおよびホット）、直接排出ガスの一部を質量分析装置に導入し、質量スペクトルを求めた。計測条件は前項のエンジン試験と同様である。

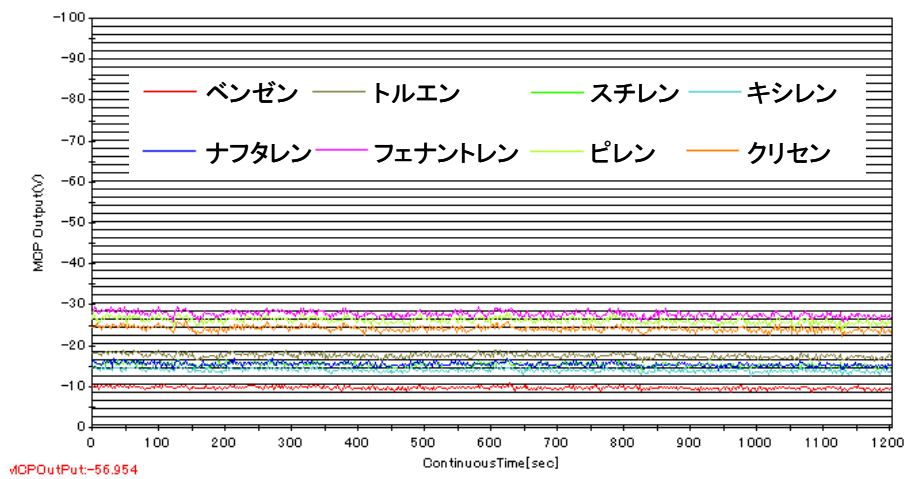
Fig.4.1.3.14 に対照車両（新長期規制対応）から排出される芳香族成分の過渡計測結果を示す。また、**Fig. 4.1.3.15** に示すように、モードの加速や減速、アイドリング等の 26 のポイントで質量スペクトルの測定を行った。その結果を **Fig. 4.1.3.16**～**Fig. 4.1.3.19**（コールド）および **Fig. 4.1.3.20**～**Fig. 4.1.3.23**（ホット）に示す。これらからわかるように、コールドモード、ホットモードに関係なく、ピークは一切観測されず、検出限界（数 ppb～数十 ppb）以下であることがわかった。

Fig. 4.1.3.24 は同様の計測を NEDO 開発車両でおこなった結果である。また、**Fig. 4.1.3.25**～**Fig. 4.1.3.28** および **Fig. 4.1.3.29**～**Fig. 4.1.3.32** に **Fig. 4.1.3.15** で示したポイントで測定した質量スペクトル（コールドおよびホット）を示す。これらからわかるように、コールド・スタート、ホット・スタートに関係なく、ピークは一切観測されず、検出限界（数 ppb～数十 ppb）以下であることがわかった。

以上の結果から、NEDO 開発車両では過渡的にも特異な排出がなく、その濃度レベルは新長期規制対応の車両と同等以下であることがわかった。



JC08_Cold



JC08_Hot

Fig. 4.1.3.14 対照車両（新長期規制対応）から排出される芳香族成分の過渡変化

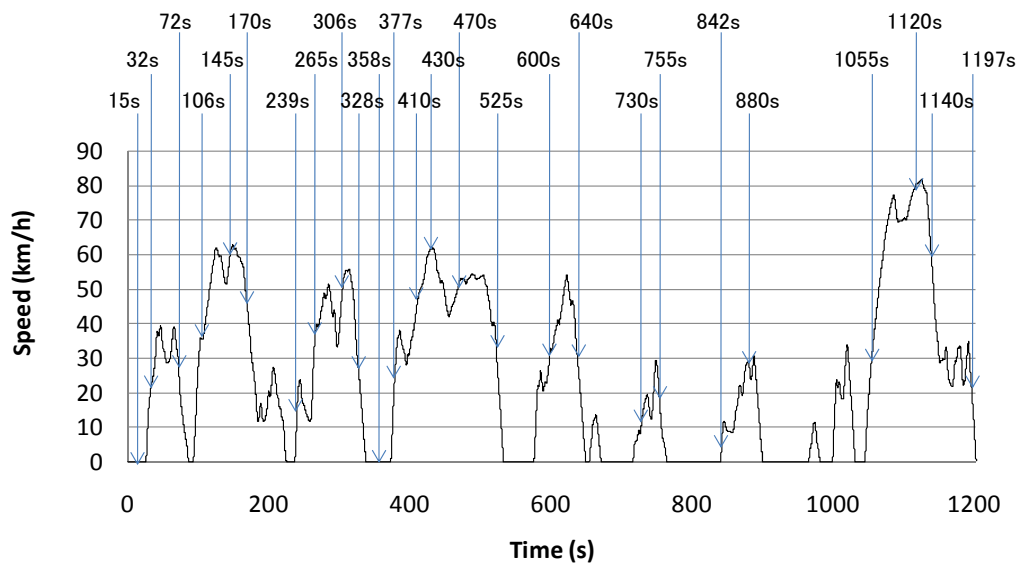


Fig. 4.1.3.15 JC08 モードでの質量スペクトルの測定ポイント

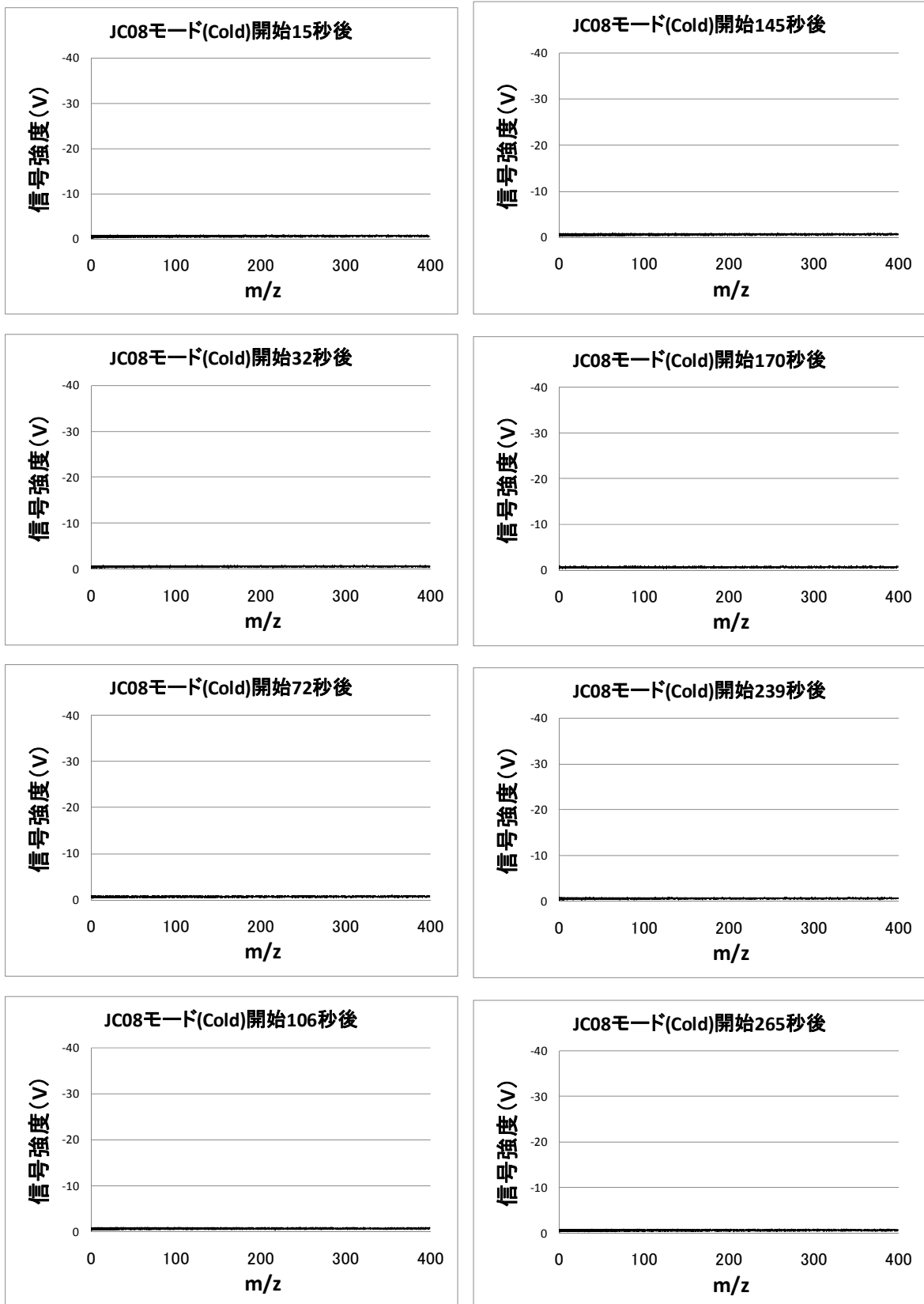


Fig. 4.1.3.16 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル (JC08モード_Cold)

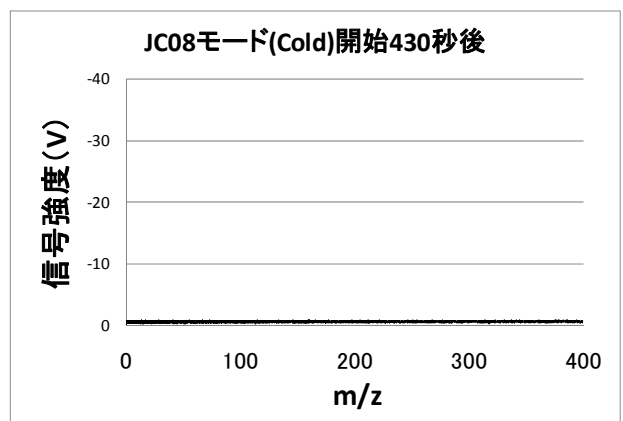
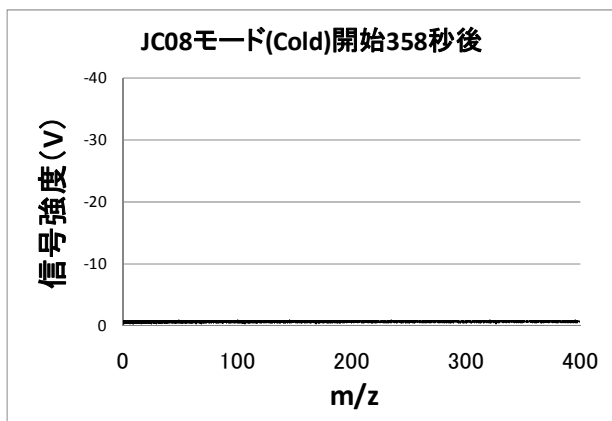
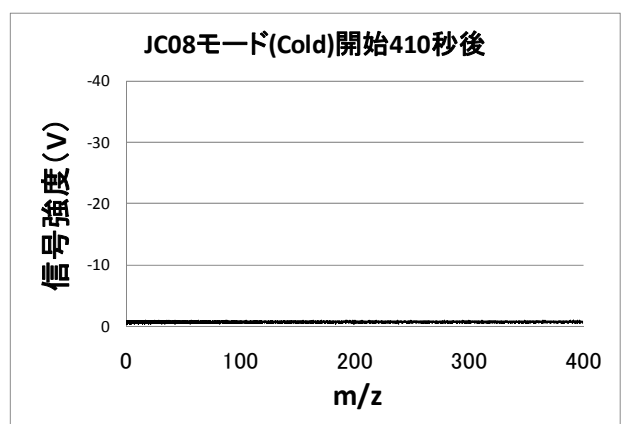
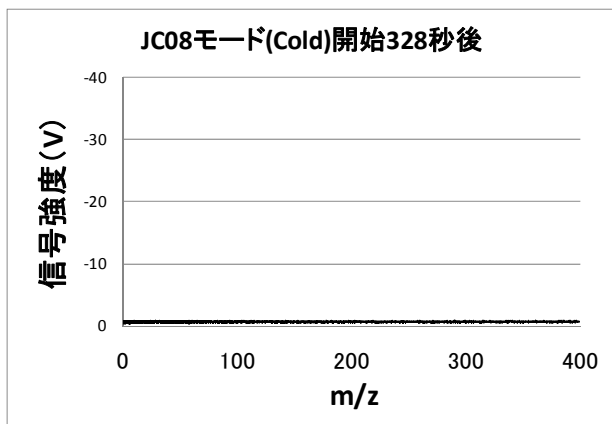
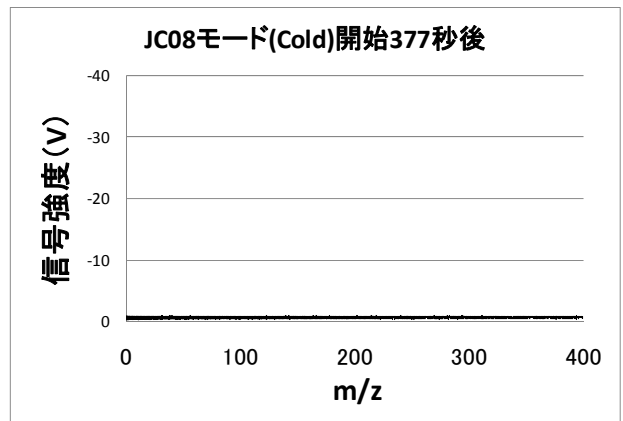
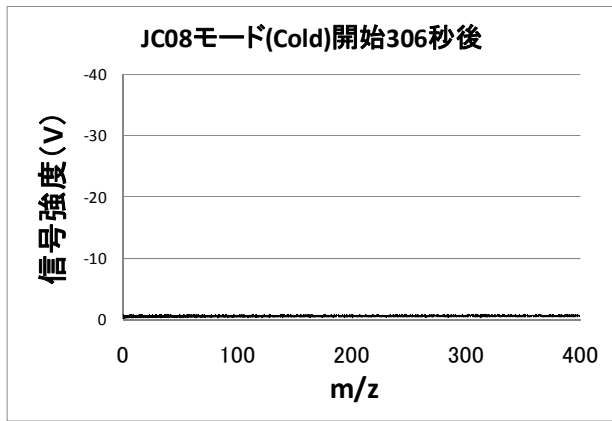


Fig. 4.1.3.17 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Cold)

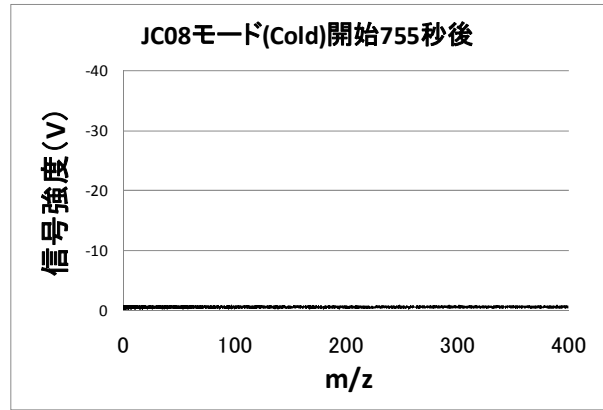
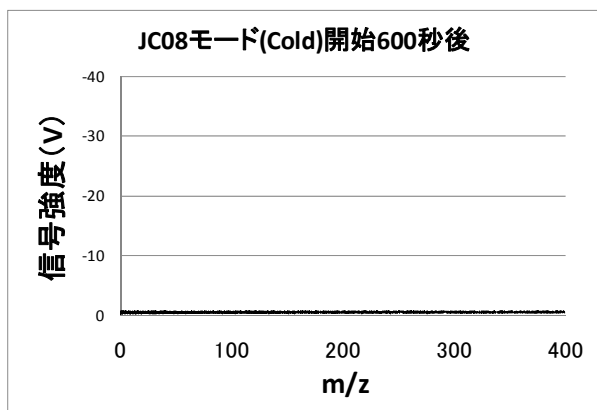
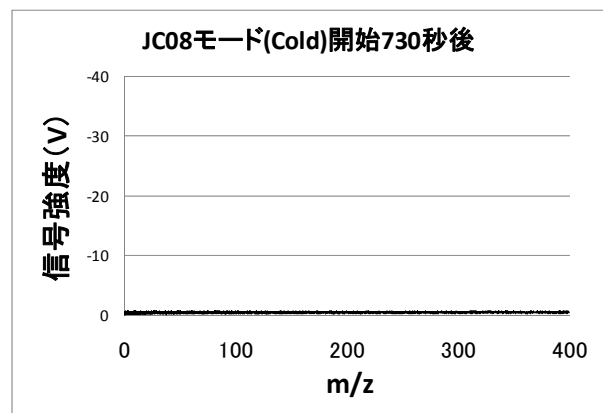
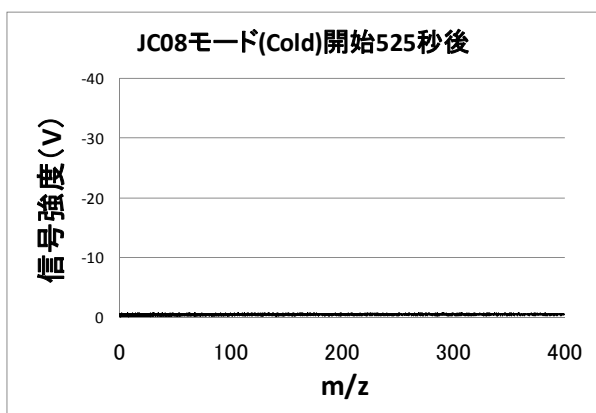
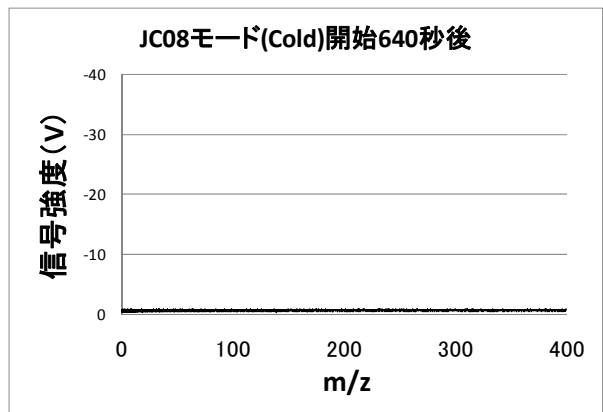
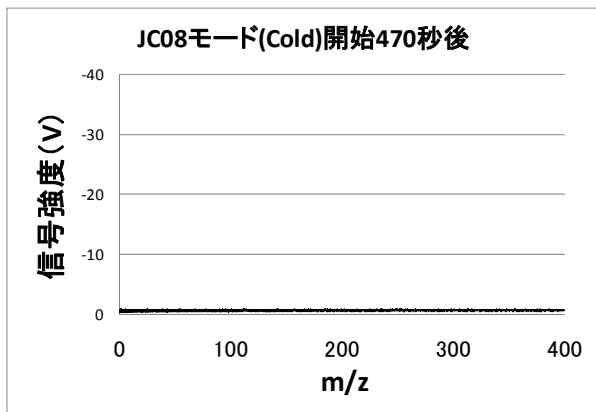


Fig. 4.1.3.18 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Cold)

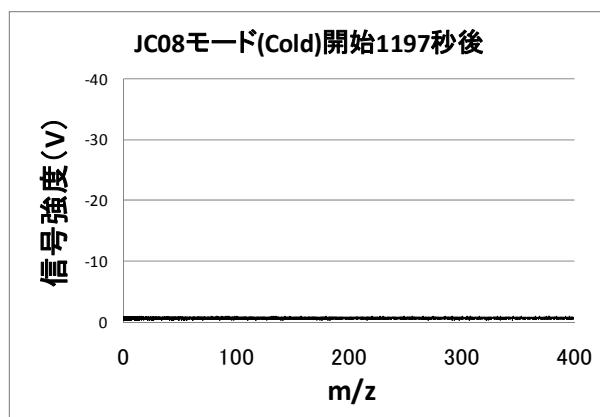
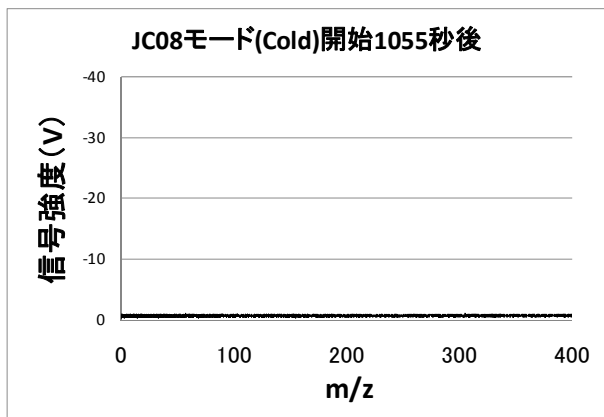
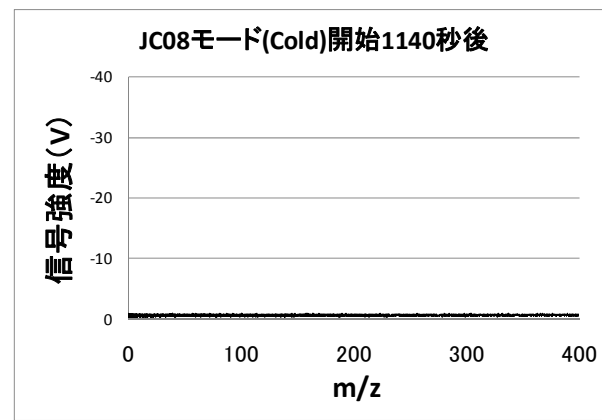
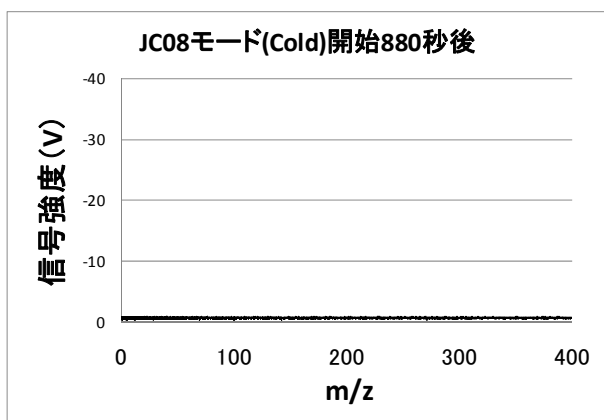
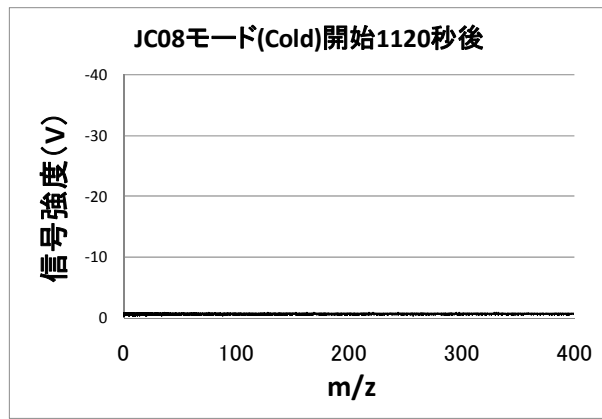
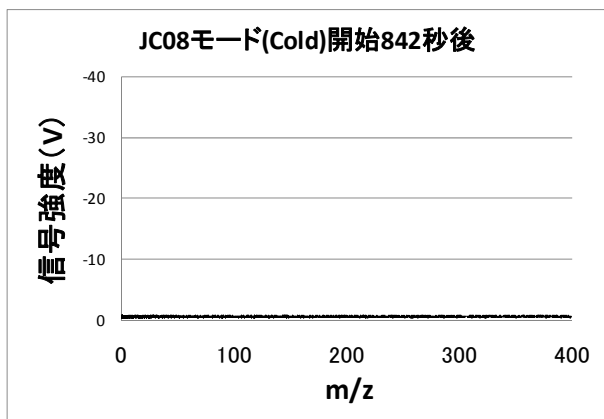


Fig. 4.1.3.19 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Cold)

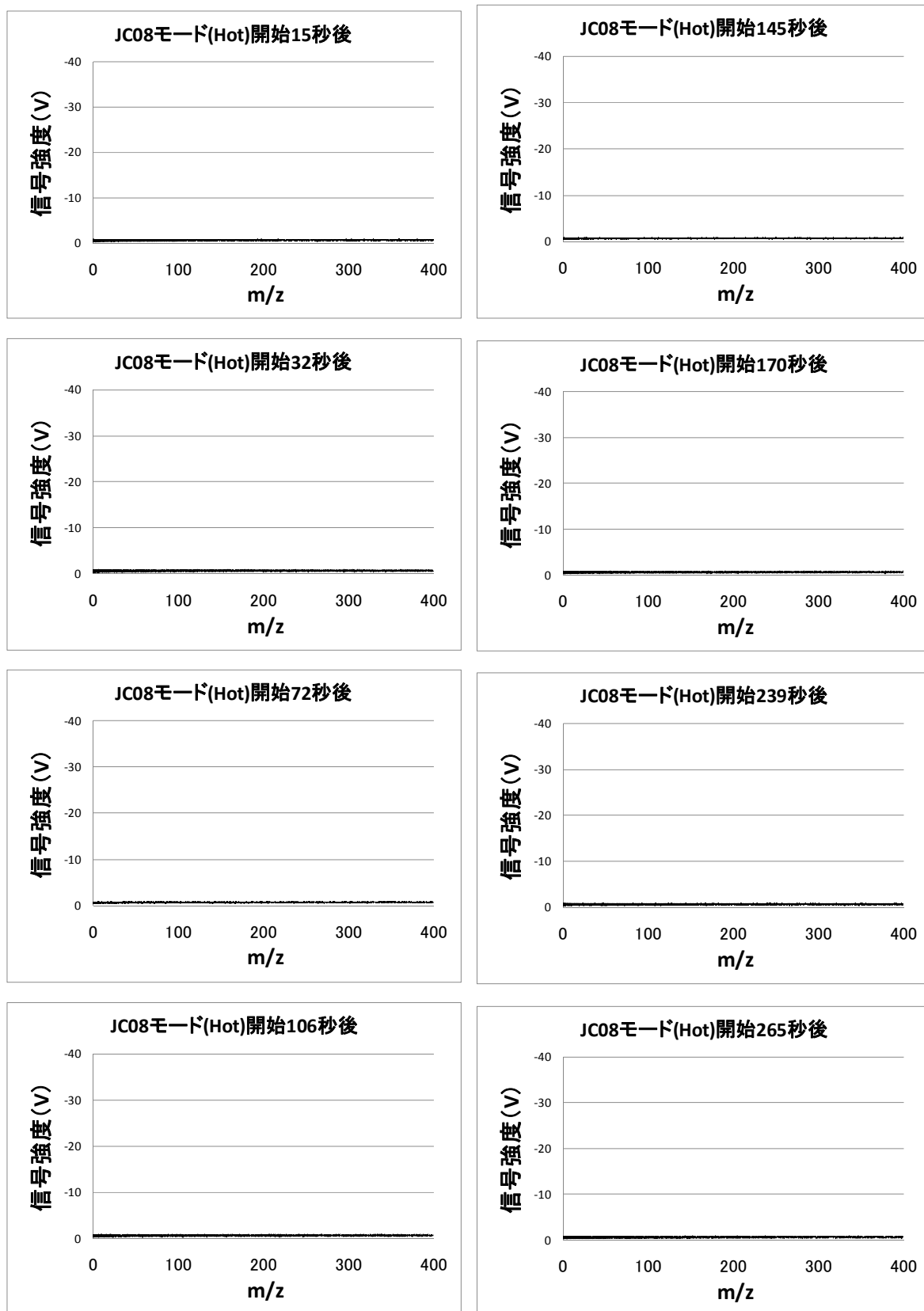


Fig. 4.1.3.20 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル（JC08モード_Hot）

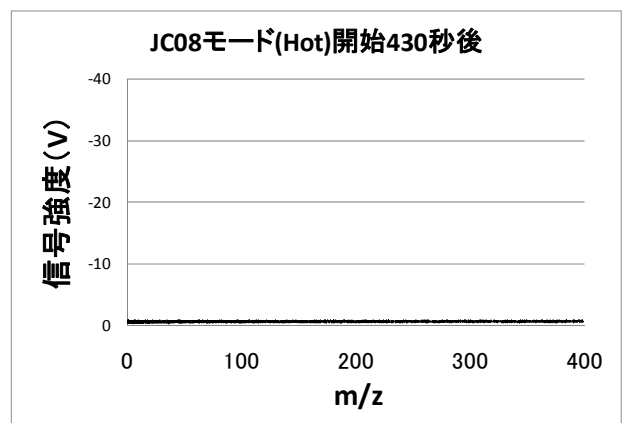
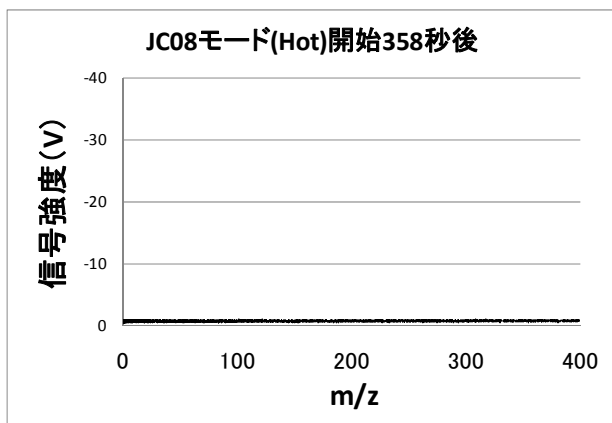
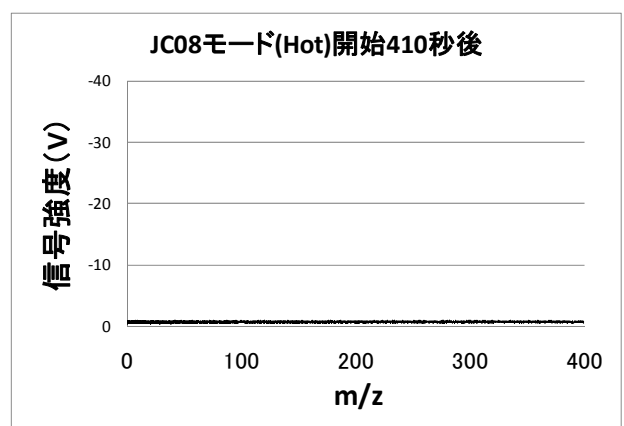
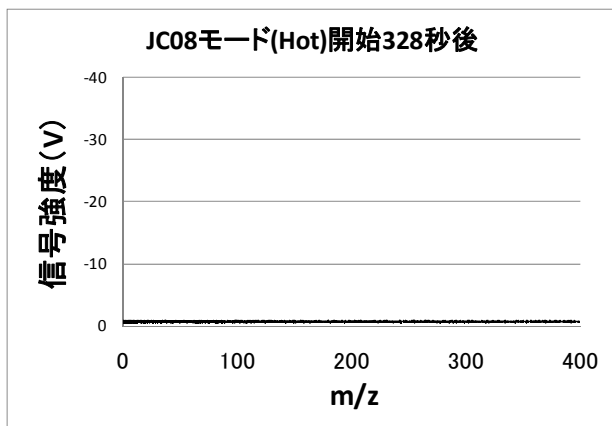
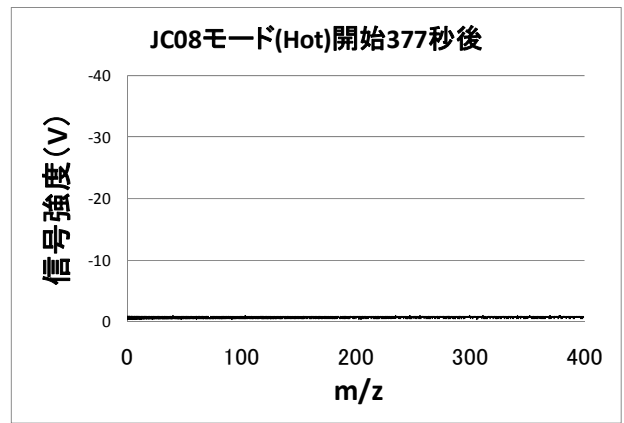
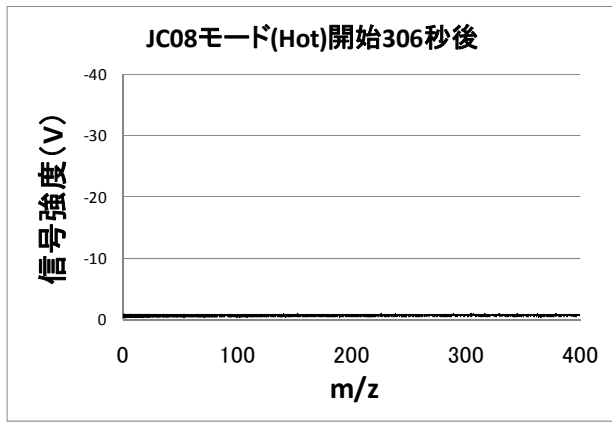


Fig. 4.1.3.21 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Hot)

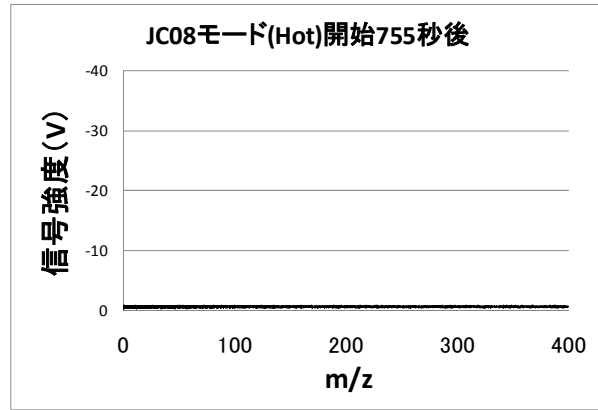
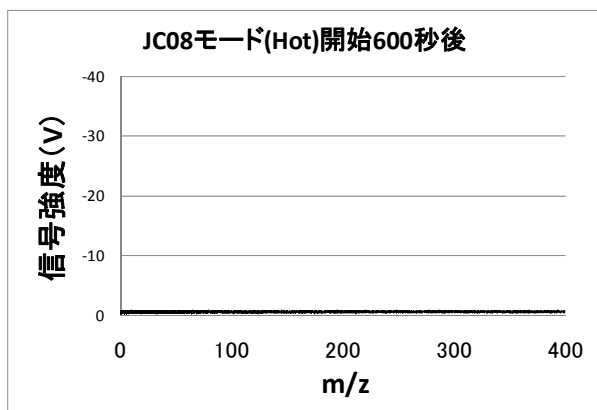
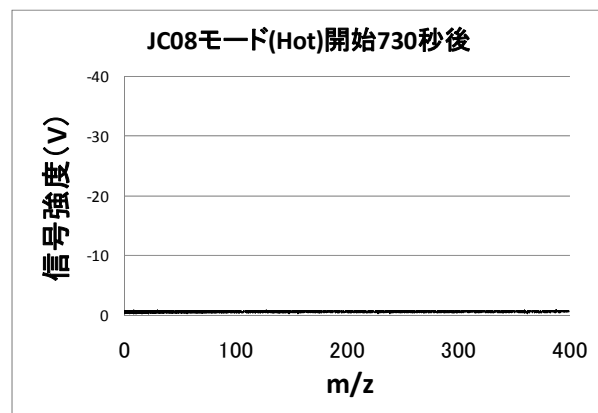
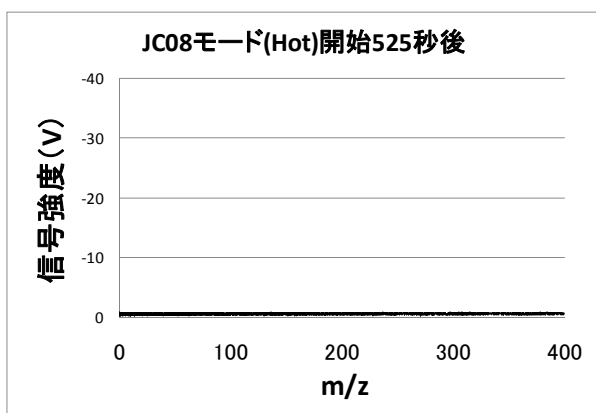
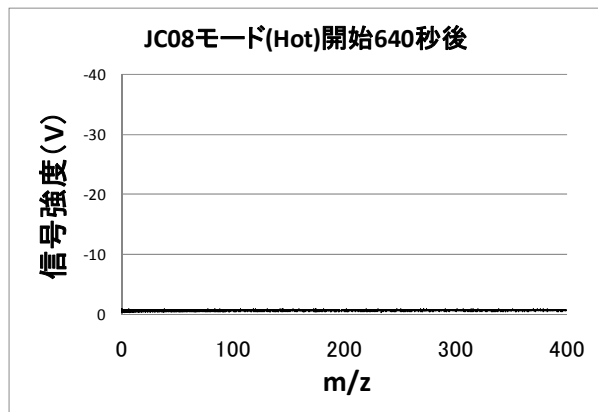
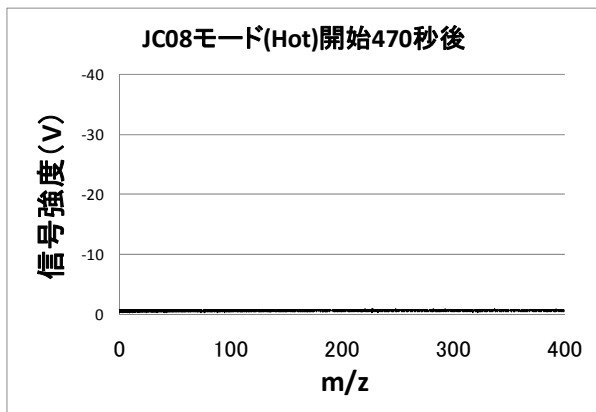


Fig. 4.1.3.22 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Hot)

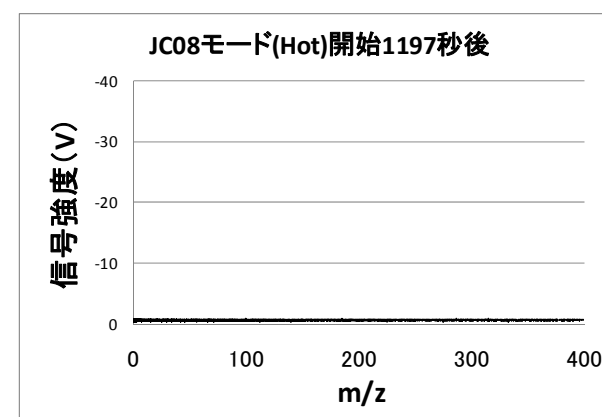
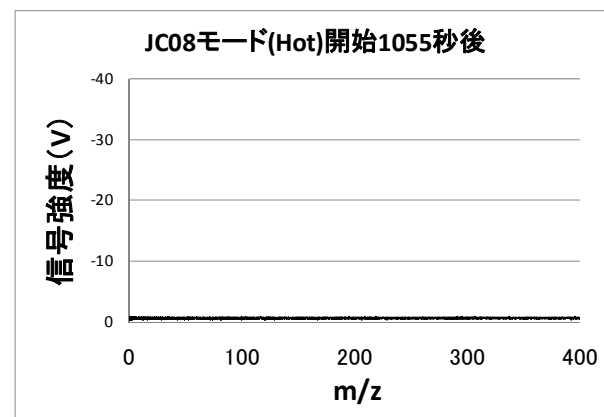
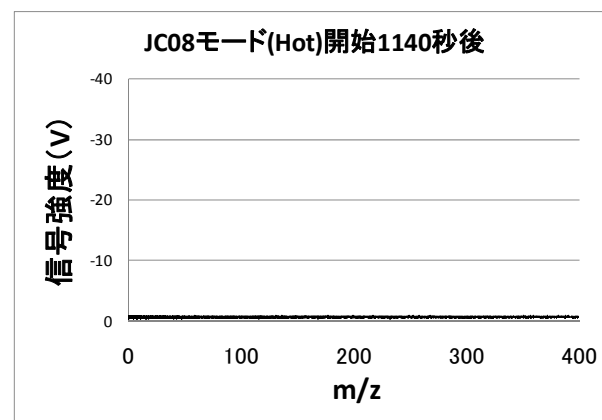
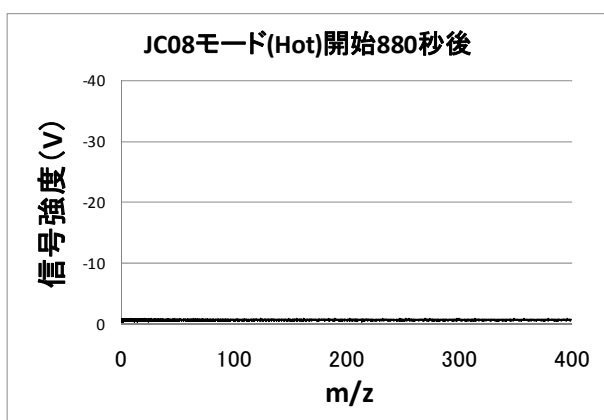
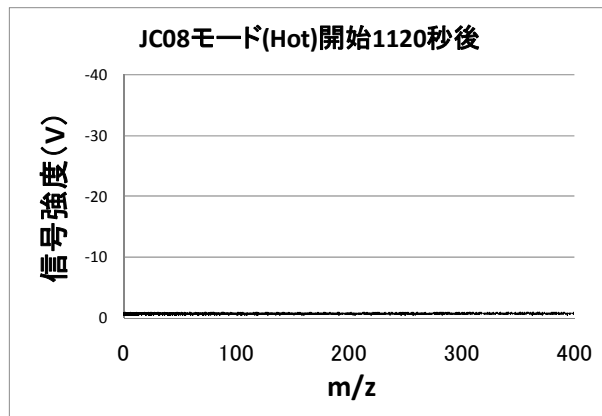
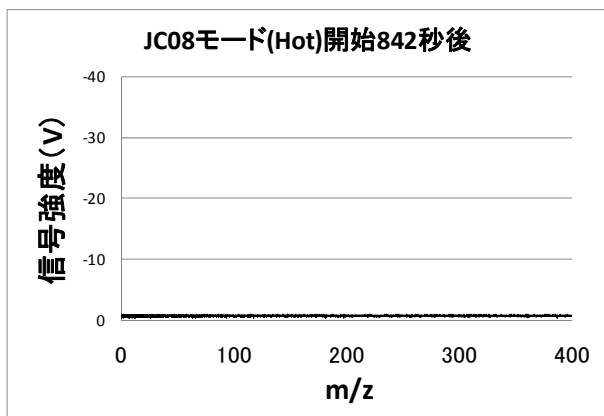
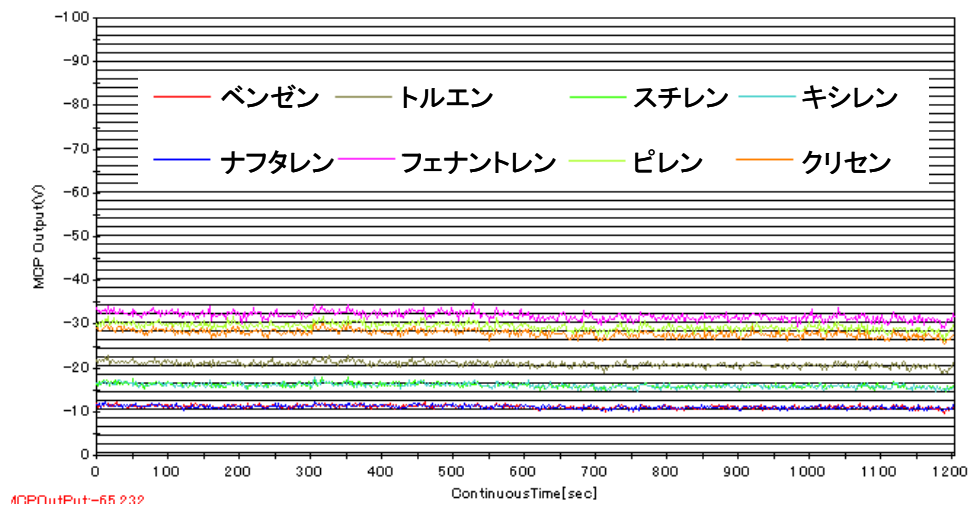
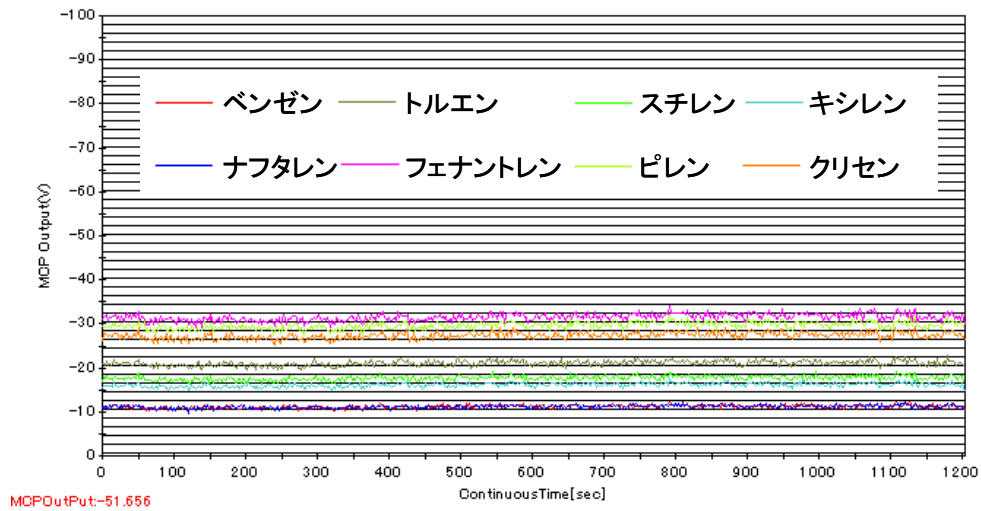


Fig. 4.1.3.23 対照車両（新長期規制対応）の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Hot)



JC08_Cold



JC08_Hot

Fig. 4.1.3.24 NEDO 開発車両から排出される芳香族成分の過渡変化

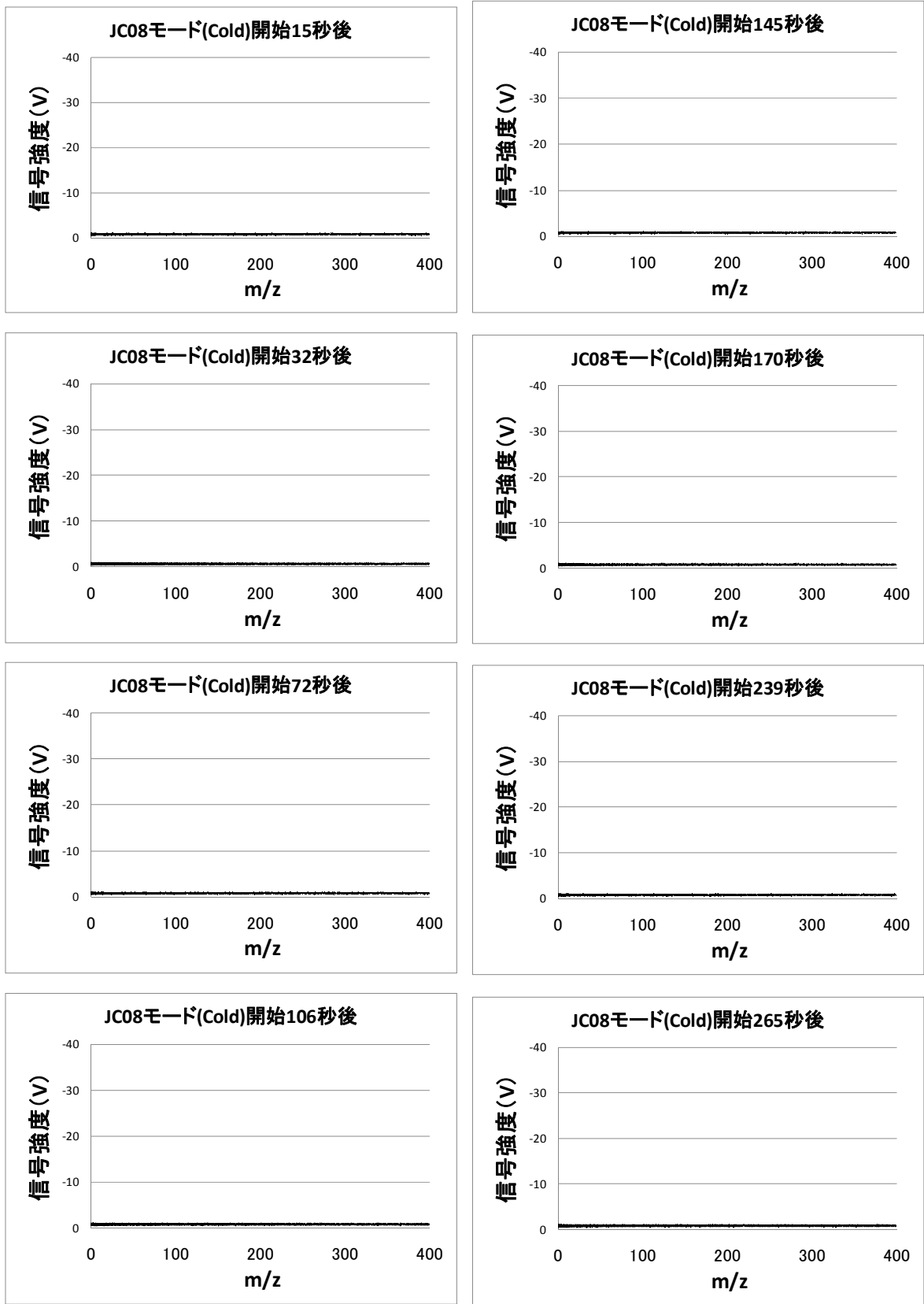


Fig. 4.1.3.25 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル (JC08モード_Cold)

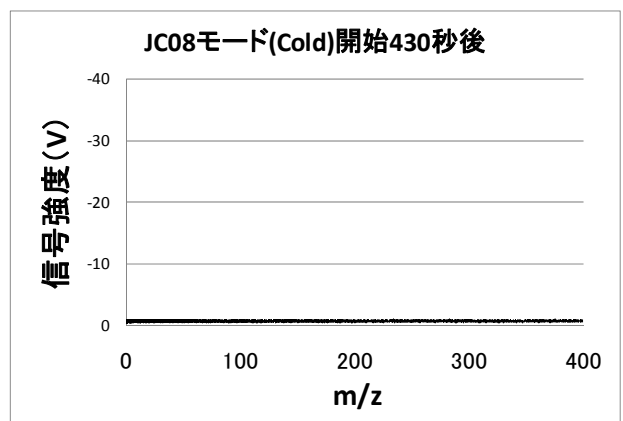
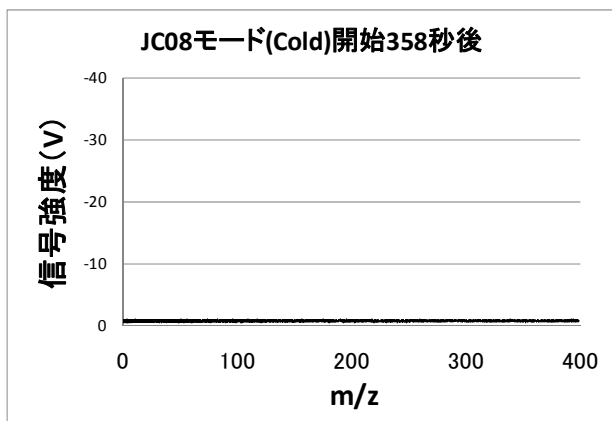
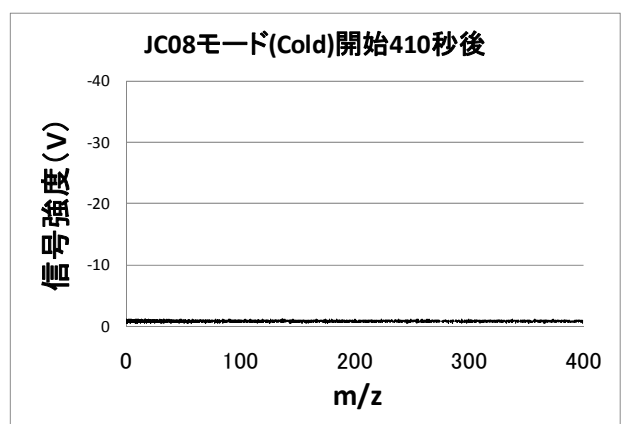
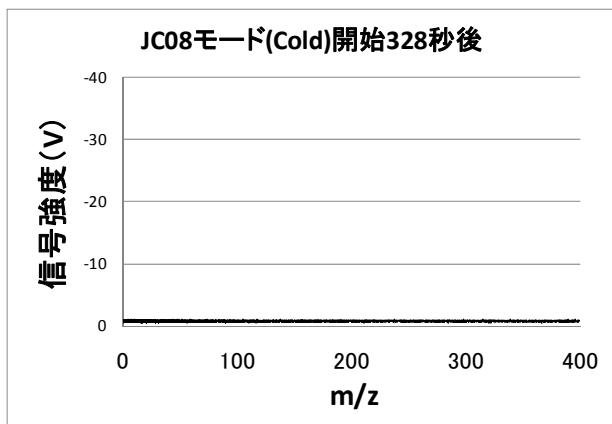
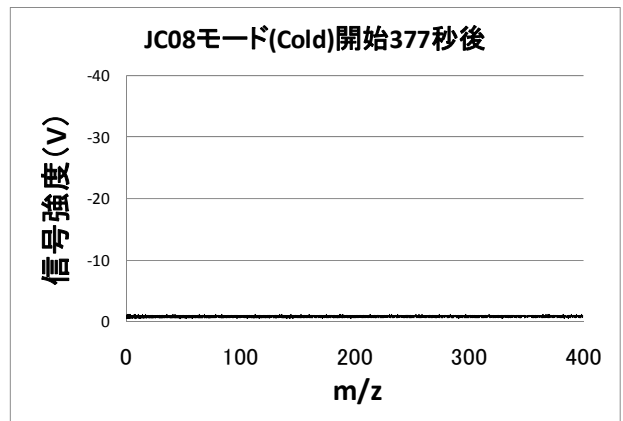
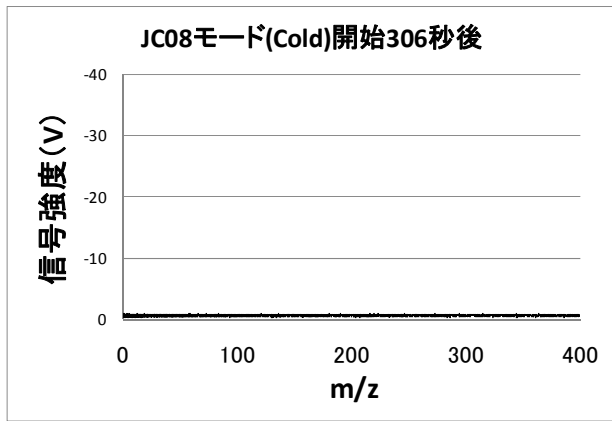


Fig. 4.1.3.26 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08モード_Cold)

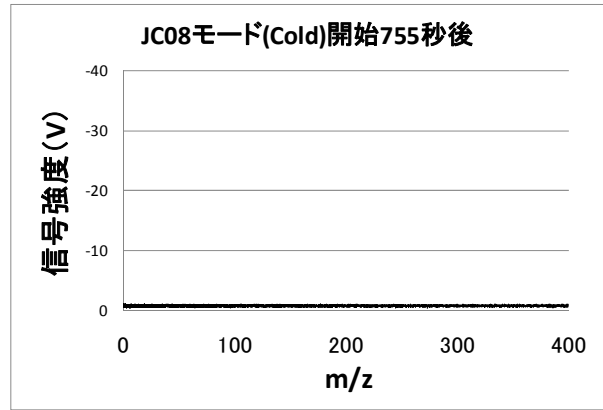
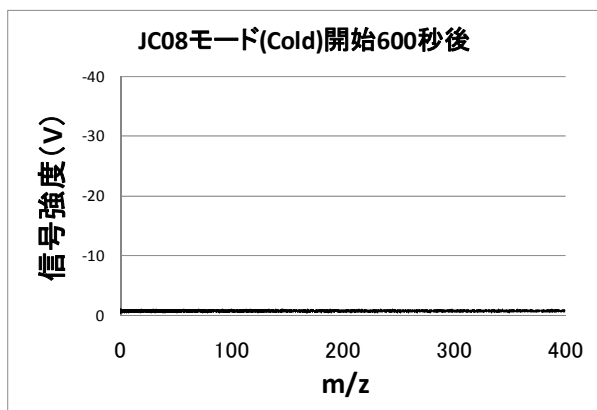
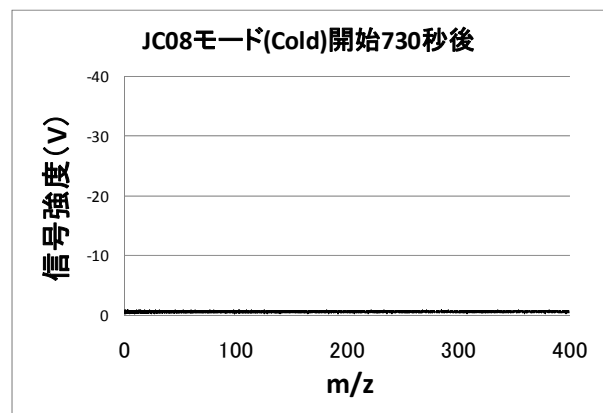
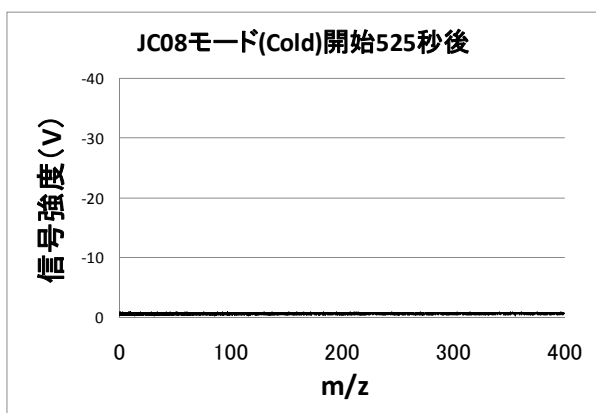
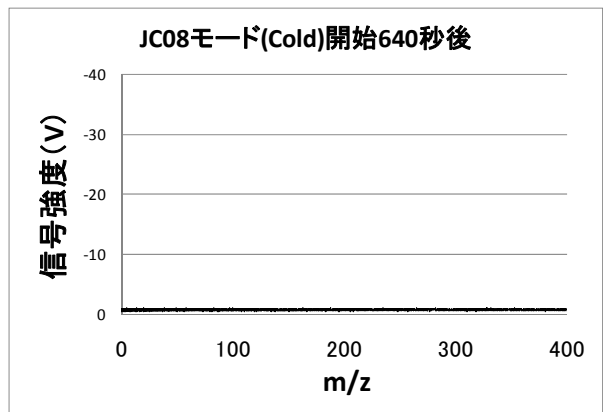
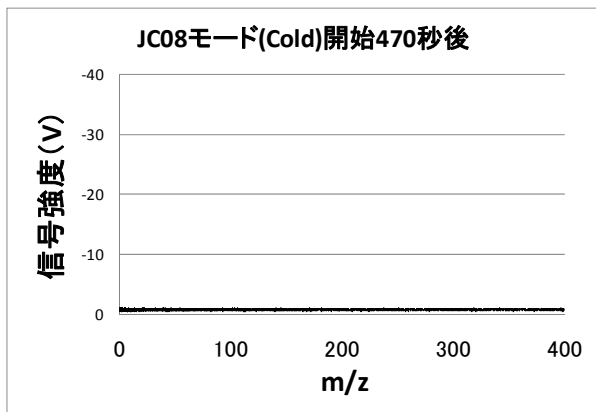


Fig. 4.1.3.27 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08 モード_Cold)

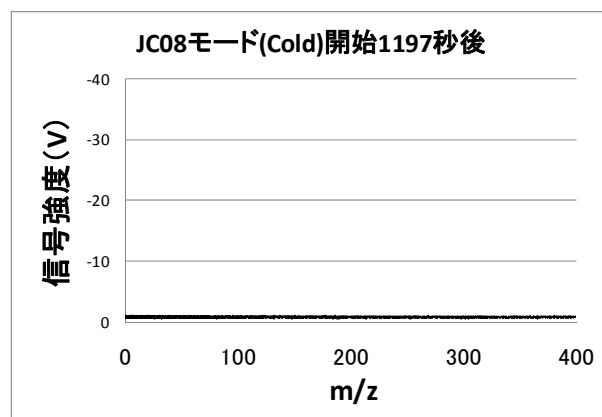
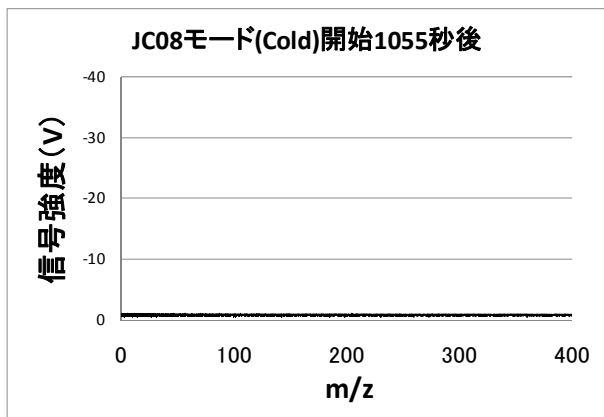
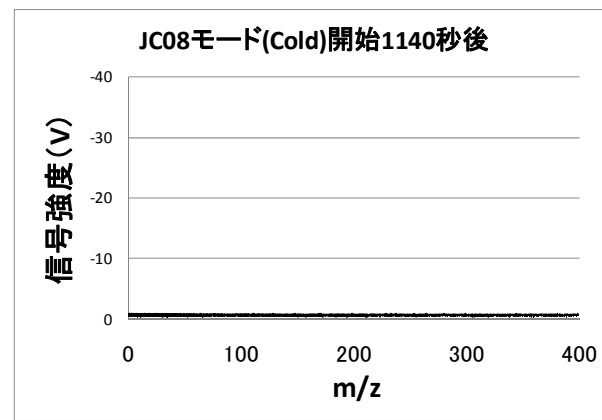
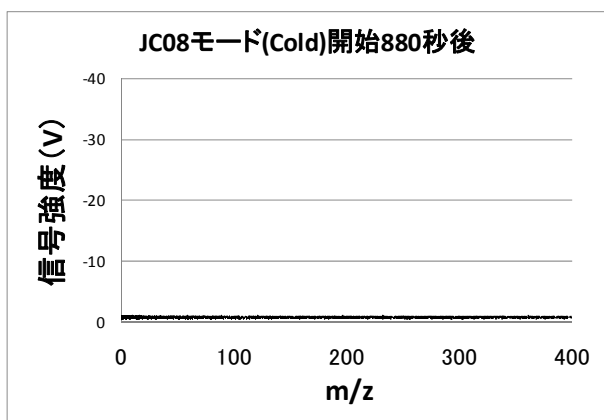
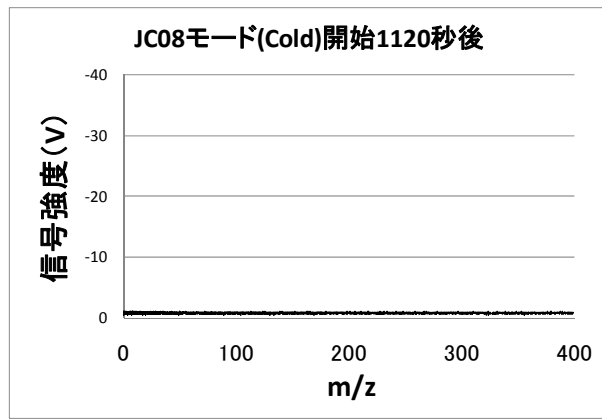
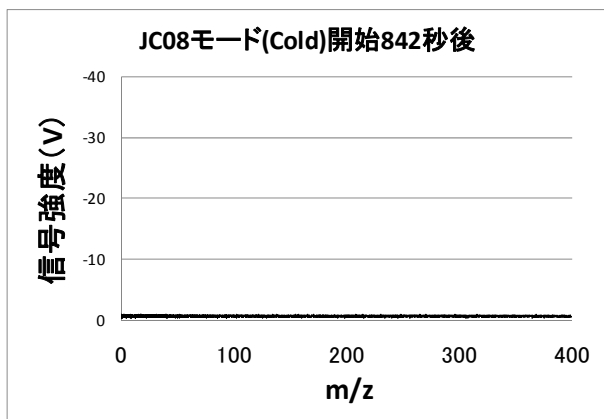


Fig. 4.1.3.28 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08 モード_Cold)

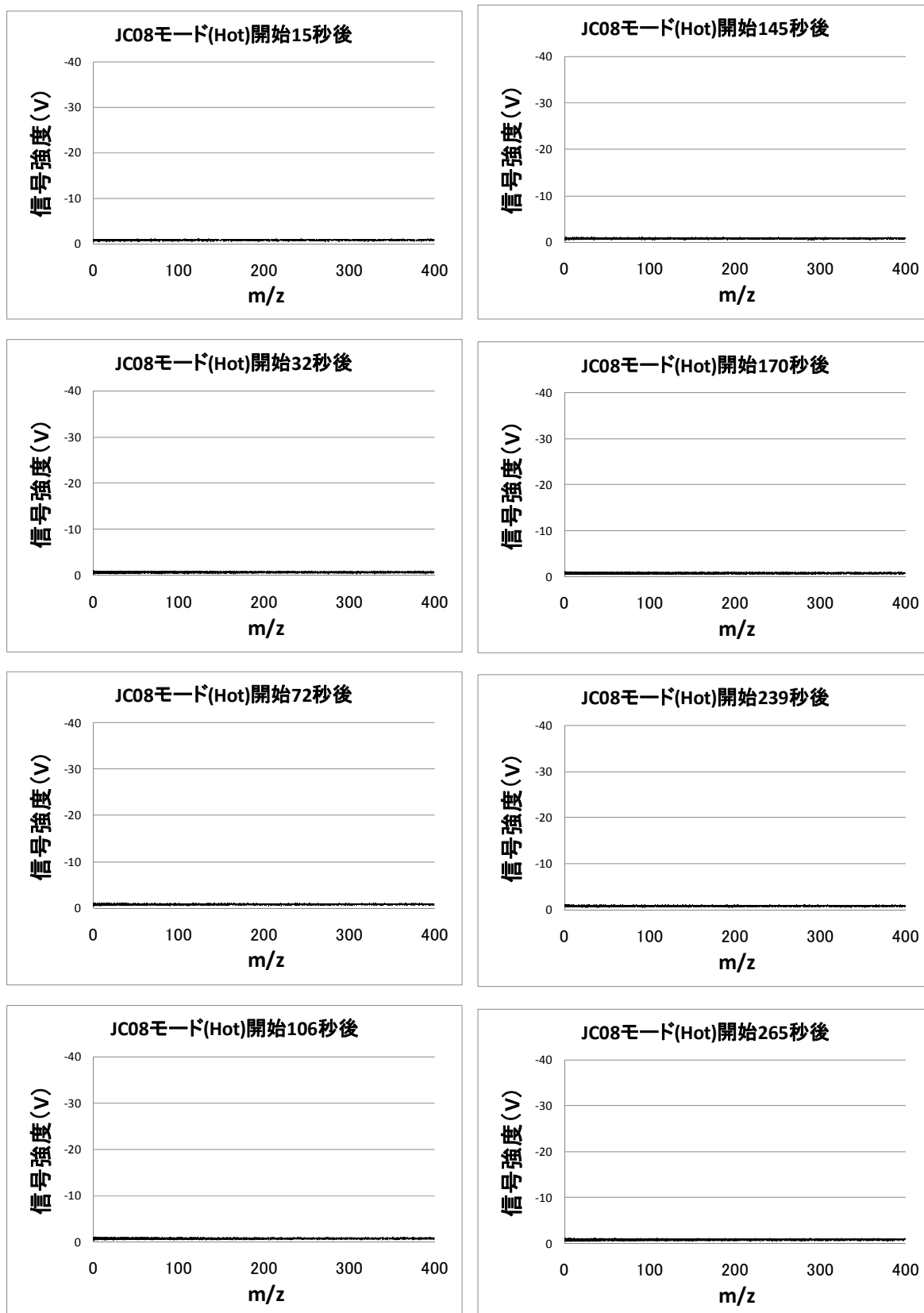


Fig. 4.1.3.29 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル (JC08モード_Hot)

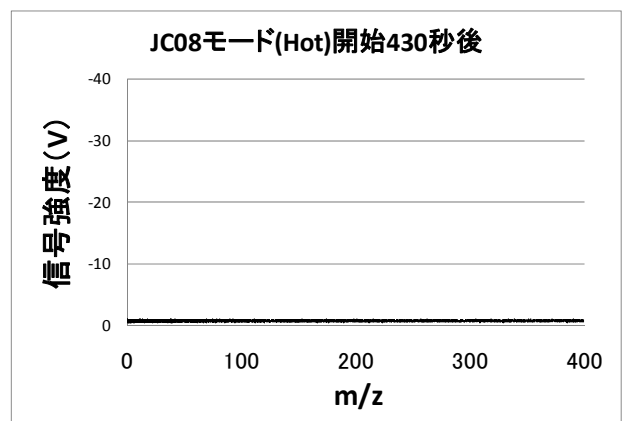
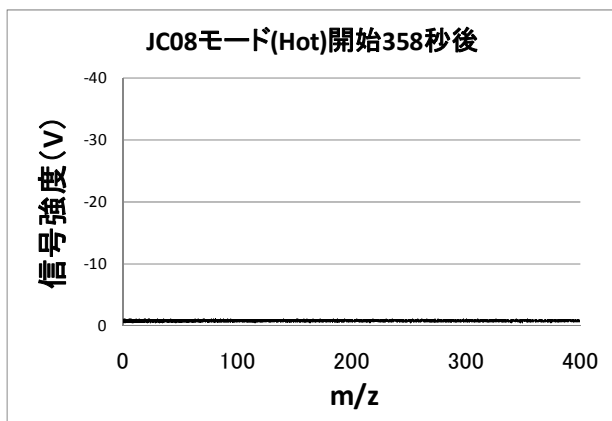
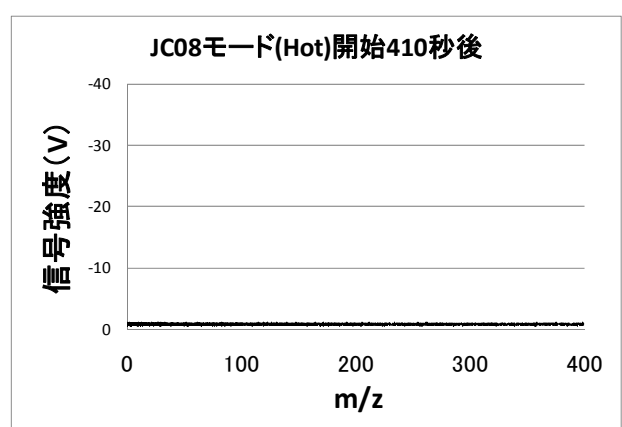
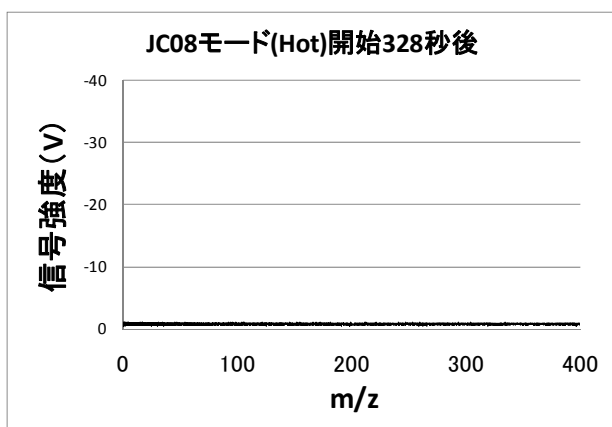
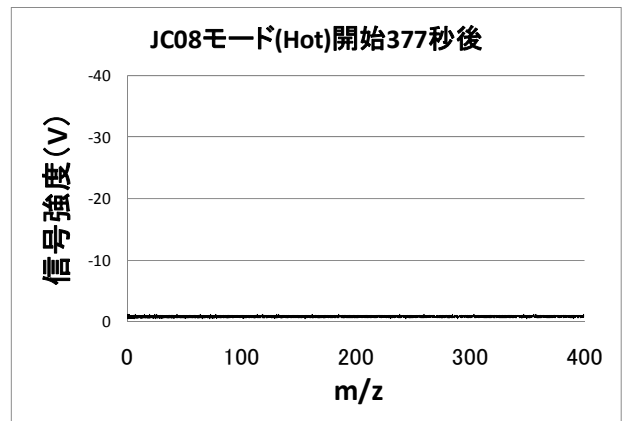
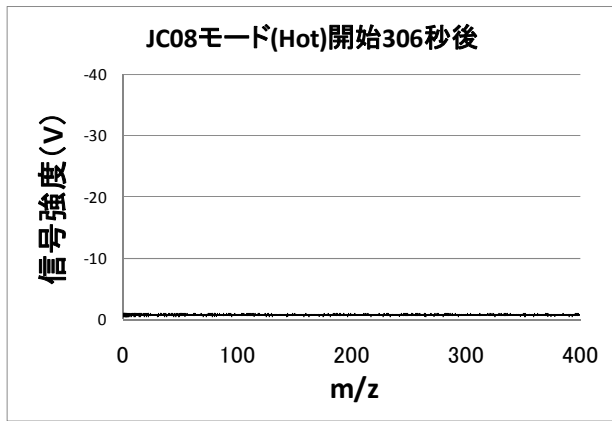


Fig. 4.1.3.30 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08 モード_Hot)

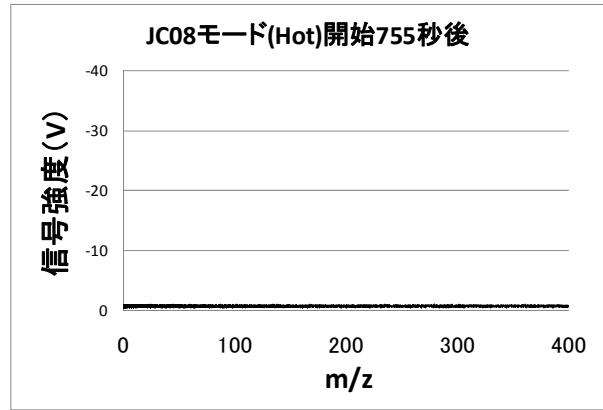
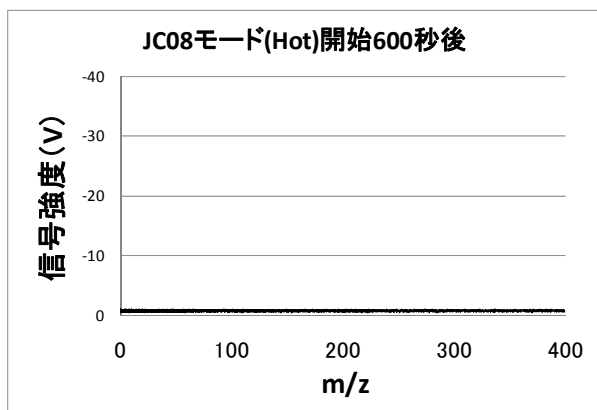
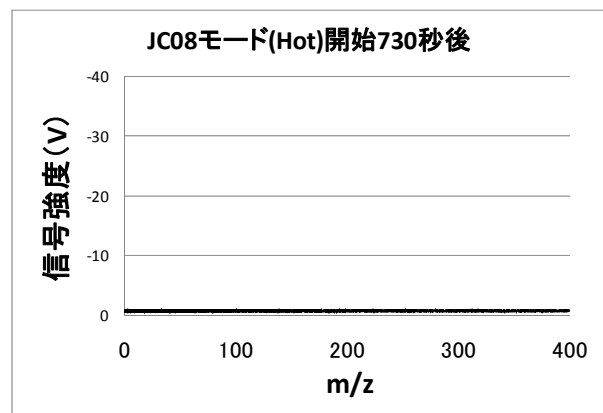
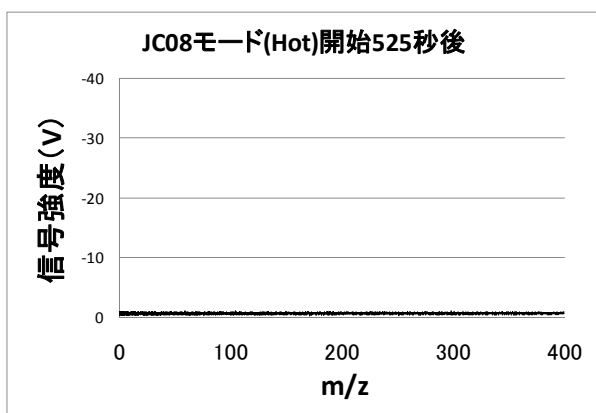
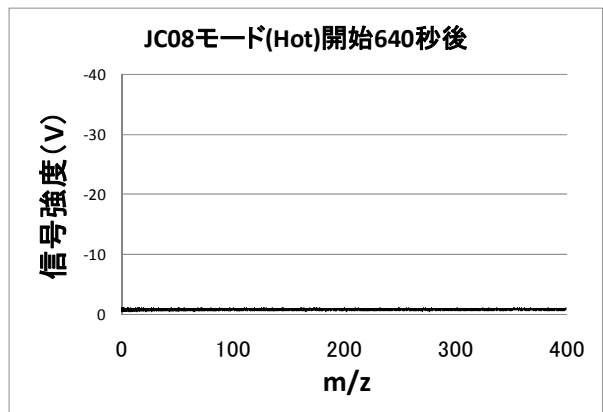
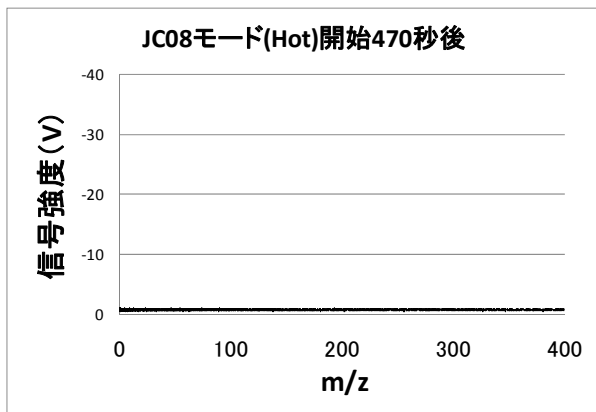


Fig. 4.1.3.31 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル
(JC08 モード_Hot)

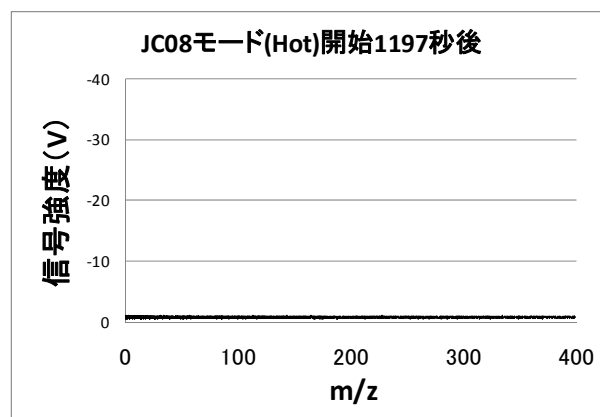
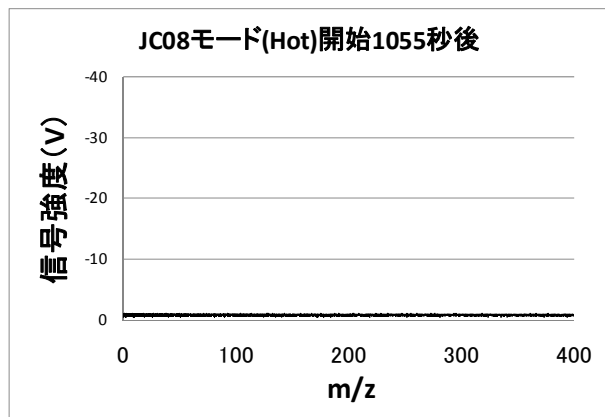
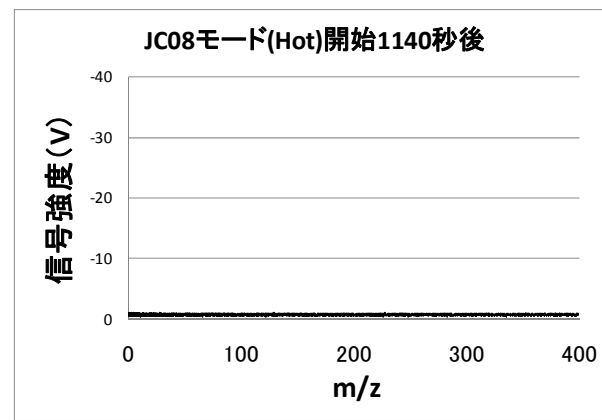
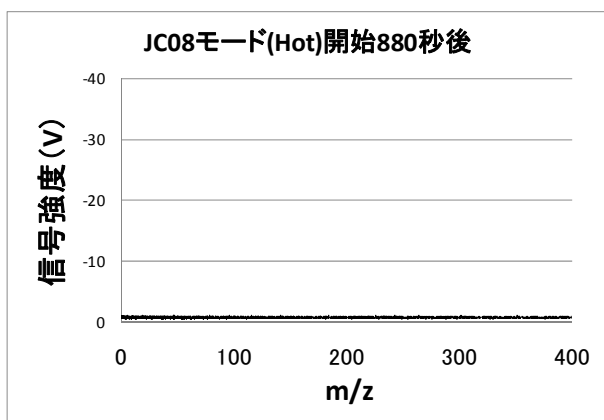
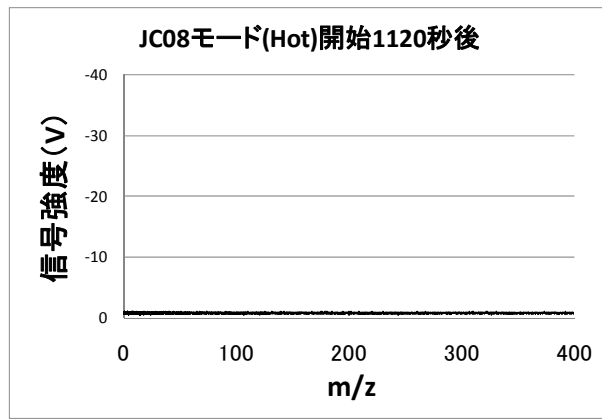
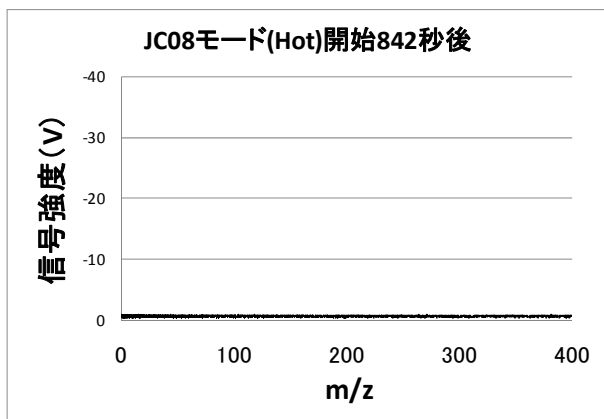


Fig. 4.1.3.32 NEDO 開発車両の直接排出ガスの質量スペクトル (JC08モード_Hot)

4.1.3.3 小括

レーザーイオン化飛行時間型質量分析装置を用いて、NEDO 開発エンジンおよび車両排出ガスの評価を行った。評価試験では、当該エンジン、車両に加え対照となるエンジン・車両についても併せて計測をおこなった。その結果、対照エンジン（長期規制対応）において、減速時に単環～4環の芳香族が検出され、これらの成分の濃度は数～数十 ppb であると推察された。一方で、対照エンジン・車両（新長期規制対応）および NEDO 開発エンジン・車両からは、芳香族炭化水素の信号は観測できず、検出限界以下であった。

よって、NEDO 開発エンジン・車両ともに、新長期規制対応レベルと同等あるいはそれ以下の過渡排出であり、NEDO 開発エンジン・車両は過渡運転時でも特異的な排出増加がないことが明らかになった。

4.2 健康影響評価

4.2.1 緒言

従来、自動車排気の影響は実験動物を用いた曝露試験で評価されてきた。近年では自動車排気低減装置の開発や新燃料の導入が活発化しているため、新しい技術を用いた自動車排気の影響リスクの早期検出あるいは安全性の確認が求められている。しかしながら、複数の技術により構成されたエンジンシステムから排出される排気の安全性を動物実験によって確認するためには、膨大な技術の組み合わせパターンについて網羅的に解析することとなり、莫大な費用、時間、労力が必要とされ、ほとんど不可能である。そこで様々な評価対象物質について効率的に解析する方法として、*in vitro* 試験が挙げられる。*In vitro* 試験は医薬品の研究開発などにおいて広く活用されており、膨大な数の化合物の中から医薬品として有効であり、かつ毒性が低いと予測される化合物を篩い分け(スクリーニング)、開発候補化合物として数化合物に絞り込むための手法であり、時間・費用のかかる動物/人における薬効・毒性評価に進む前段階において不可欠な手法とされている。同様に多種多様の自動車排気の影響を確認するために、*in vitro* 試験を活用し、簡便に迅速に評価できれば非常に有益である。

JARIでは *in vitro* 試験として、1) DNA マイクロアレイ法による遺伝子発現解析、2) 細胞毒性試験、3) 変異原性試験 (エームス試験)、を保有している。エームス試験は変異原性を評価するための試験法であり、長い歴史があり、信頼性も高く、医薬品の開発等においても1次スクリーニング系として今なお活用されている代表的な *in vitro* 試験である。しかしながら、エームス試験は重要な試験法ではあるものの変異原性試験であることから、当然のことながら変異原性以外の悪影響を検出することはできない。*in vitro* 試験は生体の機能を局所的に取り出した実験系であり、個々の試験法のみで包括的に健康影響を評価することはできない。自動車排気の影響に対する関心は肺がんのみに留まらず、気道炎症をはじめとして様々な影響を考慮する必要がある。そのため、JARIではエームス試験のみならず、できる限り多様な試験を取り入れている。細胞毒性試験はエームス試験同様、代表的な *in vitro* 試験であり、多くの有害物質を検出可能である。また、遺伝子発現解析は様々な役割を担う遺伝子の発現を網羅的に解析することが可能であり、より多面的な自動車排気の影響評価が実施可能である。JARIではこれらの3つの *in vitro* 試験を中心に自動車排気の影響評価を進めている。

本研究では、排ガス改善技術の有効性を確認することを目的に、細胞曝露装置 (CULTEX システム) を利用した *in vitro* 試験 (DNA マイクロアレイ法による遺伝子発現解析、細胞毒性試験、変異原性試験)、さらに排気粒子抽出物のエームス試験を実施し、エンジンおよび車両試験の排気の影響を評価した。

4.2.2 細胞曝露試験

4.2.2.1 目的

自動車排気の影響については粒子について注目されており、ディーゼル排気粒子を用いた *in vitro* 研究が広く報告されている。しかしながら、自動車排気の影響として NO₂ や

揮発性有機成分等のガス状成分を無視することはできない。また、人の肺上皮細胞は呼吸により空気に曝されており、ガス状成分の影響を受けやすいことは容易に想像される。そこで、自動車排気の第一標的器官である肺への影響を、ヒト肺上皮細胞株を用いた *in vitro* 試験によりエンジンおよび車両試験の排気の影響を評価することを目的に、細胞曝露装置である CULTEX システムを用い、1) DNA マイクロアレイ法による遺伝子発現解析、2) 細胞毒性試験、を実施した。

4.2.2.2 方法

1) 細胞および培養方法

培養細胞はヒトⅡ型様肺上皮細胞株 A549 (ATCC 株を使用) を用いた。培地は 10% FBS を含む DMEM/F12 培地 (10 µg/ml ゲンタマイシンを含む) を使用し、定期的に 0.25% トリプシン/1 mM EDTA 液 (インビトロジェン社) でフラスコ底面に付着した細胞をはがした後、継代した。

2) CULTEX システムを用いたガス状物質の曝露

CULTEX チャンバー (Vitrocell, ドイツ, **Fig.4.2.2.1**) を用い、細胞へ排気を曝露した。曝露排気の流量は培養細胞曝露装置 (柴田科学) で調整した。

6 穴フォーマットのセルカルチャーインサート (FALCON) のメンブラン上に播種した 3×10^6 個のヒト肺上皮細胞 A549 を CULTEX チャンバーに固定し、メンブランの下部を血清を含まない DMEM/F12 培地に浸した。混合管圧 (CULTEX チャンバー内圧) は 50Pa、試料供給流量を 8.3 SCCM に調整し、ディーゼル排気は JE05×2 回、ガソリン車排気は JC08×2 回を曝露した。また、ガソリン車については、Cold start+JC08×1 回の曝露も実施した。曝露時の主要排出ガス濃度を表 4.2.2.1 に示す。曝露終了後、セルカルチャーインサートを 6 穴セルカルチャープレートに移し、セルカルチャーインサート内に 2ml の 10% FBS を含む DMEM/F12 培地を加え、37°C の CO₂ インキュベーター内に静置した。



Fig.4.2.2.1 CULTEX チャンバー

表 4.2.2.1 培養細胞曝露試験時の希釈排出ガス濃度

エンジン試験

	CULTEX 試験項目	CO (ppm)	CO2 (%)	THC (ppmC)	NOx (ppm)	NO (ppm)	NO2 (ppm)	PM (mg/m3)
希釈空気 対照エンジン(長期)	遺伝子解析	0.39	0.04	2.27	0.02	0.00	0.02	0.00
	遺伝子解析	11.27	0.33	4.76	19.12	15.81	3.31	1.38
	細胞毒性	11.45	0.33	4.83	19.11	15.83	3.29	1.39
希釈空気 対照エンジン(新長期)	遺伝子解析	0.07	0.04	2.20	0.01	0.00	0.01	0.00
	遺伝子解析	0.34	0.34	2.02	4.68	2.78	1.91	0.25
	細胞毒性	0.31	0.34	1.99	4.83	3.16	1.68	0.19
希釈空気 NEDOエンジン	遺伝子解析	0.66	0.04	2.46	0.06	0.00	0.06	0.00
	遺伝子解析	0.69	0.35	2.44	1.09	0.10	0.99	0.00
	細胞毒性	0.69	0.35	2.41	0.74	0.09	0.65	0.01

車両試験

	CULTEX 試験項目	CO (ppm)	CO2 (%)	THC (ppmC)	NOx (ppm)	NO (ppm)	NO2 (ppm)	PM (mg/m3)
対照車両	希釈空気	0.31	0.07	2.80	0.05	0.04	0.02	0.00
	JC08H	0.00	0.70	3.76	2.86	2.21	0.65	0.00
	JC08H	0.00	0.70	3.72	2.37	1.85	0.52	0.00
	希釈空気	0.29	0.06	2.84	0.17	0.16	0.01	0.00
	JC08C	0.61	0.75	4.18	8.68	7.18	1.50	0.09
	JC08C	0.76	0.74	4.12	8.47	7.00	1.47	0.03
NEDO車両	希釈空気	0.21	0.07	2.58	0.01	0.01	0.00	0.00
	JC08H	0.00	0.35	7.51	0.07	0.04	0.03	0.00
	JC08H	0.00	0.35	7.20	0.04	0.03	0.01	0.00
	希釈空気	0.46	0.06	2.84	0.05	0.05	0.00	0.00
	JC08C	4.79	0.40	14.04	0.15	0.12	0.03	0.01
	JC08C	6.88	0.40	14.71	0.11	0.09	0.02	0.00

3) DNA マイクロアレイ法 – 遺伝子抽出～ハイブリダイゼーション～洗浄～画像読取 –

4 時間処置後、細胞を回収し、RNeasy Mini Kit (キアゲン社) を用いて、total RNA を抽出した。抽出した total RNA は、260 nm と 280 nm の吸光度を測定することにより濃度を求め、マイクロチップ型電気泳動装置 (アジレントテクノロジーズ社) を用いて品質を確認した。

0.8 µg の total RNA を Agilent Low RNA Input Fluorescent Linear Amplification Kit を用いて、cDNA とした後、Cyanine3 (Cy3) -標識 cRNA を合成した。不要な cDNA や cRNA に取り込まれなかった蛍光色素を RNeasy Mini Kit を用いて除去し、解析に使用する標識 cRNA とした。

Cy3-標識 cRNA をハイブリダイゼーション溶液とし、Whole Human Genome オリゴ DNA マイクロアレイとガスケットスライド (アジレントテクノロジーズ社) の間に封入し、マイクロアレイハイブリダイゼーションチャンバー (アジレントテクノロジーズ社) 内に装着し、ハイブリダイゼーション用恒温装置 (UVP 社) でインキュベートした。17 時間後、ハイブリダイゼーションチャンバーからオリゴ DNA マイクロアレイを取り出し、洗浄した。

洗浄した Whole Human Genome オリゴ DNA マイクロアレイは DNA マイクロアレイスキャナ (アジレントテクノロジーズ社) および Agilent Scan Control ソフト (アジレントテクノロジーズ社) を用いて画像化した。得られた画像から Feature Extraction ver.9.5 (アジレントテクノロジーズ社) を用いて、蛍光強度を数値化した。遺伝子発現の評価は GeneSpringGX ver.10.1 (アジレントテクノロジーズ社) を用いて行った。

4) DNA マイクロアレイ法による個別の遺伝子発現解析

ディーゼル排気およびディーゼル排気粒子により変動することが知られている代表的な遺伝子について任意に抽出し、各物質による発現の強度を示した。抽出した遺伝子を表 4.2.2.2 に示す。抽出した理由は以下に示す。

チトクローム P450 (CYP) は薬物代謝酵素であり、CYP1A1、CYP 1A2、CYP1B1 は多環芳香族炭化水素 (PAH) により発現が亢進することが知られており、ディーゼル排気曝露や粒子の処置により発現が誘導される。これらの酵素による代謝産物は発がん性を示すことが知られており、発がんに係わる遺伝子としても注目する必要がある。

ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) は酸化ストレスにより誘導されることが知られている。ディーゼル排気曝露および粒子の処置により誘導されることがよく知られており、酸化ストレスマーカーとして解析されている。また、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) は、生体内において異物をグルタチオンに結合させる作用を持つ Phase II 解毒酵素の一つである。酸化ストレスおよび NO ストレスに対する細胞応答の過程で起きるタンパク質の S-グルタチオニル化反応において中心的な役割を果たしている。また、近年、GST 自体がレドックス制御を受けること、細胞内 GST が酸化ストレスに反応して核内に移行すること、GST の核内移行を阻害すると酸化ストレスによるアポトーシスが增加することが報告され、細胞内レドックス制御に重要な役割を果たしていることが示唆されている。

マトリックス分解酵素 (MMP) は、細胞外マトリックスを分解する酵素であり、生理学的及び病的な組織破壊に重要な役割を果たしている。細胞外マトリックスの IV 型コラーゲンやラミニンを分解する MMP-2 および MMP-9 は炎症反応や癌の浸潤に関連することが知られている。

エピジェネティクスは、クロマチンへの後天的な修飾により遺伝子発現が制御されることに起因する遺伝学あるいは分子生物学の研究領域であり、DNA メチル化とヒストンの化学修飾による遺伝子発現変化が知られている。DNA のメチル化により、がん抑制遺伝子の

発現が抑えられることが指摘されており、近年では突然変異と並ぶ、重要な発がん機構として認知されている。また、ヒストンアセチル化および脱アセチル化による転写制御が炎症に重要であることも知られている。

また、大気およびディーゼル排気の影響の一つとして炎症反応が重要である。それらの刺激により、肺上皮細胞において発現が亢進することが指摘されている炎症性サイトカイン、好酸球遊走活性を持つケモカインおよび接着分子を選出した。

Fig. 4.2.2.3 において遺伝子発現が 1 以上の発現が亢進した遺伝子をオレンジ色で示し、-1 以下の発現が抑制した遺伝子を水色で示した。

表 4.2.2.2 発現の変動が予想される遺伝子

遺伝子種		略称	
代謝酵素 (化学物質応答)	PAH	チトクローム P450 1A1	CYP1A1
		チトクローム P450 1A2	CYP1A2
		チトクローム P450 1B1	CYP1B1
酸化ストレス応答	ヘムオキシゲナーゼ-1	HO-1	
	グルタチオン S トランスフ ェラーゼ M1	GSTM1	
	グルタチオン S トランスフ ェラーゼ P1	GSTP1	
マトリックス分解酵素	マトリックスポロテイナー ゼ 2	MMP2	
	マトリックスポロテイナー ゼ 9	MMP9	
エピジェネティクス	DNA メチル化	DNA メチル化酵素 1	DNMT1
		DNA メチル化酵素 3A	DNMT3A
		DNA メチル化酵素 3B	DNMT3B
	ヒストン脱アセチル 化酵素	ヒストン脱アセチル化酵 素 2	HDAC2
		ヒストン脱アセチル化酵 素 5	HDAC5
		ヒストン脱アセチル化酵 素 8	HDAC8
ヒストンアセチル基 転移酵素	ヒストンアセチルトラン スフェラーゼ 1	HAT1	
炎症反応	シクロオキシゲナーゼ 2	PTGS2	
	サイトカイン	腫瘍壊死因子 α	TNF
		インターロイキン 1 β	IL1 β
		インターロイキン 6	IL6
		インターロイキン 6 受容体	IL6R
		インターロイキン 8	IL8
	ケモカイン	EOTAXIN1	CCL11
		EOTAXIN2	CCL24
細胞間接着分子 1	ICAM1		

5) DNA マイクロアレイ法による遺伝子群の発現変動の解析

個別の遺伝子発現を解析する一方で、解析可能な全遺伝子、特定の機能／疾患に関連する遺伝子群の発現変動を解析することを目的に、遺伝子群の発現の標準偏差、亢進/抑制した遺伝子数を比較した。解析した遺伝子群とその理由を表 4.2.2.3 に示す。

表 4.2.2.3 選択した項目 (JARI 分類) とその理由

遺伝子群	Keyword	解析理由
全遺伝子		予想していない遺伝子発現変動を検証可能にするため
化学物質曝露	P450	自動車排気粒子に含まれている化学成分により、P450 関連の酵素が活性化することが知られている
抗酸化酵素	GST, SOD, HO	自動車排気粒子の酸化ストレスに防御的に産生される酵素
癌関連	Cancer, Carcino*, Tumor	自動車排気の影響の一つとして癌に着目
炎症関連	Interleukin , Chemokine	自動車排気の影響の一つとして炎症に着目

6) 細胞毒性試験

本項 2) で処置した細胞について、以下の手順で細胞生存率を評価した。

- ・細胞株 ヒト肺上皮細胞 A549
- ↓
- ・細胞調整 5.56×10^4 cells/ml
- ↓
- ・播種液量 90 μ l/well (0.5×10^4 cells/well) 96 穴プレート
- ↓
- ・培養 24 時間
- ↓
- ・最終細胞濃度 1.0×10^4 cells/ml
- ↓
- ・処置 100 倍希釈した被験物質を添加(1 濃度当たり 3well) DMSO 最終濃度 0.1%
- ↓
- ・処置時間 48 時間
- ↓
- ・試薬処理 細胞計数試薬 WST-8 を 1well あたり 10 μ l 添加
- ↓
- ・反応時間 1 時間静置
- ↓
- ・吸光度測定 450nm で測定し、細胞生存率を評価
- ↓
- ・評価法 細胞生存率を 50%に抑える濃度(IC50)により細胞毒性を評価

4.2.2.3 結果

1) DNA マイクロアレイ – エンジン試験 –

(1) 個々の遺伝子の発現比較

対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）および NEDO エンジン排気の人肺上皮細胞 A549 への曝露が遺伝子発現に及ぼす影響を **Fig.4.2.2.2** に示す。PAH により発現が亢進することが知られている CYP1A1 を化学物質曝露マーカーとして、HO-1 を酸化ストレスマーカーとして、炎症マーカーとして IL-1 β にとくに着目した。CYP1A1 はいずれの排気でも抑制傾向が示された。HO-1 はいずれの排気でも発現が亢進したが、NEDO エンジンが他の 2 つのエンジン排気よりも強い作用を示した。IL-1 β はいずれの排気でも発現が亢進したが、NEDO エンジン、対照エンジン（新長期）、対照エンジン（長期）の順番で作用が弱かった。

その他の注目される遺伝子について **Fig.4.2.2.3** に示す。CYP1A2、CYP1B1 も CYP1A1 同様に発現の抑制傾向が認められた。MMP、GST、DNMT は排気による発現変動の違いはほとんど認められなかった。抗炎症作用に関連する HDAC5 遺伝子は対照エンジン（長期）で発現が強く亢進したが、対照エンジン（新長期）、NEDO エンジンでは同様の発現亢進作用は認められなかった。炎症関連遺伝子については、対照エンジン（新長期）、NEDO エンジンに比較し、対照エンジン（長期）による遺伝子発現の亢進作用が強かった。CCL11 と 24 については対照エンジン（新長期）による発現亢進作用が目立ったが、CCL11 については値のバラツキが大きかった。

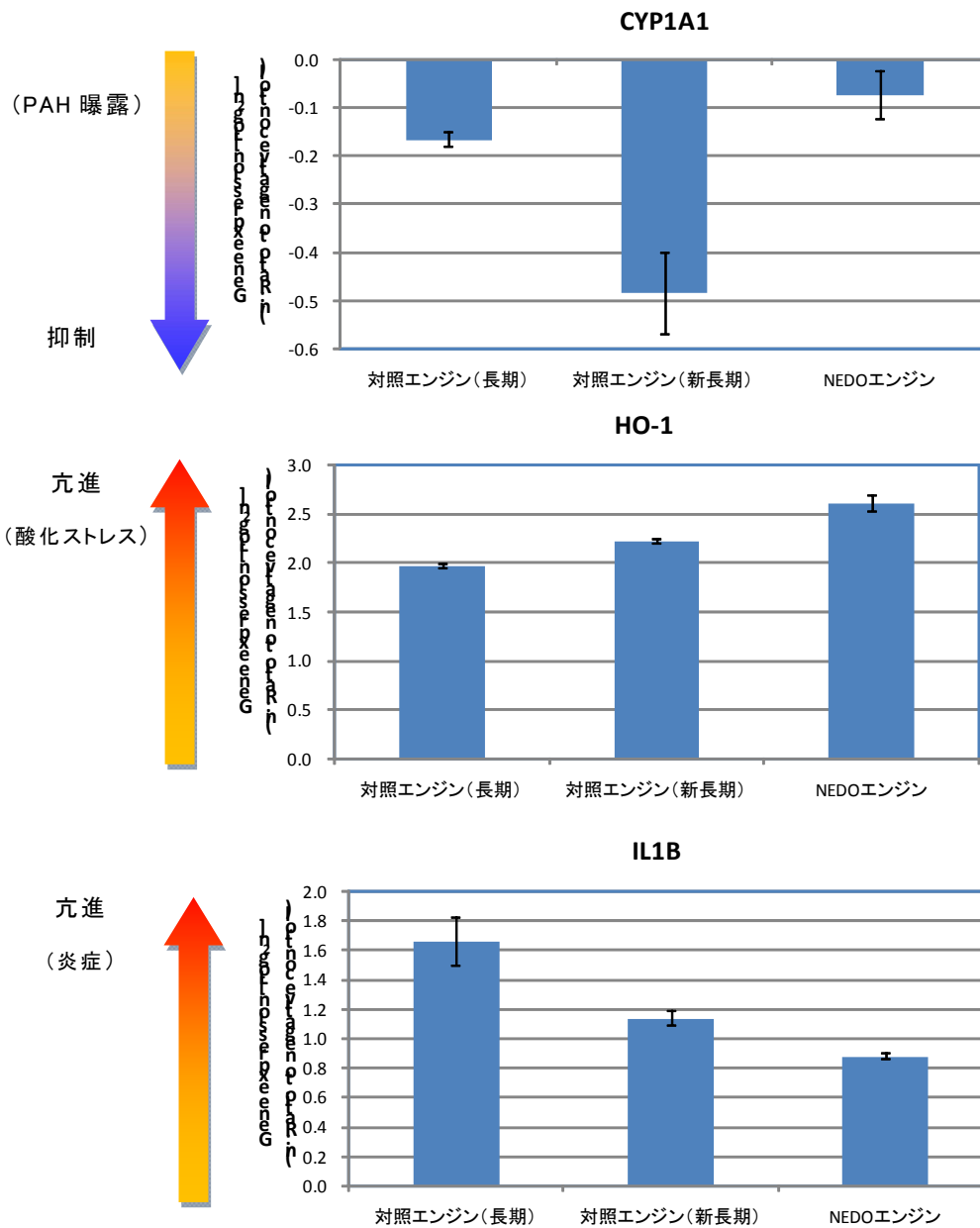


Fig.4.2.2.2 対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）および NEDO エンジン排気のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が CYP1A1、HO-1 および IL-1 β 遺伝子発現に及ぼす影響

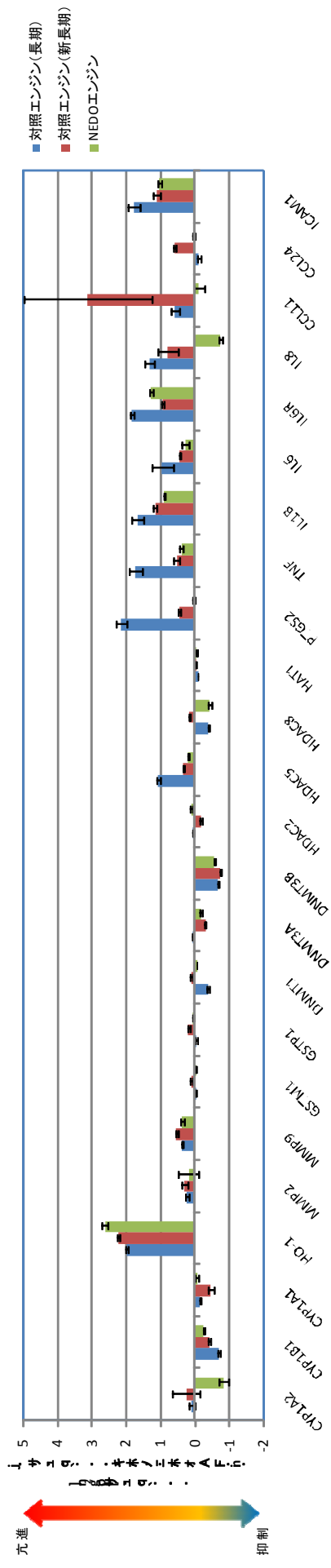


Fig.4.2.2.3 対照エンジン(長期), 対照エンジン(新長期)および NEDO エンジン排気の人肺上皮細胞 A549 への曝露が遺伝子発現に及ぼす影響

(2) 全遺伝子の発現変動比較

対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）および NEDO エンジン排気へのヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が全遺伝子の発現変動に及ぼす影響を Fig.4.2.2.4 に示す。各排気曝露による全遺伝子の発現変動として、①全遺伝子発現の標準偏差、②2 倍以上発現が亢進した遺伝子数、③0.5 倍以下発現が抑制した遺伝子数、に着目した。

①標準偏差の比較では、対照エンジン（新長期）の変動が他よりわずかに大きい傾向であったが、ほとんど差はなかった。②発現亢進遺伝子数の比較では、対照エンジン（長期）に比べ、対照エンジン（新長期）の方が亢進遺伝子数は少なく、さらに NEDO エンジンでは対照エンジン（長期）の 5 分の 1 以下であった。③発現抑制遺伝子数の比較では、対照エンジン（長期）に比べ、対照エンジン（新長期）の方が明らかに抑制遺伝子数は少なく、さらに NEDO エンジンでも対照エンジン（長期）より明らかに抑制遺伝子数が少なかった。

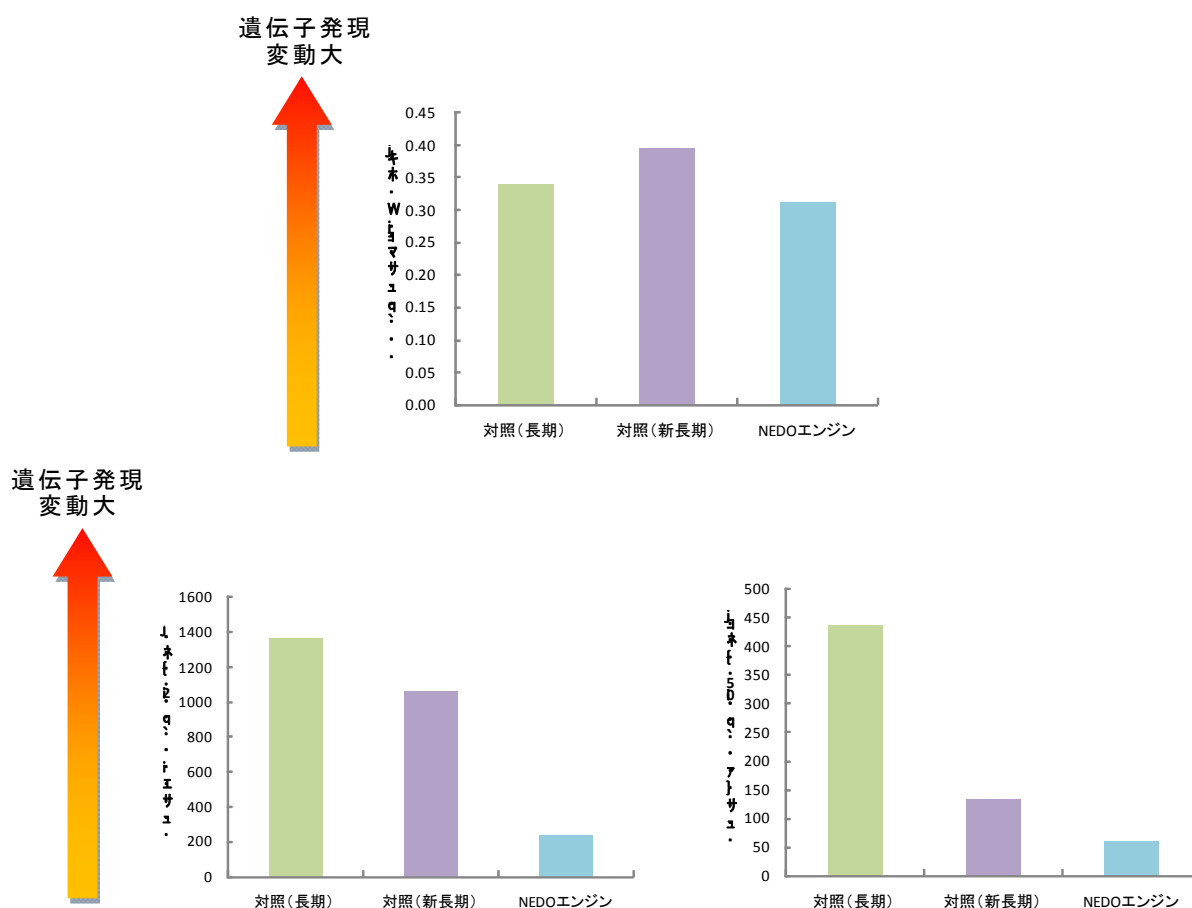


Fig.4.2.2.4 対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）および NEDO エンジン排気へのヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が全遺伝子の発現変動に及ぼす影響

(3) 特定遺伝子群の発現変動比較

対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）および NEDO エンジン排気へのヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が特定の遺伝子群の発現変動に及ぼす影響を Fig.4.2.2.5 に示す。薬物代謝酵素、抗酸化酵素、炎症関連、発癌関連の各遺伝子群の発現変動として標準偏差を指標にそれぞれの排気の影響を比較した。

薬物代謝酵素については、対照エンジン（新長期）の変動が他の 2 条件よりも大きかった。抗酸化酵素についてはいずれの排気でもほとんど差は認められなかった。炎症関連については、対照エンジン（長期）の発現変動が他の 2 条件よりも大きかった。発癌関連については、対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）、NEDO エンジンの順で変動が大きかった。

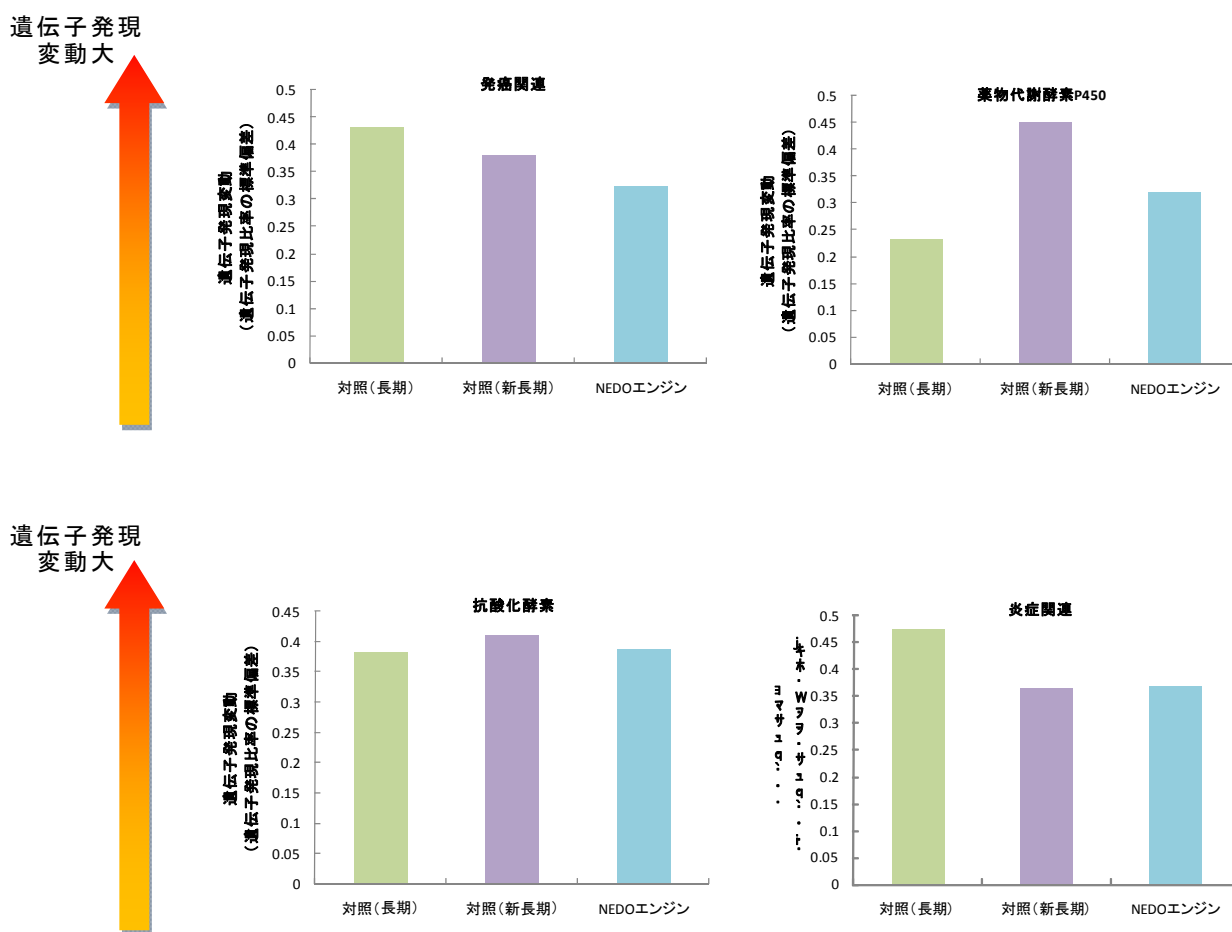


Fig.4.2.2.5 対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）および NEDO エンジン排気へのヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が特定の遺伝子群の発現変動に及ぼす影響

2) DNA マイクロアレイ – 車両試験 –

(1) 個々の遺伝子の発現比較

対照車両および NEDO 車両の Cold および Hot スタート排気のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が遺伝子発現に及ぼす影響を **Fig.4.2.2.6** に示す。CYP1A1 遺伝子はいずれの排気でもほとんど亢進作用を示さず、両車両の Hot スタート排気で抑制する傾向が認められた。HO-1 遺伝子はいずれの車両とも Cold よりも Hot スタート排気で強く発現が亢進し、対照車両と比較し、NEDO 車両排気では発現の亢進作用は弱かった。IL-1 β 遺伝子は発現亢進がほとんど認められず、NEDO 車両では抑制作用が強かった。

その他の遺伝子については車両および Hot/Cold の違いに伴う発現変動はほとんど認められな

かった。PTGS2 および IL-8 といった炎症に関連する遺伝子がいずれの条件でも抑制傾向を示すことが特徴的であった。

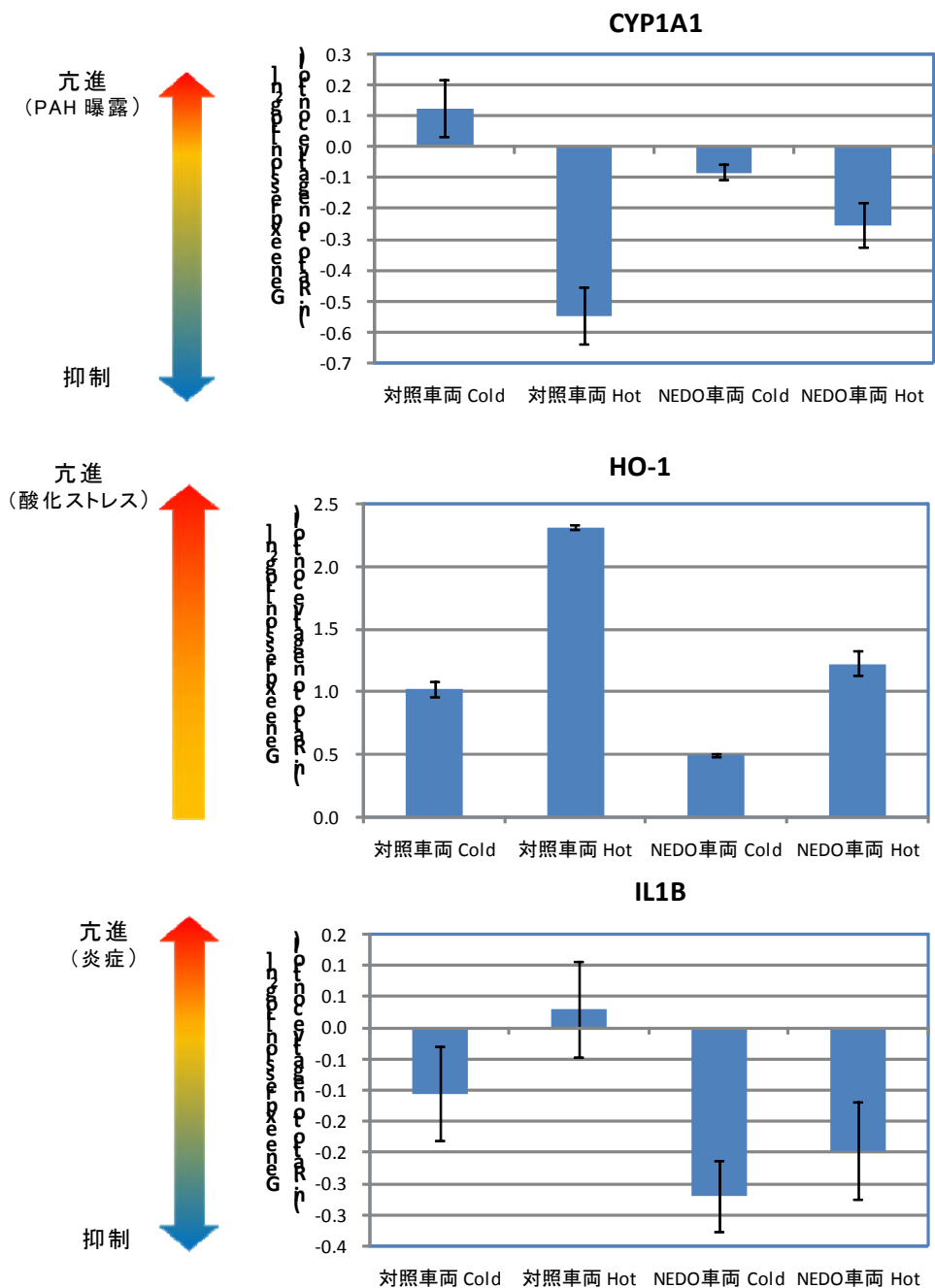


Fig.4.2.2.6 対照エンジン（長期）、対照エンジン（新長期）およびNEDOエンジン排気のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が CYP1A1、HO-1 および IL-1 β 遺伝子発現に及ぼす影響

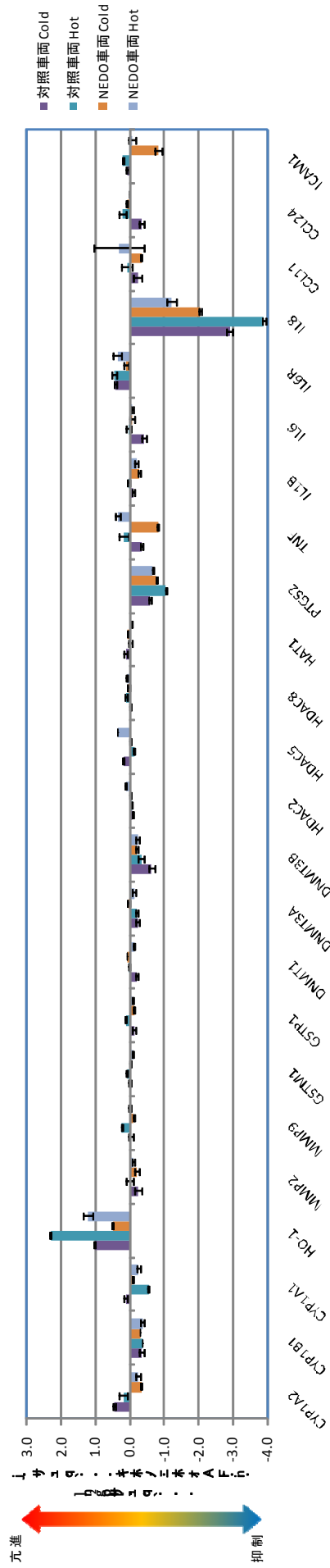


Fig. 4.2.2.7 対照車両および NEDO 車両排気へのヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が遺伝子発現に及ぼす影響

(2) 全遺伝子の発現変動比較

対照車両およびNEDO車両のColdおよびHotスタート排気のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が全遺伝子発現変動に及ぼす影響を Fig.4.2.2.8 に示す。エンジン排気の比較同様、①標準偏差、②亢進遺伝子数、③抑制遺伝子数、を指標に各車両排気の影響を比較した。

①標準偏差の比較では、対照車両よりもNEDO車両による変動が、Hot/Cold いずれにおいても小さかった。②発現亢進遺伝子数の比較では、対照車両に比べ、NEDO車両ではHot/Cold いずれにおいても明らかに亢進遺伝子数が少なかった。③発現抑制遺伝子数の比較についても亢進遺伝子数の比較同様、NEDO車両において発現抑制遺伝子が少なかった。

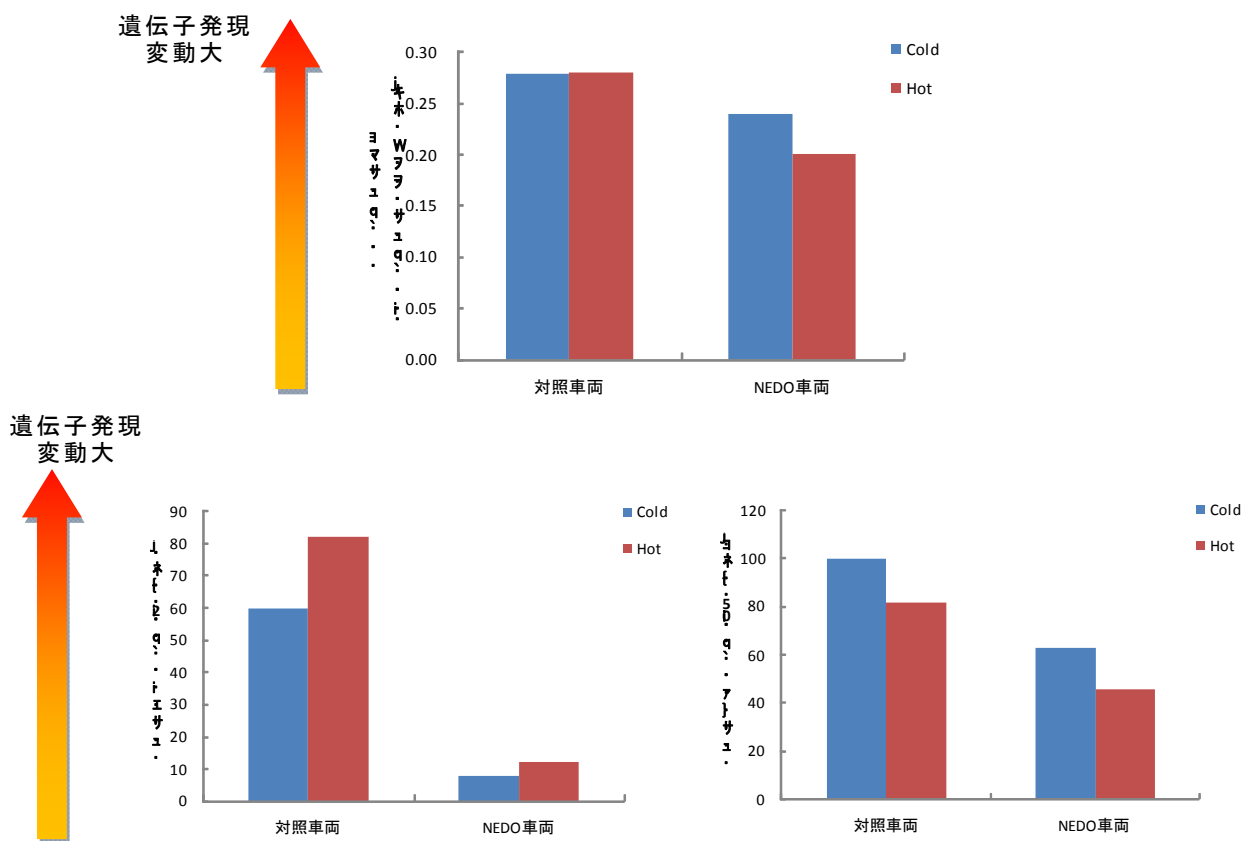


Fig.4.2.2.8 対照車両およびNEDO車両排気のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が全遺伝子の発現変動に及ぼす影響

(3) 特定遺伝子群の発現変動比較

対照車両および NEDO 車両のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が特定の遺伝子群の発現変動に及ぼす影響を Fig.4.2.2.9 に示す。

薬物代謝酵素については、対照車両と比較し、NEDO 車両において Hot/Cold いずれも変動が小さかった。抗酸化酵素についても同様だった。それぞれの車両排気では Cold よりも Hot において変動が大きかった。炎症関連についても対照車両よりも NEDO 車両の方が発現変動が小さかった。発癌関連については、抗酸化酵素と似た変化が認められた。

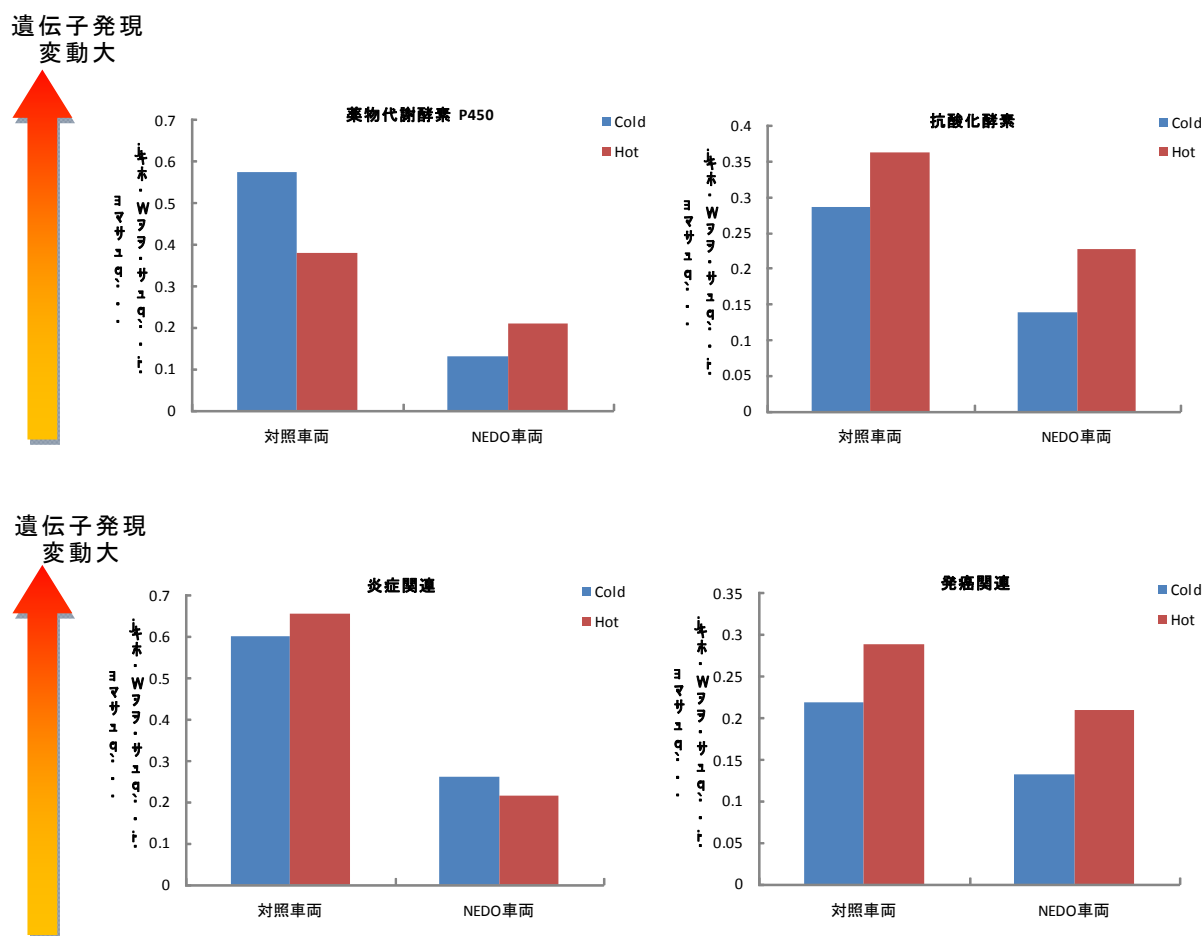


Fig.4.2.2.9 対照車両および NEDO 車両排気のヒト肺上皮細胞 A549 への曝露が特定の遺伝子群の発現変動に及ぼす影響

3) 細胞毒性試験

排気曝露がヒト肺上皮細胞 A549 の細胞生存率に及ぼす影響を **Fig.4.2.2.10** に示す。いずれのエンジンおよび車両排気の曝露においても細胞生存率の明らかに抑制作用(50%以上)は認められなかった。

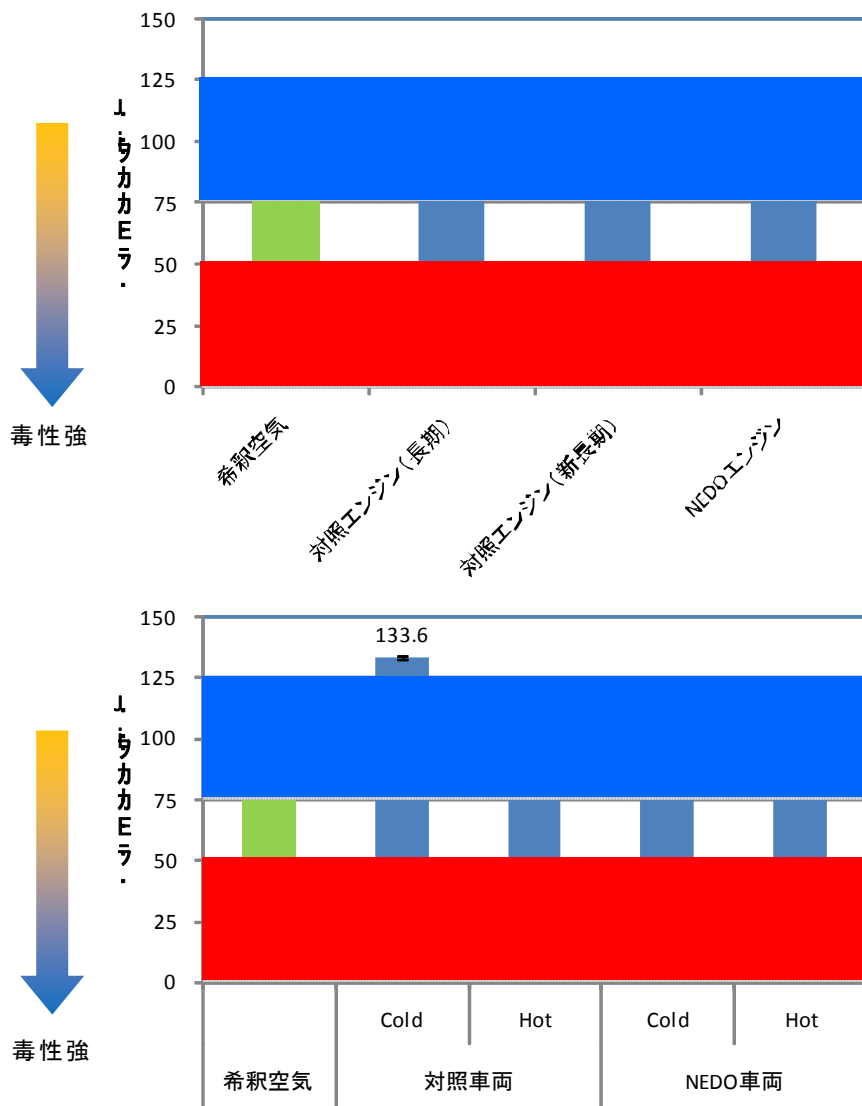


Fig.4.2.2.10 排気曝露がヒト肺上皮細胞 A549 の細胞生存率に及ぼす影響
(上：エンジン試験、下：車両試験)

4.2.2.4 考察

ディーゼル排気をはじめとする自動車排気の影響に関する研究はこれまで数多く報告されているが、その有害性については主に粒子が注目されている。ディーゼル排気粒子には PAH 等の化学成分が多く含まれていることは広く知られており、それらの変異原性は明らかになっている。またディーゼル排気粒子が酸化ストレスを誘導することについても *in vivo* または *in vitro* 試験により、近年数多く報告されている。さらに 1990 年以降、PM2.5 による心血管系影響に世界中の関心が注がれ、2005 年以降、米国 PM2.5 国家大気質基準、WHO の PM2.5 のガイドラインが相次いで設定されている。日本の環境省も日本の PM2.5 の環境基準を設定する方向で 2009 年現在検討を進めている。ディーゼル排気粒子は粒径 100 nm 程度を中心とした粒子であり、PM2.5 の主要な構成要素と見なされている。このように微小粒子状物質としてのディーゼル排気粒子の影響が世間の注目を集め、多くの研究によりその影響が明らかにされている一方で、NO₂ や揮発性有機成分等のガス状成分を無視することもできない。人の肺上皮細胞は呼吸により空気に曝されており、粒子状物質のみならずガス状成分の影響を受けやすいことは容易に想像される。しかしながら、これまで粒子状物質の健康影響評価が注目されてきたのは、粒子を扱う実験の方がガス状成分を対象とした健康影響評価に比較して技術的に取り組みやすいことが大きな理由の一つと考えられ、必ずしもガス状成分が粒子成分よりも有害性が低いとは限らない。ガス状成分を含めた自動車排気の影響評価は重要である。ただし、多種多様な排気改善技術の効果を *in vivo* 試験で確認するには多大な時間及び費用がかかり、現実的ではない。そこで、自動車排気の第一標的器官である肺への影響を、ヒト肺上皮細胞株を用いた *in vitro* 試験によりエンジンおよび車両試験の排気の影響を評価し、新技術の改善効果を検証することを目的に、これまで JARI で導入した細胞曝露装置である CULTEX システムを用い、1) DNA マイクロアレイ法による遺伝子発現解析、2) 細胞毒性試験、を実施した。

1) DNA マイクロアレイ –エンジン試験–

エンジン試験では、排気曝露がヒト肺上皮細胞 A549 の遺伝子発現にどのような影響を及ぼすか検討した。

まず、自動車排気には PAH が多く含まれていることから PAH により発現が亢進することが知られている薬物代謝酵素である CYP1A1 遺伝子の発現を解析した。しかしながら、排気曝露による CYP1A1 遺伝子発現の亢進は予想に反して認められなかった。むしろ抑制傾向にも見受けられたが、粒子懸濁液処置の試験における反応では 4 (2⁴ 倍→約 16 倍) 以上発現が亢進することを考えれば、-0.5 (2^{0.5} 倍→約 0.6 倍) 程度の抑制は大きな変化とは言えない。CYP1A1 遺伝子が亢進しなかったことの原因としては、今回の排気にはいずれも CYP1A1 遺伝子発現が亢進するほどに PAH が含まれていないこと、懸濁液処置の実験と異なり CULTEX システムでは水溶性などの面で粒子可溶性成分の影響が見えにくいこと、曝露時間が実質 1 時間弱であり、CYP1A1 が誘導されるには短いこと、などが可能性として考えられた。実際の化学分析の結果と比較する必要がある。

酸化ストレスマーカーの HO-1 遺伝子の発現は NEDO エンジンの排気で最も強く亢進した。酸化ストレスは炎症や発癌など様々な疾患の原因、あるいは疾患を悪化させる要因と

なり得る。このことから HO-1 遺伝子の発現亢進は、生体に負荷を与えていることの証拠として注目される。今回の実験では、排気改善技術の効果から、旧型のエンジン排気と比較し NEDO エンジン排気では HO-1 の発現誘導が抑制することを期待したが、逆の結果となった。酸化ストレスの誘導には、自動車排気に含まれる成分としては、酸性物質、キノン類、金属類が重要であり、これらが NEDO エンジン排気には相対的に多く含まれている可能性が考えられる。また排気の低減装置として重要な酸化触媒が排気成分を酸化し、酸化ストレスを誘導しやすくしている可能性も考えられた。

肺上皮細胞から産生される代表的な炎症性サイトカインとして IL-1 β が広く知られている。今回は IL-1 β を炎症マーカーとして解析した結果、対照エンジン（長期）で最も強く誘導され、NEDO エンジンでは発現の亢進が最も弱かった。このことから IL-1 β が係わる炎症の誘導においては、対照エンジン（長期）に対し、NEDO エンジンでは改善効果があることが示唆された。IL-1 β は酸化ストレスにより産生が亢進することが知られているが、今回 HO-1 の結果と逆の結果になったことは、何らかの酸化ストレスの抑制因子が同時に亢進していた可能性も考えられ、さらに他の抗酸化酵素の誘導に関する解析も興味深い。

その他の注目される遺伝子については、炎症反応において炎症を惹起する因子の産生に重要な酵素である PTGS2（シクロオキシゲナーゼ）、IL-1 β 同様、急性炎症に関連する炎症性サイトカインの TNF、IL-6、IL-8、炎症細胞の接着に重要な ICAM1 など、炎症に関連する因子はいずれも対照エンジン(長期)において他の 2 条件よりも強く発現亢進した。ただし、抗炎症作用に関連する HDAC5 遺伝子も対照エンジン（長期）で強く亢進しており、炎症反応に関しては悪化と防御のバランスをとるような動きも見受けられた。全体的には炎症に関しては対照エンジン（長期）排気に対し、NEDO エンジン排気による改善効果が認められたと言える。

近年では様々なバイオマーカーが確立され、特定の因子を解析することにより、生体の状態を把握しやすくなった。前述のとおり、HO-1 や IL-1 β などの特定のバイオマーカーとされる遺伝子の動きを解析することにより、ある程度の影響を予測できるようになった。しかしながら、炎症の状態を前述の IL-1 β のみで代表することはできず、未知の物質による影響を既知の遺伝子の動きのみで解析するには限界があり、これまで知られていない有害性を見落とす可能性も考えられる。そこで、個々の遺伝子のみならず、解析したすべての遺伝子あるいは特定の遺伝子群の発現変動を比較することにした。JARI のこれまでの予備検討により、有害性の強い物質あるいは有害物質の濃度が濃いほど遺伝子発現の変動が大きくなることを見出している。この現象を活用し、全遺伝子および特定遺伝子群の発現変動を解析することにより、俯瞰的に排気の有害性を検証した。

標準偏差の比較では、各排気でほとんど差は認められなかったが、発現亢進遺伝子数および発現抑制遺伝子数の比較では、対照エンジン（長期）に比べ、対照エンジン（新長期）さらに NEDO エンジンにおいて明らかに変動遺伝子数が少なかった。このことから、対照エンジン（長期）排気に対し、NEDO エンジン排気による改善効果が示唆された。

特定遺伝子群の比較でも、薬物代謝酵素と抗酸化酵素についてはほとんど差が認められなかったが、炎症および発癌関連では対照エンジン（長期）による変動よりも NEDO エンジンによる変動の方が小さく、この結果は、対照エンジン（長期）排気に対する NEDO エ

ンジン排気による改善効果を示唆していると思われた。

2) DNA マイクロアレイ – 車両試験 –

対照車両および NEDO 車両の Cold および Hot スタート排気曝露がヒト肺上皮細胞 A549 へ及ぼす影響を DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析により評価した。

エンジン試験と同様、CYP1A1 遺伝子はいずれの排気でもほとんど亢進作用を示さなかった。CULTEX システムにおける CYP1A1 の PAH 曝露マーカーとしての有用性あるいは実験条件について検討する必要がある。

HO-1 遺伝子はいずれの車両とも Cold よりも Hot スタート排気で強く発現が亢進し、対照車両に比較し、NEDO 車両排気では発現の亢進作用は弱かった。酸化ストレスに関連する成分が NEDO 車両排気よりも対照車両排気において多く含まれていることが示唆された。今回の Hot/Cold スタートの排気曝露では、Hot では JC08 モードが 2 サイクル、Cold では 1 サイクルであり、合計の曝露量の差が HO-1 の発現の差として現れたと思われ、Cold スタート時の特有の成分の影響は、HO-1 に反映していないと思われた。

IL-1 β 遺伝子についてはいずれの排気でも発現亢進作用が認められず、NEDO 車両では抑制傾向があるように見受けられたが、大きな変化ではなかった。

その他の遺伝子については車両および Hot/Cold の違いに伴う発現変動はほとんど認められなかった。PTGS2 および IL-8 といった炎症に関連する遺伝子がいずれの条件でも強い抑制を示すことが特徴的であり、今回の車両排気はいずれも炎症を悪化させる作用は対照排気も含め、弱いのかもしれない。

標準偏差の比較では、対照車両よりも NEDO 車両による変動が、Hot/Cold いずれにおいても小さかった。発現亢進遺伝子数の比較では、対照車両に比べ、NEDO 車両では Hot/Cold いずれにおいても明らかに亢進遺伝子数が少なかった。Hot と Cold の比較では、Hot の亢進遺伝子数が多かった。発現抑制遺伝子数の比較についても亢進遺伝子数の比較同様、NEDO 車両において発現抑制遺伝子数が少なかった。亢進遺伝子数と異なり、Hot と Cold の比較では、Cold の抑制遺伝子数が多かった。これらの結果は、対照車両排気に対して NEDO 車両排気において改善効果があることを示している。Hot と Cold の違いについては興味深く、とくに Cold スタート排気には遺伝子発現を抑制する成分が多く含まれている可能性が考えられた。実際にホルムアルデヒドなどの有害物質は遺伝子発現を亢進するだけでなく、抑制する場合が多いという指摘もあり、今回の Hot と Cold の違いがどのような成分に関連するか、検証する必要がある。

特定の遺伝子群の発現変動の比較でも、薬物代謝酵素、抗酸化酵素、炎症関連、発癌関連いずれについても、対照車両と比較し、NEDO 車両において Hot/Cold いずれも変動が小さかった。これらのことも対照車両排気と比較し、NEDO 車両排気が改善されていることを示唆している。抗酸化酵素と発癌関連において似た変化が認められ、Hot において変動が大きく、前述の通り、曝露のサイクル数が Hot の方が多いことを考えればリーズナブルな結果であった。薬物代謝酵素の対照車両、炎症関連の NEDO 車両では Cold の方が Hot よりも変動が大きく、分析結果と比較し、その理由を検証する必要がある。

3) 細胞毒性試験

排気曝露がヒト肺上皮細胞 A549 の細胞生存率に及ぼす影響を解析した結果、いずれのエンジンおよび車両排気の曝露においても細胞生存率の明らかに抑制作用（50%以上）は認められなかった。今回の CULTEX システムにおける暴露条件（時間・濃度）の範囲ではいずれの排気ともに毒性はなかった。排気粒子懸濁液による細胞毒性試験においてもかなり高い粒子濃度でなければ毒性は認められず、今回の曝露条件では粒子懸濁液の実験と比較し、粒子濃度としてはかなり低濃度であった。

4.2.2.5 小括

対照エンジン 2 台（長期規制対応、新長期規制対応）と NEDO エンジンおよび対照車両と NEDO 車両を、それぞれ JE05 モードおよび JC08 モード（ホット、コールド）運転し、希釈排出ガスを培養細胞曝露装置に導入した。細胞はヒト肺上皮細胞 A549 を用い、遺伝子解析と細胞毒性試験を行った。その結果を以下にまとめる。

(1)エンジン試験

- ◆ PAH マーカーの CYP 1 A1 遺伝子はいずれのエンジン排気でも発現が亢進しなかった
- ◆ 酸化ストレスマーカーの HO-1 遺伝子は NEDO エンジンで最も強く発現が亢進した
- ◆ 炎症マーカーの IL-1 β 遺伝子は対照エンジン（長期）で最も強く発現が亢進した
- ◆ 対照エンジン（長期）で認められた炎症関連遺伝子の発現亢進は、NEDO エンジンでは弱いかほとんど認められなかった
- ◆ 全遺伝子発現の変動および特定遺伝子群の変動は、対照エンジン（長期）排気よりも NEDO エンジン排気の方が小さかった
- ◆ いずれのエンジン排気でも細胞毒性は認められなかった

(2)車両試験

- ◆ PAH マーカーの CYP 1 A1 遺伝子はいずれの車両排気でも発現が亢進しなかった
- ◆ 酸化ストレスマーカーの HO-1 遺伝子は対照車両排気で最も強く発現が亢進した
- ◆ 炎症マーカーの IL-1 β 遺伝子はいずれの車両排気でも発現が亢進しなかった
- ◆ 全遺伝子発現の変動および特定遺伝子群の変動は、対照車両排気よりも NEDO 車両排気の方が小さかった
- ◆ いずれの車両排気でも細胞毒性は認められなかった

以上の結果から、エンジンおよび車両試験のいずれにおいても、対照エンジン・車両排気と比較し、NEDO エンジン・車両排気の改善効果が認められた。

4.2.3 変異原性試験

4.2.3.1 目的

変異原性試験の一つであるエームス試験は代表的なバイオアッセイであり、開発候補医薬品の発がん性を予測するための一次スクリーニング系として必須の試験である。この試験では、必須アミノ酸のヒスチジンがないと生育できない（ヒスチジン要求性（His-）という）変異株のネズミチフス菌を被験物質と一緒に培養し、もし、被験物質に変異原性があれば、菌が分裂する過程で復帰突然変異が起こり、ヒスチジン非要求性（His+）の性質を獲得する。その結果、菌はヒスチジンを自己生産し、ヒスチジンの存在しない条件でも増殖し、コロニーを形成する。被験物質の濃度と形成されたコロニー数を計測することにより、被験物質の変異原性の有無、活性の程度を把握することが可能となる。

ディーゼル排気粒子は PAH などの発癌性物質を含んでいるため、以前から自動車排気の発癌性について指摘されている。そこで本研究では、エンジンおよび車両試験により回収された粒子抽出物の変異原性を評価することを目的に、エームス試験を実施した。

4.2.3.2 方法

試験菌株としては塩基対置換型（TA100）、フレームシフト型（TA98）の2菌株を用いた。試験はプレインキュベーション法により、直接法（- S9mix）と代謝活性化法（+ S9mix）について行った。また、被験液濃度は、エンジン試験の場合、対照エンジン（長期）では、0.03125～1 mg/100 μ l（プレート）、対照エンジン（新長期）では、0.0085937～0.275 mg/100 μ l（プレート）、NEDO エンジンでは、0.0096875～0.31 mg/100 μ l（プレート）の低濃度範囲とした。また、車両試験の場合も、0.0096875 から 0.03875 mg/100 μ l（プレート）の低濃度範囲とした。

陰性対照物質（溶媒対照）には、被験物質の調製に用いたジメチルスルホオキシド（DMSO と略す）を用いた。陽性対照物質として、既知の突然変異誘発物質として一般的に使用される物質から下記の物質を選定し、DMSO に溶解して使用した。

1) 直接法（・ S9mix）：

- ・ AF2（2・（2・フリル）・3ー（5・ニトロ・2・フリル）アクリルアミド）：和光純薬工業（株）製、98%、特級
- ・ タール：JARI 作製のディーゼル抽出物

2) 代謝活性化法（+ S9mix）：

- ・ BaP（ベンゾ（a）ピレン）：和光純薬工業（株）製、98%、特級
- ・ タール：当研究所作製のディーゼル抽出物

結果の判定基準は、復帰変異コロニー数が、被験液濃度の上昇とともに増加する用量－反応関係を認め、さらに、陰性対照（DMSO）の復帰変異コロニー数の2倍以上を示す場合を陽性（+）、1.5倍から2倍を疑陽性（±）、1.5倍以下を陰性（-）とした。用量－反応関係が直線性となる範囲について抽出物 mg 当たりの復帰変異コロニー数を平均し、変

異原性の強さとして比活性の値を求めた。

4.2.3.3 結果

1) NEDO エンジンと対照エンジン

被験液濃度（PM 抽出物投与量）と復帰変異コロニー数の関係を **Fig.4.2.3.1** に示す。ブランクでは用量-反応関係は見られなかった。対照エンジン（長期）ではいずれの試験条件とも、対照エンジン（新長期）では TA98+S9mix を除く条件で用量-反応関係が見られた。溶媒に対する各抽出物の復帰変異コロニー数の比を表 **4.2.3.1** に示す。排出ガスを導入していない希釈トンネル内のブランクはいずれも陰性である。対照エンジン（長期）では TA100、TA98 とも多くの条件で 2 以上の値を示したことから陽性、NEDO エンジンでは全ての条件で 1.5 以下の値であり、陰性と判断できる。

比活性値を **Fig.4.2.3.2** に示す。対照エンジン（長期）はいずれの条件でも比活性値が高く、塩基置換型、フレームシフト型に係わらず変異原性があり、ニトロアレーンの含有が示唆される。対照エンジン（新長期）は-S9 で活性があり、TA-100 では+S9 でも活性がある。NEDO エンジンでは+S9 で活性が認められ NEDO エンジン排気粒子は（ニトロアレーンよりも）PAH 比率高い可能性がある。

同一重量の粒子抽出物あたりでは対照エンジン（長期）の変異原性が最も強く、NEDO エンジンでおおむね（質的に）改善されている。対照エンジン（新長期）および NEDO エンジンはいずれも対照エンジン（長期）よりの変異原性は弱い、それぞれ変異原性の性質は異なり、含有成分が異なることが推測される。但し、性能の良い排気後処理技術を用いた場合には排出粒子量や粒子抽出物量は極めて低値となり、試験で用いるサンプルの濃度を同一に設定することが困難となる。今回の試験でも被験液の濃度範囲が大きく異なるため、厳密な定量比較は難しいが、NEDO エンジン排出粒子抽出物の変異原性活性値は、対照エンジンに比して低減されている。

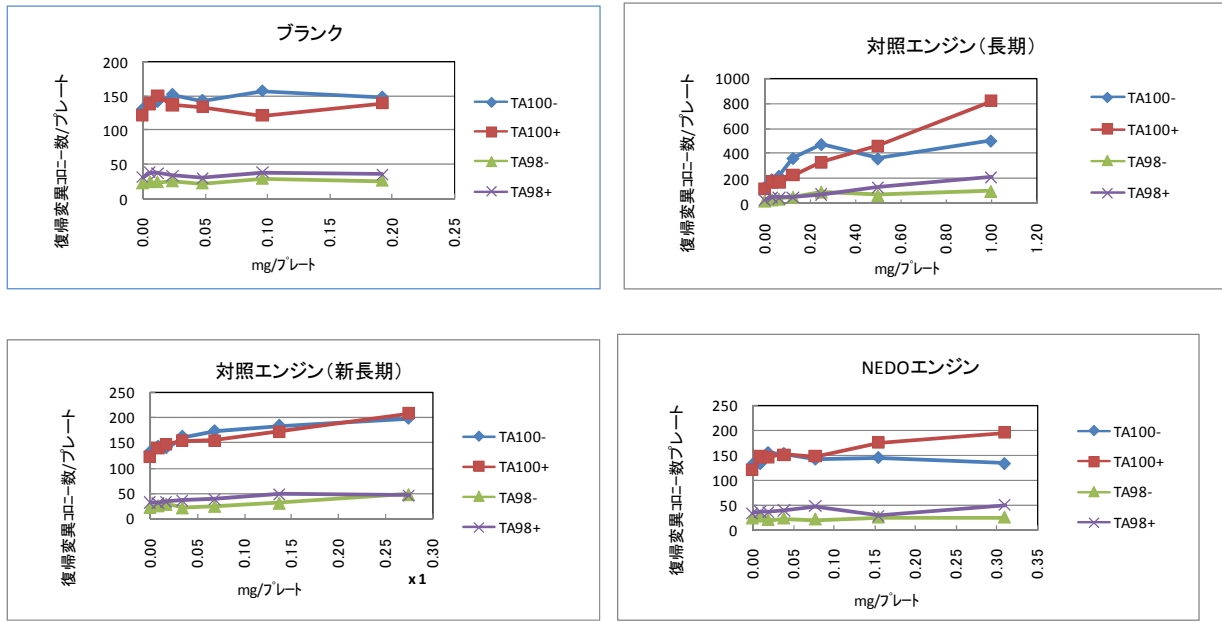


Fig.4.2.3.1 エンジン試験でのプレート当りの PM 抽出物量と復帰変異コロニー数
(図中*印は生育阻害が見られた)

表 4.2.3.1 陽性判定表 (エンジン試験)
復帰変異コロニー数/溶媒対照

ブランク

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.006	1.1	1.1	1.1	1.2
0.012	1.1	1.2	1.1	1.2
0.024	1.2	1.1	1.1	1.1
0.048	1.1	1.1	1.0	1.0
0.096	1.2	1.0	1.3	1.2
0.192	1.1	1.1	1.2	1.1

対照エンジン(長期)

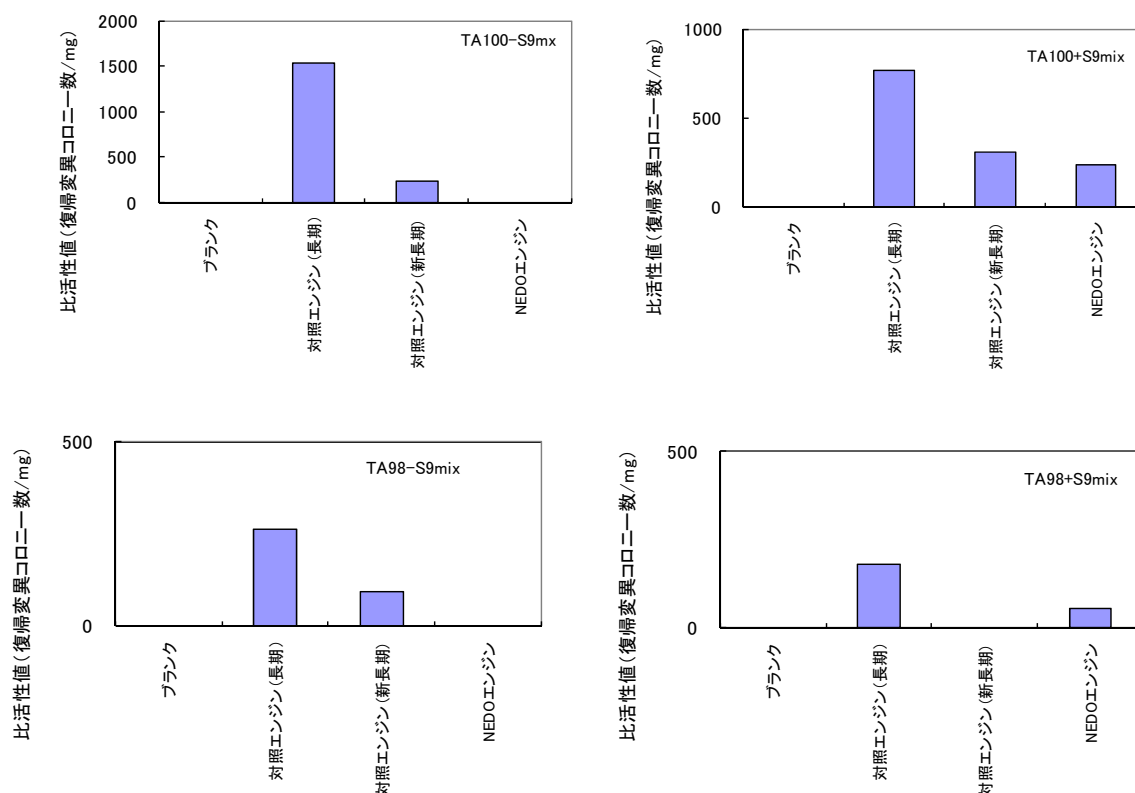
	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.031	1.5	1.4	1.4	1.5
0.063	1.7	1.4	1.7	1.5
0.125	2.8	1.9	2.3	1.7
0.250	3.6	2.7	4.1	2.3
0.500	2.7	3.8	3.0	4.2
1.000	3.8	6.7	4.4	6.6

対照エンジン(新長期)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.009	1.1	1.1	1.1	1.0
0.017	1.1	1.2	1.3	1.0
0.034	1.2	1.3	1.0	1.1
0.069	1.3	1.3	1.1	1.2
0.138	1.4	1.4	1.3	1.5
0.275	1.5	1.7	2.1	1.4

NEDOエンジン

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.010	1.0	1.2	1.2	1.1
0.019	1.2	1.2	0.9	1.1
0.039	1.2	1.2	1.0	1.2
0.078	1.1	1.2	0.9	1.5
0.155	1.1	1.4	1.1	0.9
0.310	1.0	1.6	1.1	1.5



Fi

g.4.2.3.2 変異原性比活性値の比較(エンジン試験)

2) NEDO 車両と対照車両

被験液濃度 (PM 抽出物投与量) と復帰変異コロニー数の関係を **Fig.4.2.3.3** に示す。対照車両、NEDO 車両とも用量-反応関係は見られない。溶媒に対する各抽出物の復帰変異コロニー数の比を表 **4.2.3.2** に示す。また、変異原性活性値を **Fig.4.2.3.4** に示す。排出ガスを導入していない希釈トンネル内のブランクは TA98+S9 で擬陽性であった。対照車両 JC08H の TA98-S9 で擬陽性ないし陽性、TA98+S9 で擬陽性であり、弱いながらも活性があるものと思われる。対照車両のブランクで TA98+S9 でも同程度の活性があり、対照車両の TA98+S9 の活性はこのブランクの影響を受けている可能性がある。NEDO 車両排出粒子の抽出物には変異原性は認められなかった。このことから、同一重量の粒子抽出物あたりでは NEDO 車両排出粒子抽出物の変異原性が弱く、変異原性の面から NEDO 車両は質的に改善されていると言える。試験で用いた被験液の濃度範囲が低く、計測できたコロニー数も少ないため、厳密な定量比較は難しいことはエンジン試験と同様である。

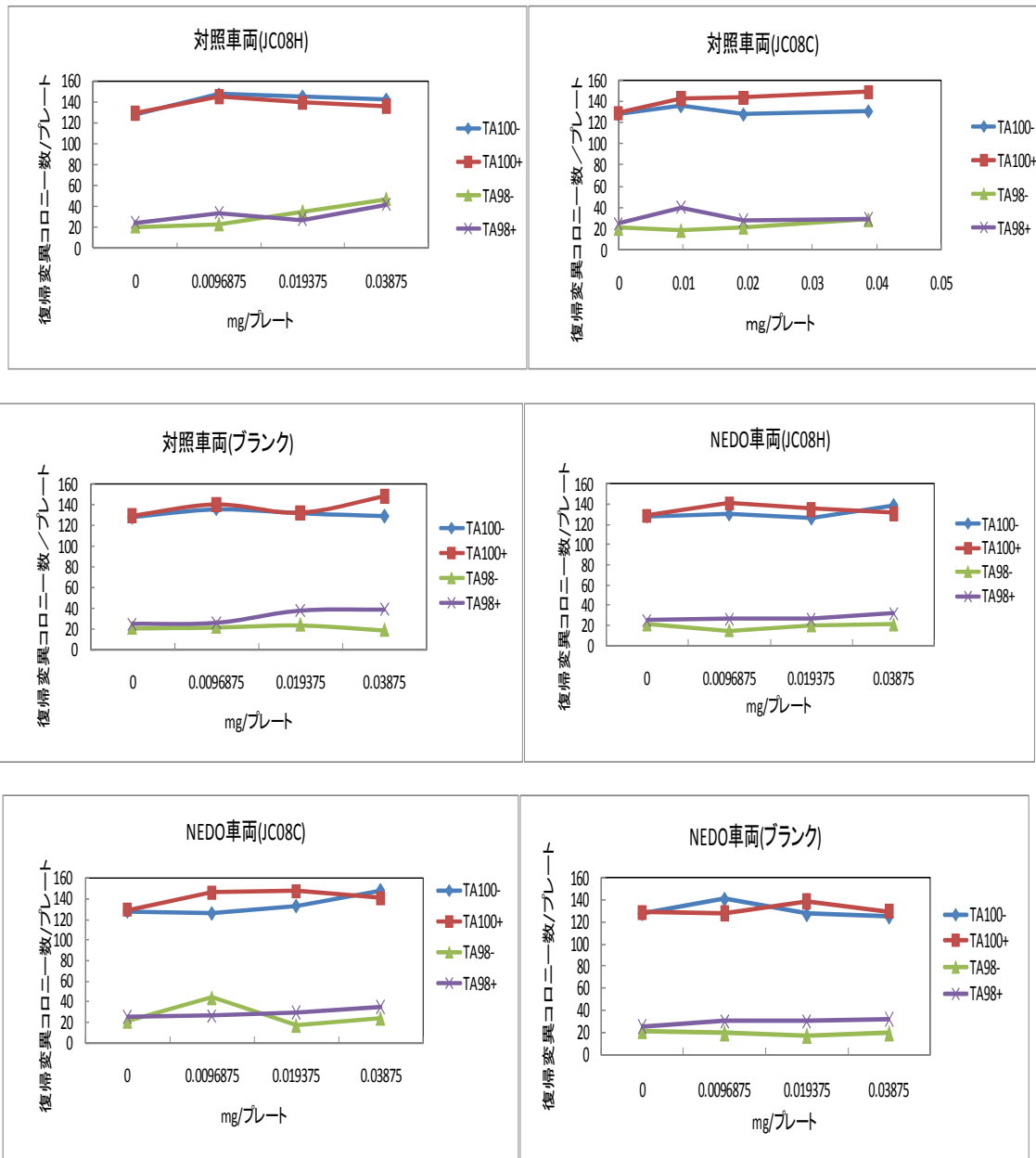


Fig.4.2.3.3 車両試験でのプレート当りのPM抽出物量と復帰変異コロニー数

表 4.2.3.2 陽性判定表 (車両試験)

復帰変異コロニー数/溶媒対照

対照車両(JC08H)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0097	1.1	1.1	1.1	1.4
0.0194	1.1	1.1	1.7	1.1
0.0388	1.1	1.1	2.2	1.7

NEDO車両(JC08H)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0097	1.0	1.1	0.7	1.1
0.0194	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0388	1.1	1.0	1.0	1.3

対照車両(JC08C)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0097	1.1	1.1	0.9	1.6
0.0194	1.0	1.1	1.0	1.1
0.0388	1.0	1.2	1.4	1.2

NEDO車両(JC08C)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0097	1.0	1.1	2.1	1.0
0.0194	1.0	1.1	0.8	1.2
0.0388	1.2	1.1	1.1	1.4

対照車両(ブランク)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0097	1.1	1.1	1.0	1.0
0.0194	1.0	1.0	1.1	1.5
0.0388	1.0	1.1	0.9	1.6

NEDO車両(ブランク)

	TA100-	TA100+	TA98-	TA98+
溶媒対照	1.0	1.0	1.0	1.0
0.0097	1.1	1.0	0.9	1.2
0.0194	1.0	1.1	0.8	1.2
0.0388	1.0	1.0	0.9	1.3

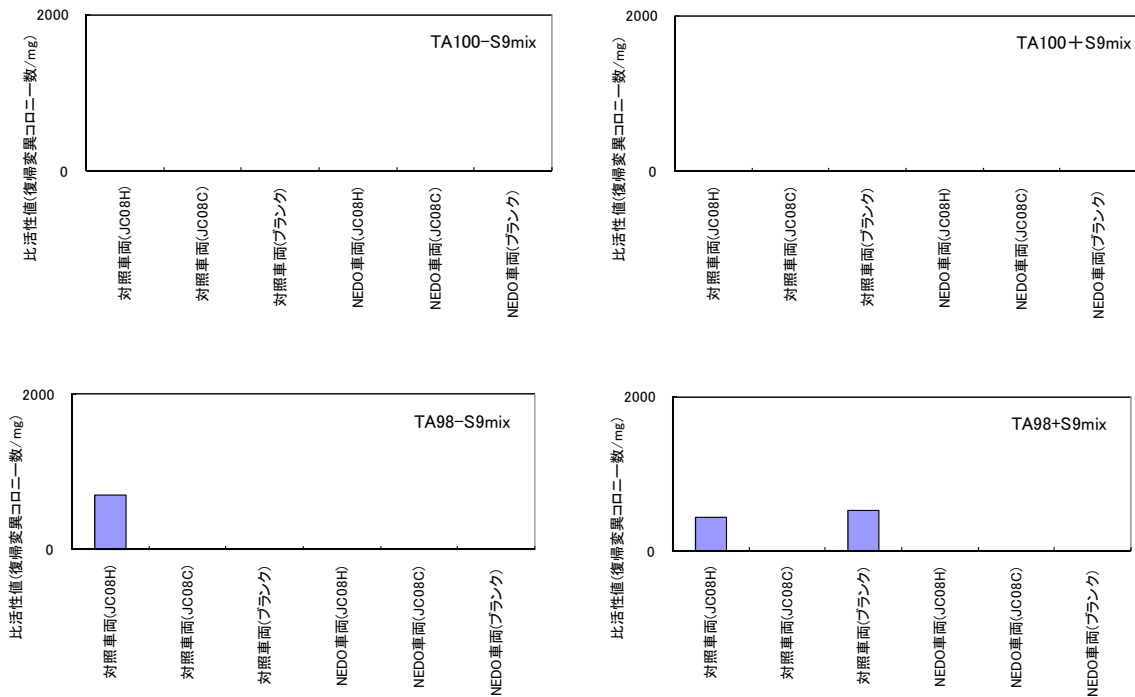


Fig.4.2.3.4 変異原性比活性値の比較(車両試験)

4.2.3.4 考察

通常のエームス試験ではネズミチフス菌を用いており、TA100 および TA98 という 2 種類の菌株を用いる。これは変異原性のメカニズムが塩基置換型、フレームシフト型の 2 つに大きく分けられ、TA100 では塩基置換型、TA98 ではフレームシフト型を検出することがで

きるため、両方を用いることにより検出漏れがないように考慮されている。また、通常のエームス試験では S9 という代謝酵素を含む生体由来成分を用い、評価物質が代謝により活性化するか否かについても検討する。BaP 等の官能基のない PAH はそのままではほとんど変異原性を示さないが、S9 で処置することにより変異原性が現れる。1 - ニトロピレン等のニトロアレーンなどは代謝活性化を必要とせずに変異原性を示すことが知られている。これらを踏まえて分析することにより、評価物質の変異原性の特徴に関する多くの情報を得ることが可能になる。

エンジン試験では、対照エンジン（長期）はいずれの条件でも比活性値が高く、塩基置換型、フレームシフト型に係わらず変異原性があり、ニトロアレーンの含有を示唆する。対照エンジン（新長期）は-S9 で活性があり、TA-100 では+S9 でも活性あり、ニトロアレーンの含有を示唆する。また、NEDO エンジンでは+S9 で活性があることからニトロアレーンよりも PAH 比率高い可能性が伺える。

車両試験では、対照車両 JC08H は TA98 で +/-S9 で活性を示したことから、フレームシフト型に特異的な変異原性があり、ニトロアレーンの含有が示唆される。

4.2.3.5 小括

対照エンジン 2 台（長期規制対応、新長期規制対応）と NEDO エンジンおよび対照車両と NEDO 車両を、それぞれ JE05 モードおよび JC08 モード（ホット、コールド）運転し、排出される粒子をフィルタ捕集した。このフィルタ粒子を溶媒抽出して変異原性試験（エームス試験）に供した。

その結果をまとめる。

1) エンジン試験

- ◆ エンジン試験では、対照エンジン（長期）はいずれの条件でも比活性値が高く、対照エンジン（新長期）は-S9 で活性があり、TA-100 では+S9 でも活性が認められた。
- ◆ NEDO エンジンでは+S9 で活性が認められたが、同一重量の粒子抽出物あたりでは対照エンジン（長期）の変異原性が最も強く、NEDO エンジンはおおむね（質的に）改善されていることが示された。

2) 車両試験

- ◆ 車両試験では、対照車両の JC08H は TA98 で +/-S9 で活性が認められたが、対照車両のブランクで TA98 は+S9 で活性があり、この条件ではブランクの影響を受けている可能性がある。
- ◆ NEDO 車両では変異原性は認められなかったことから、同一重量の粒子抽出物あたりでは NEDO 車両排出粒子抽出物の変異原性は弱く、NEDO 車両でおおむね（質的に）改善されていることが示された。