

3. 循環器（心血管系）への影響

3.1. 仮説の紹介

米国等における大気汚染の健康影響に関する疫学研究において、微小粒子状物質が循環器への影響に伴う過剰死亡と関連があることが示されてから、細胞や小動物等を用いた実験的研究においても微小粒子状物質の循環器系への影響に関する研究が蓄積されてきた。

ヒトおよび実験動物における微小粒子状物質の吸入による一般的な循環器疾患の発現機序については、これまで世界中で膨大な数の基礎研究と臨床研究がなされている。

循環器疾患の原因の一つとなる不整脈の発生については、健常者よりも虚血性心疾患患者（冠動脈閉塞などによる心筋梗塞）、動脈硬化症や高脂血症を伴う高血圧患者、先天性・後天性QT延長症候群患者などに現れやすい。また、運動時や起立時など循環器への機能的負荷が増大する際に不整脈が生じやすい。この発生には、自律神経バランスの変化が密接に関与していると考えられる。

また、粒子状物質が心血管系に作用を及ぼすと考えられる他の経路として、粒子状物質が血管内皮細胞を障害することで血小板の活性化、フィブリノゲンの増加、血栓形成が促進される可能性が挙げられる。このような凝固線溶系の変化は血栓症を起こしやすくし、血管抵抗の上昇や冠動脈閉塞による心血管系影響が現れやすくなると考えられる。

さらに、微小粒子状物質が気管支や肺実質を刺激し炎症性影響をもたらすことが知られているが、その結果として炎症性の肉因性物質による心臓への直接的影響や気道粘膜の知覚神経刺激による心臓への反射性影響が生じうるという可能性もある。また、肺に沈着した粒子状物質中の成分が血液中に吸収される場合には、それらの成分の心血管系に対する直接作用（酸化作用など）の可能性も否定できない。

国内外の文献的知見あるいは学術集会における議論等から、微小粒子状物質を吸入することによって引き起こされる循環器系への影響は、自律神経系を介した影響あるいは肺の炎症、血液の凝固線溶系の変化、粒子状物質成分の血管内への浸出を介した影響のいずれか、あるいはこれらの組み合わせによるものと推察される。

以上の背景を踏まえ、影響評価に関する以下の仮説を設け、それぞれの仮説項目について概要を述べる。

- (1) 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる
- (2) 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす
- (3) 微小粒子状物質の曝露によって、自律神経機能に影響を及ぼす
- (4) 血液の凝固線溶系への影響がみられる
- (5) 心機能変化において呼吸器系の刺激が影響する
- (6) 微小粒子（粒子中成分）は血液中に浸出し心血管系に影響を及ぼす
- (7) 疾患モデル動物は正常動物に比べて循環機能変化に差異が生じる

(8) 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

3.2. 論文の紹介

3.2.1. 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる

Kang ら (2002) は、心筋梗塞モデルラットに PM 曝露(気管内投与)を行った場合に誘発される心臓毒性にエンドセリンの変動が関与しているかどうかを調べる目的で、急性実験を行った。心筋梗塞モデル動物として、エーテル麻酔下で SD ラットの左冠状動脈を結紮により閉塞して急性心筋梗塞群を作出した。開胸を施しただけの sham 群を対照として用いた。曝露物質は、工業地帯の大気をサンプラーにて採取しテフロン処理ガラスファイバーに集め濃縮した PM_{2.5} であり粒子サイズは 2.5 μ m より小さかった。ハローセン麻酔下で PM_{2.5} を 2.0mg/0.3mL saline の量で単回投与した。PM_{2.5} を気管内投与(単回)したところ、10 分後に計測した心電図において、sham 群に比較してより強い心拍数の低下および心室期外収縮などの不整脈が出現した(有意差あり)。また、PM_{2.5} の気管内投与により、いずれの群(心筋梗塞群、PM 曝露群、心筋梗塞+PM 曝露群)のラットにも血中エンドセリン濃度の有意な上昇が見られた。しかし、心筋組織においてエンドセリン A 受容体を発現した心筋線維は心筋梗塞動物への PM_{2.5} 曝露のみで増加した。心筋梗塞ラットにおいて PM で誘発される心拍数低下や異常波形の発現にはエンドセリン系の upregulation が関与していることが示唆された。

Wellenius ら (2004) は、心筋梗塞モデル動物において不整脈などの心機能異常が発現するかどうかを調べるため、急性実験を行った。曝露物質は、CAPs(ボストン由来)であり、PM_{2.5} を 350.5 μ g/m³、CO(一酸化炭素)を 35ppm、CAPs を 348.4 μ g/m³ の濃度とした。SD ラット、心筋梗塞モデル(SD ラットの左冠状動脈の分枝の 1~2 を手術用焼灼器を用いて閉塞)を用い、個体ごとの曝露チャンバー(流量 15L/分)にジアゼパム(12mg/kg(体重) i.p.)で鎮静化したラットを収容して吸入曝露した。曝露時間は、心筋梗塞術処置後、CAPs、CO とともに 1 時間であった。CAPs 単独曝露、あるいは CO との混合曝露を実施し、心臓への影響指標として不整脈の発現性を解析した。その結果、心室期外収縮の増加傾向が CAPs 単独曝露では認められたが、統計的な有意差は示されなかった。CO との混合曝露では相乗効果は見られなかった。

Godleski ら (2000) は、ヒトの心筋梗塞に類似した病態をイヌで作製し、CAPs 曝露による循環機能(心電図)変化、自律神経機能の変化、BALF(Bronchoalveolar Lavage Fluid)の変化を調べるため、急性実験を行った。CAPs を冠動脈無処置動物(6 匹)、冠動脈閉塞犬(6 匹)に最高で 30 倍に濃縮して吸入曝露を行った。曝露濃度は、冠動脈無処置動物で 93.7~1,055.8 μ g/m³、冠動脈閉塞動物で 71.8~741.2 μ g/m³ であった。曝露条件は、6 時間/日、3 日間連続であった。冠動脈無処置動物は、CAPs 曝露により心電図の

心拍変動の低周波成分と高周波成分が、清浄空気曝露に比較し、有意に上昇した。高周波成分と低周波成分が上昇しているときには、脈拍数が低下し、呼吸数、一回換気量も低下していた。CAPs 曝露により T 波の低下も観察された。CAPs 曝露により、BALF 中の好中球の占有比率が、清浄空気曝露に比較し、増加していた。CAPs 曝露により末梢血の白血球数に変動はなかったが、曝露開始後、3 日目までフィブリノゲンの経時的増加傾向が認められた。冠動脈閉塞動物に関しては、冠動脈無処置動物に比較し、CAPs 曝露による高周波成分上昇がより顕著であった。また、CAPs 曝露群では、清浄空気曝露群に比較し、冠動脈閉塞による ST 上昇がより早期に出現した。

Bagate ら (2006) は、PM 曝露による影響における肺の炎症の役割と心臓の虚血、再灌流標本における PM の影響を明らかにすることを目的とした。曝露物質は、オタワ標準粉じん(EHC-93)を用いた。粒径は平均 $0.8 \sim 0.4 \mu\text{m}$ でレンジは $< 3 \mu\text{m}$ であり (Bagate ら (2004))、構成は Gerlofs-Nijland ら (2005) に記載されている。SHR(11~12 週齢)に、EHC-93(10mg/kg(体重))を 5mg/ mL に希釈し気管内(単回)投与した。また LPS:350endotoxin units、0.5 mL を炎症性刺激として、対照として生理食塩水を投与した。これらの投与は短時間の 4%ハローセン吸入麻酔下で行った。気管内投与の 4 時間後に心臓を摘出し、ランゲンドルフ標本にして灌流し安定化を行った(ベースライン)。その後 35 分間の虚血と 120 分間の再灌流を行い、再灌流中 5 分、60 分、120 分に観察を行った。PM の気管内投与によって心臓の灌流標本ではベースラインの左室弛緩期圧(LVDP、Left Ventricular Developing Pressure)が低下した。虚血後の再灌流中では、生理食塩水投与の LVDP は一時的に低下したが 60 分以内に 90%まで回復した。PM 投与・LPS 処理の LVDP は生理食塩水に比較し有意に低下しており、回復が非常に遅延した。再灌流中の冠循環は、LPS・生理食塩水では低下したが、PM では全く低下しなかった。心拍数では、PM・LPS・生理食塩水とも有意な変化はなかった。心筋細胞(H9C2)への影響については、 Zn^{2+} (50 μM)、PM(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)は KCl と ATP による心筋への Ca 流入を抑制した。以上から、虚血後の心臓の回復期における観察指標に対して PM の気管内投与は一時的で可逆的な影響を及ぼした。この影響は、心臓におけるカルシウムホメオスターシスに対する可溶性金属類の直接的な作用による可能性があるが、一方で肺の炎症反応が明らかな影響を及ぼしているものかもしれないと述べている。

Nadziejko ら (2002) は、血圧の発信装置を外科的に植え込んだ SHR(Spontaneously Hypertensive Rat:高血圧自然発症ラット)に CAPs を 4 時間曝露して、CAPs の吸入の即時影響があるかどうかを調べた。用いたのは CAPs、硫酸エアロゾル(MMAD:160nm)、および Ultrafine 硫酸粒子(MMAD:50~75nm)であった。曝露濃度はそれぞれ、CAPs:平均 73 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、硫酸エアロゾル:平均 225 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、硫酸微小粒子:468 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。酸はひとつの粒子成分として、刺激的な受容体を活性化して影響する可能性があるので、

硫酸エアロゾルもラットに曝露した。CAPs 曝露をはじめた直後に顕著に呼吸数が減少したが、CAPs の曝露停止により回復した。呼吸数の減少に伴い、心拍も減少した。同じラットに微小粒子サイズの硫酸エアロゾルを曝露しても CAPs の影響と同様の呼吸数の減少を引き起こした。CAPs と比べて、Ultrafine の硫酸粒子曝露では、呼吸数は上昇した。酸はげっ歯類で知覚刺激反応を引き起こすが、微小粒子サイズの酸のエアロゾルと CAPs の影響が類似していることから、CAPs も気道刺激受容体を活性化することが示唆された。

Campen ら(2003)は、DEP の SHR の心血管系への影響を明らかにするために亜急性実験を行った。SHR に対し、粒径 $0.1\sim 0.2\mu\text{m}$ (空気力学的直径)の DE を、0、30、100、300、 $1,000\mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で、6 時間/日の条件で 7 日間連続曝露し、心血管系への影響を検討した。明期の心拍数は、対照群では実験開始前から低い値を示していたが、曝露群では曝露中に有意に高値を示した。ラット(雌)の対照群の明期の心拍数は平均 $265\pm 5\text{bpm}$ で、曝露群のそれは $290\pm 7\text{bpm}$ であった。ラット(雌)で観察されたこの群間差は、曝露期間中の夜間(22:00~02:00)まで観察されたが、曝露前及び曝露終了後の期間では観察されなかった。房室結節の感受性の指標である PQ 間隔は、曝露濃度に依存して有意な延長を認めた。PQ 間隔の延長を伴う心拍数の増加は、心室性不整脈の存在を示している。心病理所見では、幾つかの心標本で散在する筋細胞の変質病巣と組織球性炎症を認めたが、対照群と高濃度群で比較した場合には類似した軽度な所見であった。光顕的には、心病変内や肺外に粒子は認めなかった。以上の結果は、これまで報告されている実際の大气中濃度の曝露が、ラットの心拍調節機能に影響を与える可能性を示している。

Campen ら(2000)は、ラットに ROFA を気管内投与し、体温や循環系への影響を調べた。

ラットの飼育環境温度および曝露条件は、1 群(22°C 環境飼育、各 $n=4$):0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与、2 群(10°C 環境飼育、各 $n=4$):0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与、3 群(22°C 環境飼育、 O_3 曝露は $n=4$ 、対照は $n=3$): 1ppmO_3 の曝露(6 時間)後、0、0.25mg ROFA 投与、4 群(22°C 環境飼育、各 $n=4$): モノクロタリン処置後、0、0.25、1.0、2.5mg ROFA 投与とした。モノクロタリンは腹腔内投与した。すべての条件下で対照群は生理食塩水の気管内投与で深部体温が上昇したが、ROFA 投与した 22°C 環境下群は濃度依存的に低下した。高濃度 ROFA では遅発性の低体温症も誘発した。 10°C 環境下群も深部体温は同様の濃度依存性を示したが、 22°C 環境下よりも深刻だった。 O_3 曝露群でも同様であったが、回復には 18 時間ほど要し、遅発性の低体温症は誘発しなかった。モノクロタリン投与群では濃度依存的に持続的に体温が下がり続け、致死率も高頻度であった。心拍数パターンはすべての群における深部体温のパターンに酷似していた。

ROFA 曝露によりすべての群で AV ブロック等の不整脈発生頻度が濃度依存的に増大し、高濃度曝露では 48 時間もそれが続いた。O₃ 曝露群では不整脈は消失した。モノクロタリン処置群では ROFA 曝露後の不整脈は増大し、4 日以上続いた。さらに低体温や頻脈も、ST セグメントの持続的抑制や伝導異常による急性心筋障害といった心電図異常と共に観察され、致死率も増大した。すべての群で ROFA 投与後に肺重量の増加と炎症、壊死、浮腫が観察された。本研究では、ROFA は心機能や体温調節機構に重大な影響を与えることが示唆された。また、それは心肺ストレス下において、さらに重篤な症状を示すことが明らかになった。

Watkinson ら (2000) は、ROFA の気管内投与及び吸入による循環機能の変化(不整脈など)を明らかにする目的で、急性～亜急性実験を行った。曝露物質として、オタワ粉じん(OTT)、燃焼に伴って発生する粒子状物質(ROFA)、ヘレナ山の火山灰(MSH)、主要遷移金属成分(Primary transition metal constituents)を用いた。

ROFA 気管内投与：0.0、0.25、1.0、2.5 mg/0.3 ml saline を下記の 3 条件の SD ラットに投与した。

①寒冷(4°C、4 日間)環境飼育ラット(n=16)、②気管内投与の 18 時間前に O₃ に曝露(1ppm、6 時間)(n=16)、③気管内投与の 12 日前にモノクロタリン投与(60mg/kg(体重) i.p.)(n=16)の条件で気管内投与を行った。

投与後 0～6 時間、12～72 時間後に不整脈、低体温、肺の炎症を伴う徐脈を量依存性に認めた。寒冷ストレス、O₃ 曝露、モノクロタリン投与(肺血管炎/肺高血圧モデル)により作製された心肺ストレス/疾患モデル SD ラットでも心反応の増悪が認められ、モノクロタリン処理ラットでは 50% の死亡率であった。

ROFA 吸入：健康な SD ラット、モノクロタリン投与 SD ラット(n=8)、SHR(n=8)、WKY ラット(SHR の遺伝的対照ラット、n=8)に ROFA(15mg/m³×6 時間/日×3 日)を吸入曝露した。この実験でも気管内投与と同様の傾向が認められたが、死亡例は ROFA 吸入では認められなかった。

老齢 SHR における気管内投与：OTT 2.5 mg、ROFA 0.5mg、MSH 2.5mg、対照群(生理食塩水)を 15 ヶ月齢の SHR に気管内投与後 96 時間の観察を行った。心電図、心拍数、不整脈などの悪影響は OTT>ROFA>>MSH の順であった。

モノクロタリン処置ラットにおける金属成分の気管内投与：モノクロタリン処置 SD ラットに粒子状物質の重要な金属成分である Fe、V、Ni を単独あるいは混合で、Fe₂(SO₄)₃(105 μg)、NiSO₄(263 μg)、VSO₄(245 μg)を 0.3 ml の生理食塩水(pH=2)に溶解し気管内投与した。投与後 0～6 時間、12～72 時間後に心拍数および深部体温の低下、不整脈や死亡率(30%)の増加が認められた。最も著しい影響は Ni と V 曝露により起こった。

以上の結果から、粒子状物質やその酸性金属成分の気管内投与や吸入曝露による心肺系への明確な毒性が証明された。粒子状物質曝露に引き続いて観察される悪影響は個々の金属の複合的影響、さらに宿主の感受性により修飾されたものと考えられると述べている。

Campen ら(2002)は、ROFA の曝露が心機能および体温調節にいかなる影響を及ぼすかを明らかにする目的で急性～亜急性実験を行った。健康 SD ラット、モノクロタリン処置(60mg/kg(体重), i.p.)SD ラットにテレメトリ埋め込み手術を行った。モノクロタリン処理ラットは14日目以降に気管内投与(単回投与)を行った。曝露物質は、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 NiSO_4 、 VSO_4 であった。曝露濃度や実験条件は、以下の通りであった。

1群(モノクロタリン非処置群、各 n=4):① 生理食塩水投与、② 0.105mg $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③ 0.263mg NiSO_4 、④ 0.245mg VSO_4 、2群(モノクロタリン処置群、各 n=10):① 生理食塩水投与、② 0.105mg $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③ 0.263mg NiSO_4 、④ 0.245mg VSO_4 、3群(モノクロタリン処置・金属混合群、各 n=6):① $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{VSO}_4$ 、② $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4$ 、③ $\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ 、④ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ とした。

V は健康ラットおよびモノクロタリン処置ラットで明瞭な徐脈(90bpm の減少)、不整脈、体温低下(2.5°C低下)を招き、Fe による変化は小さかった。一方、生理食塩水投与では全ての群において心拍数と深部体温の上昇が見られた。Ni 投与では遅発性に頻脈・低体温・不整脈がみられ、心拍数・深部体温は減少した。Ni と V の同時投与により、致死率は上昇した。これらは Fe の投与によりある程度抑制された。またモノクロタリン処置群では右心肥大が見られ、BALF では高濃度のタンパク質・LDH・NAG が観察された。さらに対照群において V と Ni は LDH や MIA レベルの上昇を引き起こし、Ni と他の金属を組み合わせて投与するとさらなる上昇を引き起こした。モノクロタリン処置群においても Ni 投与により LDH レベルが上昇した。ROFA に含まれる V と Ni は健康ラットや肺高血圧ラットに体温上昇、徐脈、不整脈源性をもたらすが、Fe による保護作用の可能性も併せて、これらの金属の相互作用を研究することが ROFA の生体影響を評価する上で重要であると述べている。

Hwang ら(2005)は、粒子径平均 $389 \pm 2 \text{ nm}$ (ニューヨーク州由来)の CAPs を ApoE-/-マウスに6時間/日曝露で5ヶ月間曝露した。曝露濃度は、 $133 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (範囲 $52 \sim 153 \mu\text{g}/\text{m}^3$)であった。正常マウス(C57)とアテローム性動脈硬化症を発症する傾向がある ApoE-/-マウスに心電図、深部体温、および運動送信機を移植して、CAPs に曝露した。CAPs と模擬空気曝露群の間で毎日の時間における心拍、体温、および身体的活動の有意差を調べるために最近開発されたノンパラメトリック法を使用した。その結果、午前1時30分と午前4時30分間の CAPs の曝露が心拍に最も影響し、体温の変動もみられた。5ヶ月以上の CAPs 曝露において ApoE-/-マウスでは心拍、体温、および身

体的活動の有意な減少パターンが見られたが、C57 マウスでは、より小さく、有意差は見られなかった。ApoE^{-/-}マウスの心拍、体温、および身体的活動の 3 つの応答変数の慢性影響は最後の 2、3 週間で最大になった。また曝露期間中、ApoE^{-/-}マウスで、CAPs 曝露濃度と心拍の短期変化との間に有意な相関があった。ApoE^{-/-}マウスの結果は、より長い期間で心拍変動が曝露の終わりまでに 1.35 倍に増加し、15 分以内の心拍数は 0.7 倍に減少したことを示した。今回用いた心拍変動解析方法は慢性的な心疾患の観察に応用しうる優れた方法であることが明らかになった。

Wellenius ら (2003) は、6 匹のイヌに開胸手術を試行し、冠動脈の左前下行枝にバルーンを用いた閉塞作成装置を取り付けた。二匹を一組とし、CAPs (Harvard Ambient Particle Concentrator を使用； 345.25 ± 194.30 ($161.34 \sim 957.32$) $\mu\text{g}/\text{m}^3$) もしくは清浄空気を 6 時間/日、3 日間連続で吸入させた。曝露終了直後に、5 分間バルーンを膨張させ、冠動脈閉塞状態を作成し心電図を持続的にモニターし、ST 部分の上昇を高さの最大値と面積から判定した。冠動脈閉塞による V4、V5 誘導における ST 上昇は、清浄空気曝露個体に比較し、CAPs 曝露個体において顕著であった。しかし、単回帰解析において、ST 上昇と粒子濃度には相関はなく、ST 上昇と Si もしくは Pb の濃度との間に相関を認めなかった。多変量解析では、ST 上昇と Si 濃度との間のみに相関を認めた。冠動脈閉塞により頻脈が惹起されたが、CAPs 曝露の影響は認められなかった。冠動脈閉塞により心室性不整脈はあまり惹起されず、CAPs の影響も見られなかった。以上の結果から、浮遊粒子状物質は、冠動脈狭窄や閉塞に基づく心疾患を増悪する可能性が示唆された。

Kodavanti ら (2000) は、WKY ラット及び SHR に ROFA ($15\text{mg}/\text{m}^3$) を、6 時間/日、3 日連続で鼻部吸入により急性曝露する事によって、呼吸器・循環器系の炎症性反応や気道反応性・心電図波形の変化を観察した。

清浄空気曝露時の WKY ラット、SHR の相違では、同週齢で比較した体重当たりの肺・左室重量は SHR の方が WKY ラットよりも重かった。WKY ラットと比較して SHR では、アセチルコリンに対する気道反応性が低く、肺組織中に活性化したマクロファージ、好中球、出血を認め、BALF 中のタンパク質量、マクロファージ、好中球、赤血球、チオバルビタール酸反応物質、肺サイトカイン mRNA の発現量が高かった。加えて、SHR では、左心室心筋組織の炎症所見(心筋症と単球細胞浸潤)とサイトカイン mRNA 発現量の亢進が見られ、心電図波形で ST が低下していた。

ROFA 曝露効果では、SHR の方が肺組織の炎症所見が WKY ラットよりやや強く、BALF 中タンパク質、アルブミン量は有意に増加した。また、SHR においては BALF 中赤血球数の増加が見られ、このことは肺実質において障害が引き起こされていることを示していた。肺泡マクロファージ数は、WKY ラット、SHR で清浄空気時に比較して有意に増加したが、WKY に比較して SHR で有意に多かったが、好中球数の増加は両ラ

ットで同程度であった。グルタチオン、アスコルビン酸、尿酸は ROFA 曝露で有意な増加が見られたが、その増加の程度は WKY ラットに比べて SHR では小さかった。肺サイトカイン IL-6 mRNA 発現量、フィブロネクチン、G6PD は WKY、SHR で同様に増加していたが、MIP-2 mRNA 発現量は WKY ラットで増加したのに対して、SHR では減少した。左室心筋 IL-6、TGF- β mRNA 発現量は、非曝露時では WKY ラットに比較して SHR で明らかに高かったが、ROFA 曝露による亢進は認めなかった。重油燃焼排気中の粒子状物質の吸入が、心機能の異常の発生と関連している可能性があるとして述べている。

Muggenburg ら (2000) は、イヌの心血管系への ROFA の影響を検討するため、急性実験を行った。老齢イヌ (ビーグル犬、 $n=4$ 、10.5 歳) に対して、平均粒径 $2.22\mu\text{m}$ の ROFA を、 $3\text{mg}/\text{m}^3$ の濃度で 3 時間/日 \times 3 日間の吸入曝露を行った。曝露中は心電図を連続記録 (鎮静剤投与下) した。その結果、ROFA 曝露では心電図の ST 分節の高さ、T 波の形状や高さに変化を与えず不整脈もみられなかった。したがって ROFA 曝露はイヌの心臓の電気生理学的変化をもたらすことはないことが示された。

Gordon ら (2000) は、F344 ラット (雄) にモノクローリンを前投与して右心肥大と肺高血圧を誘導した後に、Gerber 遠心エアロゾル濃縮器を用いたニューヨークの CAPs を吸入曝露 (曝露濃度: $134\sim 400\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、3~6 時間/日、1 日) して、呼吸機能、心電図、BALF 中の炎症性細胞と LDH 活性を測定した。モノクローリンを前投与したラットにおいて、ニューヨークの CAPs の 6 時間曝露により BALF 中の好中球が有意に上昇したケースも見られたが、一定した傾向が見られず、心肺機能においても特筆すべき変化は見られなかった。

3.2.2. 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす

Kang ら (2002) は、心筋梗塞モデルラットに PM 曝露 (気管内投与) を行った場合に誘発される心臓毒性にエンドセリンの変動が関与しているかどうかを調べる目的で、急性実験を行った。心筋梗塞モデル動物として、エーテル麻酔下で SD ラットの左冠状動脈を結紮により閉塞して急性心筋梗塞群を作出した。開胸を施しただけの sham 群を対照として用いた。曝露物質は、工業地帯の大気をサンプラーにて採取しテフロン処理ガラスファイバーに集め濃縮した $\text{PM}_{2.5}$ であり粒子サイズは $2.5\mu\text{m}$ より小さかった。ハローセン麻酔下で $\text{PM}_{2.5}$ を $2.0\text{mg}/0.3\text{mL}$ saline の量で単回投与した。 $\text{PM}_{2.5}$ を気管内投与 (単回) したところ、10 分後に計測した心電図において、sham 群に比較してより強い心拍数の低下および心室期外収縮などの不整脈が出現した (有意差あり)。また、 $\text{PM}_{2.5}$ の気管内投与により、いずれの群 (心筋梗塞群、PM 曝露群、心筋梗塞 + PM 曝露群) のラットにも

血中エンドセリン濃度の有意な上昇が見られた。しかし、心筋組織においてエンドセリン A 受容体を発現した心筋線維は心筋梗塞動物への PM_{2.5} 曝露のみで増加した。心筋梗塞ラットにおいて PM で誘発される心拍数低下や異常波形の発現にはエンドセリン系の upregulation が関与していることが示唆された。

Rhoden ら (2005) は、CAPs の吸入および都市大気粒子(UAP、Urban Air Particles)の気管内投与による心臓の酸化ストレスの変化と自律神経機能との関連を調べるため、急性実験を行った。SD ラットに対し、CAPs を吸入曝露し、UAP として標準試料 1649(The National Institute of Standards and Technology, Washington, USA)を気管内投与した。CAPs の曝露濃度は 700 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。SD ラットに CAPs を吸入曝露(700 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、5 時間)すると心臓の乾湿重量比が有意に増大したが、抗酸化剤の N-アセチルシステインを前処置するとこの増大は見られなかった。また、CAPs 吸入前に自律神経遮断薬を投与すると、CAPs で誘発される心臓の酸化物量のレベル増加が抑制された。これらの成績から、PM 曝露は、自律神経活動を介して心臓の酸化物を増加させること、そして結果的に酸化ストレスが心臓の有意な機能的変化をもたらすことが明らかになった。

Rivero ら (2005) は、PM_{2.5} がラットの全身における炎症や肺と心臓における血管系の狭窄をもたらすか否かについて明らかにする目的で、急性実験を行った。曝露物質としてサンパウロ(ブラジル)市内の交通量の極めて多い中心部の上空 15m から大気を採取、2.5 μm 以下のものを選別した。PM_{2.5} は S、As、Br、Cl、Co、Fe、La、Mn、Sb、Sc、Th などの構成要素から成っていた。蒸留水 1 mL に PM_{2.5} を 100 μg 希釈したもの(PM100)または蒸留水 1 mL に PM_{2.5} を 500 μg 希釈したもの(PM500)を投与した。気管内投与は 38 匹の健康な Wistar ラットにペントバルビタールで麻酔(30mg/kg(体重) i.p.)をかけたのち、上記の溶液を各々気管内投与した。網状赤血球総数は PM100 群と PM500 群の両方で有意に増加し(p<0.05)、ヘマトクリット値は PM500 群でのみ増加した(p<0.05)。分葉核好中球(segmented neutrophils)やフィブリノゲンの定量値は大きく減少を示し、リンパ球数は PM100 群で有意に増加した(p<0.05)。細葉間小動脈の L/W(内腔/壁)比の投与量依存的減少が PM 群で観察された(p<0.001)。細気管支周囲動脈の管腔/壁の割合(L/W 比)は PM500 群で大きく減少した(p<0.001)。心臓における乾湿重量比の有意な増加は PM500 群で観察された(p<0.001)。結論として、サンパウロにおける環境中の微小粒子状物質は肺と心臓の組織学的変化を引き起こすことが分かった。肺の尿管構造は明らかに粒子状物質の気管内投与により影響を受け、健康なラットにおいて明瞭な血管狭窄を示した。

Campen ら (2000) は、ROFA が肺高血圧症モデルラット(モノクロタリンで作製)およ

び正常ラットに及ぼす影響と、異なる飼育環境温度における体温反応への影響を明らかにする目的で、急性～亜急性実験を行った。ROFA(Dreherら(1997)に記載)を各種の条件下で気管内投与した。4群では術後12日目にモノクロタリン(60mg/kg(体重))を腹腔内投与し、肺高血圧症状が現れるまでさらに12日間を置いた。ラットの飼育環境温度および曝露条件は、1群(22℃環境飼育):0、0.25、1.0、2.5mg ROFA投与(各n=4)、2群(10℃環境飼育):0、0.25、1.0、2.5mg ROFA投与(各n=4)、3群(22℃環境飼育):1ppmO₃の曝露(6時間)後、0、2.5mg ROFA投与(各n=4)、4群(22℃環境飼育):モノクロタリンを腹腔内投与後、0、0.25、1.0、2.5mgROFA投与(各n=4)とした。

深部体温:すべての条件下で対照群は生理食塩水の気管内投与で深部体温が上昇したが、ROFAを投与した22℃環境下群は濃度依存的に低下した。高濃度ROFAでは遅発性の低体温症も誘発した。10℃環境下群も深部体温は同様の濃度依存性を示したが、22℃環境下よりも影響が大きかった。O₃曝露群でも同様であったが、回復には18時間ほど要し、遅発性の低体温症は誘発しなかった。モノクロタリン処理群では濃度依存的に持続的に体温が下がり続け、致死率も高かった。

心拍数:心拍数の変化はすべての群における深部体温の変化に酷似していた。

不整脈と心電図変化:ROFA曝露によりすべての群でAVブロック等の不整脈発生頻度が濃度依存的に増大し、高濃度曝露では48時間もそれが続いた。O₃曝露群では不整脈は消失した。モノクロタリン処置群はROFA曝露後の不整脈は増大し、4日以上続いた。さらに低体温や頻脈も、STセグメントの持続的抑制や伝導異常による急性心筋障害といった心電図異常と共に観察され、致死率も増大した。

臓器重量:すべての群でROFA投与後に肺重量の増加と炎症、壊死、浮腫が観察された。

ROFAは心機能や体温調節機構に重大な影響を与えることが示唆された。またそれは心肺ストレス下においてさらに重篤な症状を示すことが明らかになった。

Gurgueiraら(2002)は、ラットにCAPs(300±60µg/m³)を1~5時間吸入させ、人工呼吸下に肺、心臓、肝臓の化学発光量(酸化ストレスの指標)を調べたところ、肺と心臓において有意な上昇が認められた。同様の結果がROFA(1.7 mg/m³, 30分)の曝露において認められたが、CB(300 µg/m³, 5時間)では変化は認められなかった。肺の化学発光量は、CAPs中のCa、Mn、Cu、Fe、Znと、心臓の化学発光量は、Si、Al、Ti、Feと相関が見られた。また、肺の障害指標としての乾湿重量比、組織障害指標としての血清LDH、クレアチンホスホキナーゼ活性、肺のMn-SODとカタラーゼ活性、心臓のCu/Zn-SODとMn-SOD活性がCAPsの曝露により上昇した。

Elderら(2004)は、超微小粒子(UFP、UltraFine Particles、Standard Deviation of R-R intervals)が悪影響を引き起こす可能性を調べるためにF344ラットをこれらのUFP(平

均粒子濃度 37~106 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)に曝露した。老齢ラットは、高速道路上において曝露システム(mobile emissions laboratory)を使用し、①エアロゾル<1mm)と気相、②気相、③ろ過空気のいずれかに曝露した。何匹かのラットは、前もって炎症を誘導するため低投与量の菌体内毒素もしくはインフルエンザ・ウイルスで処置した。全身チャンバーでの曝露はロチェスターとバッファローの間で Interstate90 号上の 6 時間の運転期間を一度または 3 日間連続で行われた。肺の炎症に関連する指標、炎症性細胞の活性化、および急性反応は曝露後に測定された。道路上の曝露システムではろ過空気を曝露したラットでは測定指標に影響をあたえなかった。血管内皮細胞活性化の変化を示す血漿エンドセリン (ET)-2 の粒子関連の増加を見いだした。さらに、急性反応と炎症性細胞の活性化に関連する粒子による影響を認めた。また、前もって炎症誘導したラットで高速道路上の粒子との相互作用も見いだされた。これらの結果は、道路上の粒子混合物の曝露は易感染性の老齢ラットの肺と心血管系に影響があることを示している。

Chen と Nadziejko (2005) は、PM への長期曝露がアテローム性動脈硬化症を悪化させることによって有害な心臓血管効果を引き起こすと仮定して、慢性実験を行った。C57 マウス、ApoE^{-/-}マウス (動脈硬化疾患モデルマウス的一种)、DK マウスに対して、CAPs (PM_{2.5}) (ニューヨーク州タキシード (Tuxedo) 由来) を、平均曝露濃度 110 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (C57:110±79 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, ApoE^{-/-}:120±90 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, DK(雄):131±99 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, DK(雌):131±99 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) の濃度で、6 時間/日、5 日/週間の条件で 5 ヶ月間、吸入曝露した。DK マウスの大動脈根の横断面について病変の重症度、細胞性の範囲、および脂質含量を形態学的に検討した。曝露にかかわらず全ての DK マウスにおいて大動脈洞領域の広い範囲に病変を生じ、全領域の 79%以上をカバーした。DK マウス(雄)では、大動脈洞領域の障害は CAPs 曝露によって高められるように見え、その変化は統計的な有意差(p=0.06)に近かった。全体の大動脈を縦(長軸方向)に切開して調べたところ、ApoE^{-/-}マウス、DK マウスの両方に、内腔表面の 40%以上をカバーする重篤なアテローム性動脈硬化症の顕著な部位がみられた。量的測定では、CAPs 曝露が ApoE^{-/-}マウスにおいて識別可能なアテローム性動脈硬化型病変に覆われた大動脈内膜表面の割合を 57%まで増加させた。この研究で、アテローム性動脈硬化型病変を起こしやすいマウスの CAPs への亜慢性曝露が重大な影響を大動脈プラークのサイズ、重症度、および構成成分に与えることを示した。

Chen と Hwang (2005) は、CAPs 曝露による心拍変動(自律神経機能)の変化を観察することを目的として、慢性曝露実験を行った。C57 マウス、ApoE^{-/-}マウスに対して、CAPs(ニューヨーク州由来)を 10 倍濃縮、平均濃度 110 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で吸入曝露した。曝露期間は、6 時間/日、5 日/週の条件で 5 ヶ月間であった。心拍変動は、SDNN(心拍間隔の標準偏差、Standard Deviation of R-R intervals)および RMSSD(RR 間隔の分散)の両者

の異常(曝露期間の最初の6週間:心拍間隔の延長、その後の12週間に短縮、その後のわずかな期間の再度の延長)が見られた。これは心臓自律調節系の曝露初期の亢進およびその後の調節系機能低下を示唆した。汚染物質の濃度レベルの上昇によって心血管系への有害作用をもたらさうる心臓自律神経機能の攪乱を導くことが示唆された。

Lippmann ら(2005a) は、PM_{2.5}曝露による循環器影響を明らかにするために慢性曝露実験を行った。正常 C57 マウスに対して、CAPs(PM_{2.5}) (ニューヨーク州タキシード(Tuxedo)由来)を、平均 110 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、長期平均 19.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の曝露濃度で、6時間/日、5日/週の条件で6ヶ月間曝露した。急性反応としては、① PM曝露されたマウスと対照群の短期の心電図、深部体温、および身体的活動差と、②同時に収集されたPM_{2.5}サンプルの*in vitro*での肺上皮細胞への毒性があった。長期PM_{2.5}への累積反応は心拍数、心拍変動、心拍数分散、大動脈プラーク密度、遺伝子マーカー発現、および脳細胞分布の変化として特徴づけられた。正常なマウスでは有意な変化は全くみられなかった。

Suwa ら(2002)は、動脈病変をもつ動物(ウサギ)におけるPM₁₀の影響を調べた。曝露物質は、オタワ標準粉じん(EHC-93)であり、粒径はPM₁₀ 0.8 \pm 0.4 μm であった。ウサギ(遺伝性高脂血症(WHHL)ラビット) PM₁₀投与群(n=10)、対照溶液群(n=6)に対して、気管内投与を4週間行った。PM₁₀の投与により循環血における多核白血球(PMN)数の増加と骨髄での貯蔵量の増加が観察された。動脈硬化病変の進行とPM₁₀を食食した肺胞マクロファージ数の増加が見られた。

Sun ら(2005)は、ApoE^{-/-}マウスにPM_{2.5}を6ヵ月吸入させ、大動脈のアテローム性動脈硬化について検討した。ApoE^{-/-}マウスに対し、PM_{2.5}を85 mg/m^3 の曝露濃度で、6時間/日、5日/週の条件で6ヶ月間吸入曝露した。高脂食群では大動脈の粥腫面積率はPM_{2.5}群で41.5%、脂肪面積率30%で、それぞれ対照群より有意に大きかった。正常食群ではPM_{2.5}の影響はなかった。フェニレフリン、セロトニンによる動脈収縮率は高脂食群でPM_{2.5}群が対照群に比べて有意に高い値を示した。正常食群では有意差はなかった。アセチルコリンによる動脈弛緩率は高脂食群でPM_{2.5}群が対照群に比べて有意に減少した。これらの実験から、動脈病変をもつApoE^{-/-}マウスでは低濃度PM_{2.5}の長期曝露によって血管運動緊張を変化させ、血管炎症を招き動脈硬化を増強することが示唆された。

Kodavanti ら(2003)は、金属組成が都市部の大気中PMと類似したEPM(oil combustion emission particulate matter)を曝露し、重油燃焼排気による大気汚染の健康影響を調べるため、急性および慢性実験を行った。SDラット、WKYラット、SHRに対し、重油燃焼排気中の粒子状物質(EPM、粒径1.2 μm 、幾何標準偏差2.6)を吸入曝