

露した。連続曝露群では、曝露濃度を 2、5、10mg/m³、6 時間/日として 4 日間の曝露を行った。間欠曝露群では、曝露濃度を 10mg/m³、1 回の曝露を 6 時間/日とし、1 回/週×4 週間又は 16 週間の曝露を行った。この EPM で主要な水溶性の生物活性を持つ金属は Zn のみであった。3 系統ともに肺組織中に粒子を貪食した肺胞マクロファージが認められた。WKY ラットの間欠 16 週曝露群では、清浄空気曝露群と比較して、6 匹中 5 匹で顆粒肥満細胞の減少及び心筋組織に多発性的変性、慢性活動性炎症、および線維化を認めた。SD ラット及び SHR では、清浄空気と EPM 曝露間での心臓病変に明確な違いは認めなかった。本研究では、Zn を含む PM に長期曝露することにより高感受性ラットで心筋障害が生じる可能性を示唆した。但し、SHR では、心筋組織の変化が曝露群と対照群で明確な差を認めなかったが、その理由としては遺伝的素因によるものと思われたと述べている。

Gordon ら(1998)は、モノクロタリンにより肺高血圧症を発症させたラットにニューヨークの CAPs(110~360 µg/m³)を、3 時間鼻部曝露させた。モノクロタリンを投与したラットにおいて曝露終了 3 時間後に血中好中球数の上昇が見られたが、24 時間後には対照群との差はなくなった。モノクロタリンを投与したラットを 360 µg/m³ の CAPs に曝露したところ、BALF 中の総細胞数、タンパク質、LDH 活性が約 2 倍に上昇した。

3.2.3. 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

Elder ら(2007)は、SHR にエンドトキシン処理を行い、実際の道路上大気を吸入曝露し、心臓血管系への影響を検討するため、急性実験を行った。SHR に対して、Interstate 90 号のロチェスター-バッファロー間の 320 マイルの区間の浮遊粒子状物質(粒径 1µm 以下、15~20nm)を吸入曝露した。道路上大気中の浮遊粒子状物質濃度が 1.95~5.62×10⁵ 粒子/cm³(チャンバー内ではなく、導入前の大気濃度)であり、曝露濃度の計算値は、37~106µg/cm³であった。曝露時間は 6 時間/日であった。道路上大気中の浮遊粒子状物質処理による心拍数への影響を検討したところ、エンドトキシン(LPS)の併用処理を行うと心拍数の低下が曝露終了から 14 時間程度認められ、心拍数のサーカディアンリズムをかく乱した。道路上大気中の浮遊粒子状物質単独処理群では曝露終了直後に心拍数の低下は認められたが、その影響は 2~3 時間と LPS 併用処理と比べて短かった。また、副交感神経の活動も ORA 処理により高くなっており、心拍数同様 LPS 併用処理群でその影響は大きかった。さらに、交感神経の活動は反対に低下していた。これらの神経活動が心拍数に影響したと考えられる。以上のことから、本研究では ORA の吸入により自律神経系の活動に影響が生じることが明らかになった。

Wellenius ら(2002)は、心筋梗塞作成ラットについて ROFA 吸入にともなう自律神経系の活動の変化や不整脈について検討するため、急性実験を行った。テレメトリー送信

機を体内装着した心筋梗塞モデルラット(SD ラットの冠動脈を凝固閉塞)に対し、粒子径平均 1.81 μm の ROFA を 3.42 mg/m^3 の濃度で 1 時間の吸入曝露を行った。ROFA 吸入を行った心筋梗塞群では心室性不整脈の増加(41%)と心拍変動の減少が示されたが、目だった徐脈は認められなかった。sham 群では不整脈の増加や心拍変動の変化は認められなかった。

Rhoden ら(2005)は、曝露物質に都市大気粒子(UAP)として標準試料 1649(The National Institute of Standards and Technology, Washington, USA)を用いた曝露実験を実施した。粒径は不明である。テレメーター送信機(心電図、第 I 誘導)を麻酔下で体内に予め埋め込み、回復後の SD ラットに、UAP:750 $\mu\text{g}/300 \mu\text{L}$ saline を気管内投与した(別途 CAPs 吸入も行った)。心臓内の酸化物に対する自律神経興奮の影響を調べるために、イソプロテレノール(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重)、i.v.)、アセチルコリン(3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重)、i.v.)、またはムスカリン(3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (体重)、i.v.)を静脈内投与して、心筋の酸化物量を化学的発光法またはチオバルビツール酸反応物質で計測した。曝露直後に心臓の酸化物の増加と心拍数増加、回復期における心拍変動の増大が認められた。活性酸素種の関与を確認する目的で抗酸化剤である N-アセチルシステインを前処置するとこれらの変化は消失した。UAP による心臓の影響に、交感・副交感神経の経路が関与していることを確認する目的で神経遮断薬を処置したところこれらの変化は消失した。CAPs 吸入曝露によっても同様の変化が見られた。PM 曝露によって自律神経を介した心臓の酸化物の増加による酸化ストレスが心機能の変化に関与していると考えられると述べている。

Vincent ら(2001)は、オタワ標準粉じん(EHC-93)(48 mg/m^3)とそれを水ろ過した EHC-93L (49 mg/m^3)、Diesel soot(DS)(4.2 mg/m^3)、CBP(4.6 mg/m^3)を 4 時間吸入(鼻部)曝露した。EHC-93 曝露後 2 日で血圧が、32 時間でエンドセリン(ET)-1 が、2、32、48 時間で ET-3 がそれぞれ曝露前と比較して有意に上昇した。これに対して EHC-93L では血圧に明確な影響はなかったが、ET-1 及び ET-2 が曝露後 2 時間で曝露前と比較して有意に増加し、ET-3 が有意ではないが 2、24 時間後に増加しその後減少した。DS 曝露では曝露後 32 時間で ET-3 が有意に増加したが血圧への影響はなかった。CBP 曝露ではいずれの指標に関しても明確な影響は見られなかった。EHC-93 粒子の吸入が血漿中の ET-1 及び ET-3 レベルに影響を与え、急性の肺障害がなくても血管収縮が生じる可能性が示された。水ろ過により極性有機化合物や可溶性成分を取り除く(EHC-93L)と、血行力学的影響が認められなかった。大気浮遊粒子の曝露による血漿 ET-1、ET-3 量の上昇について、血圧上昇との明確な相関関係は得られていないものの、ラットで EHC-93 曝露による血清エンドセリン量の上昇と血圧上昇が併行して起こることが示された。

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。

Nightingale ら(2000)は、正常な志願者における Diesel exhaust particles (DEP : ディーゼル排気粒子) の吸入に対する炎症性反応を調べた。DEP は、ディーゼル・エンジンの排気から捕集され、市販の粒子分散器で再浮遊させ曝露チャンバーに導入した。10 人の健康な非喫煙者(男 3 名、女 7 名、平均年齢 28 歳)を空気力学径が $10\mu\text{m}$ 以下 (PM_{10}) の粒子濃度を $200\mu\text{g}/\text{m}^3$ にコントロールした DEP に、または清浄空気に、チャンバー内で、安静下で 2 時間曝露した。曝露後 4 時間に至る痰の誘発と静脈切開と同様に一連のスパイロメトリー、脈拍、血圧、呼出一酸化炭素 (CO) およびメサコリン反応を測定し、曝露後 24 時間目にこれら全ての手技を繰り返した。DEP への曝露後、心血管系パラメーターや肺機能に変化はみられなかった。呼気 CO レベルは DEP 曝露後に増加し、1 時間目に最高となった(空気 : $2.9\pm 0.2\text{ppm}$ [平均 \pm SEM] ; DEP : $4.4\pm 0.3\text{ppm}$; $p<0.001$)。空気曝露後 4 時間と比較すると DEP 曝露後 4 時間では痰中の好中球 ($41\pm 4\%$ 対 $32\pm 4\%$) と myeloperoxidase (MPO) ($151\text{ng}/\text{mL}$ 対 $115\text{ng}/\text{mL}$ 、 $p<0.01$) の増加がみられたが、末梢血中の IL-6、TNF- α および P-selectin の濃度に変化がみられなかった。以上の結果から、高濃度での DEP への曝露は、正常な志願者で気道の炎症性反応をおこすと述べている。

Petrovic ら(2000)は、ハーバード大気粒子濃縮機を用いて、トロントのダウンタウンの大气から濃縮された $\text{PM}_{2.5}$ (CAPs) の健康影響を調べた。4 人の若い健康な非喫煙者(男女各々 2 人、18~40 歳)をろ過空気 (FA) および $23\sim 124\mu\text{g}/\text{m}^3$ の CAPs にマスクを介して鼻呼吸で、安静下で 2 時間曝露した。CAPs は、低 ($31.5\pm 7.9\mu\text{g}/\text{m}^3$)、中 ($52.9\pm 33.9\mu\text{g}/\text{m}^3$)、高レベル ($92.1\pm 24.6\mu\text{g}/\text{m}^3$) に分類し、肺機能、症状報告、炎症性細胞、血液凝固因子および心臓への影響を調べた。CAPs 曝露中の、平均ガス濃度は、 O_3

が 9 ± 8 ppb、 NO_2 が 20 ± 7 ppb であった。曝露後、心臓の影響を増強するために、130 bpm の心拍数を目標に 30 分の運動を行った。その間、心臓の反応を調べた。12 誘導の心電図 (ECG) データの心臓病専門医によるレビューでは、曝露中、曝露後や曝露後 24 時間に臨床的に有意な心臓への影響はみられなかった。高レベルの CAPs 曝露に続いて、運動後に測定された血漿フィブリノゲンは、FA 反応 (2% の平均増加) に比べ曝露前値以上の増加傾向 (10% の平均増加) を示した。統計的に唯一の肺機能への有意な影響 ($p < 0.01$) は、胸腔容量が FA 後の平均 5.6% の増加に比べて高レベルの CAPs 曝露後には平均 6.4% の小さな減少がみられたことであった。しかし、呼吸器症状の増加は伴わなかった。誘発された痰での評価では呼吸器の細胞性炎症性反応はみられなかった。しかし、CAPs 曝露後に鼻洗浄液中の好中球のパーセンテージの増加傾向がみられた。このパイロット研究の結果から、トロントにおける濃縮された大気 $\text{PM}_{2.5}$ のこれらのレベルへの若い健康な志願者の曝露は、有意な急性の健康影響を引き起こさないかもしれないことを示している。 $\text{PM}_{2.5}$ の心肺系の影響をさらに調べるためには、より多くの被験者と感受性のある人々に関する研究がさらに必要であろうと述べている。

Gong ら (2003) は、18~45 歳の 12 人の健康な非喫煙者 (男女各々 6 人、平均年齢 28 歳) と 12 人の喘息患者 (男女各々 6 人、平均年齢 34 歳) を平均濃度が $174 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (範囲 99~224) の微小サイズ ($\text{PM}_{2.5}$) 範囲の濃縮大気粒子 (CAPs) とろ過空気 (FA) に曝露した。2 段式のハーバードのインパクター濃縮機と全身ボディチャンバーを用い、間欠的運動下 (分時換気量が $15 \sim 20 \text{L}/\text{min}/\text{m}^2$ 体表面積の負荷で 15 分の運動と 15 分の安静の繰り返し) で 2 時間曝露した。曝露前後に、症状質問票、血圧、Holter 心電図、動脈血酸素飽和度、スパイロメトリー (FVC、 FEV_1)、採血を行った。血液は、血球数；全身性炎症マーカー [IL-6、IL-8、血清 amyloid A、血漿溶解性 ICAM-1；凝固性マーカー (フィブリノゲン、因子 VII、von Willebrand 因子)、誘発性痰については、総細胞数；細胞分画；気道炎症マーカー [IL-6、IL-8、そして喘息患者では ECP] を調べた。いずれのグループも、FA に比し CAPs 曝露に起因するスパイロメトリーやルーチンの血液学的測定で有意な変化を示さなかった。両方のグループは、曝露後誘発された痰中の CAPs 関連の円柱細胞の減少、血液凝固能および全身性炎症におけるあるメディエーターの僅かな変化、および心拍変動の副交感神経刺激における軽度の増加を示した。収縮期血圧は、FA に比し CAPs 曝露中、喘息患者で減少し、健康者では増加した。心血管系 (呼吸器系ではない) 症状 (眩暈など) は、両方のグループで CAPs 曝露により僅かに増加した。以上の結果から、都市の微小粒子曝露は、CAPs と FA の間の統計的に有意な差をもつ異なった生物学的エンドポイントを引き出し、また血液の炎症および心拍変動における観察された変化は、他の実験室や疫学研究から報告されている呼吸器系よりもむしろ全身的な影響と一致していると結論している。これらの結果を明確にするためには、他の生物学的エンドポイント、PM サイズ・モードやリスク因子を含めたさ

らなる研究が必要であろうと述べている。

Park ら (2005)は、マサチューセッツ州ボストン (米国) およびその近郊で 2000 年 11 月～2003 年 10 月に 497 人の男性(Normative aging study 参加者)を対象として、大気汚染物質と心拍変動の低下として、SDNN、頻脈および徐脈のパワー(高周波成分、低周波成分)、および低周波:高周波比との関係を調べた。大気汚染物質濃度の 4 時間、24 時間、48 時間の移動平均値は、PM_{2.5}(24 時間移動平均値[SD]=11.4 μ g/m³、個数濃度(同 28,942 個/cm³[13,957])、BC(同 0.92 μ g/m³[0.47])であった。交絡要因を調整後、PM_{2.5} の 48 時間移動平均値の SD 相当量(8 μ g/m³)あたり、高周波成分の低下(20.8%, 95%CI: 4.6, 34.2)、低周波:高周波比の増加(18.6%, 95%CI: 4.1, 35.2)が観察され、O₃ の 4 時間移動平均値の SD 相当量(13ppb)あたり、低周波の低下(11.5%[同:0.4-21.3])が観察された。この傾向は虚血性心疾患、高血圧を有するもので顕著であった。SDNN および低周波と PM_{2.5} の関連は糖尿病を有するもので強く、低周波と O₃ および PM_{2.5} の関連は Ca 拮抗薬、 β 遮断薬を使用するもので減弱した。

Liao ら (1999)は、26 人の年配(平均年齢 81)の個人に対し、粒子状物質の日変化による心臓の自律神経反応への影響を調べた。被験者の住居の屋内の PM_{2.5} と、野外の PM_{2.5} および PM_{2.5-10} について、24 時間の平均的な粒子状物質濃度を測定した。休息状態で 6 分間の R-R 波のインターバルデータを測定した。心臓の自律神経系の指標として、心拍変動の高周波成分 (HRV-HF) と低周波成分 (HRV-LF) および R-R 間隔の標準偏差 (SDNN)を測定した。HRV-HF が、被験者個人の高周波成分の分布における最初の三分位値よりも低下した日を、その被験者独自の心拍変動の低い日とした。また、屋内の PM_{2.5} 濃度が 15 μ g/m³ 以上になった日を高曝露日とした。高曝露日における HRV-HF 低下が発生するオッズ比(95%信頼区間)は 3.08(6.59-1.43)であった。屋内の PM_{2.5} 濃度とした HRV-HF、HRV-LF および SDNN との定量的関連性を評価するためのモデルから求めた *ss-coefficients* は、それぞれ -0.029(0.010)、-0.027(0.009)、および -0.004(0.003)であった。PM_{2.5} の日変化に対する心臓の自律神経系による調整に関し、本研究では、PM_{2.5} 濃度の増加は心臓の自律神経系の調整に関連していることを示しており、粒子状物質と循環器系疾患による死亡率との関連性について示唆している。

Creason ら (2001)は、ボルチモアの 56 人の年配(平均年齢 82)の非喫煙者の心拍数変動性(HRV)を 24 日間観察した。研究期間の天候は温和であり、粒子物質(PM_{2.5})の濃度は 50 μ g/m³ より低かった。環境中の平均的な PM_{2.5} 濃度と心拍変動の高周波成分(HRV-HF) と負の相関が示された。24 日間すべての研究期間に対する混合効果分析の結果は、年齢、性別、心血管系の状態、傾向、気温、湿度、自己相関の残差などを調節すると、屋外の PM_{2.5} 濃度と HRV-HF の間に弱い負の関係を示し (PM_{2.5} の 10 μ g/m³ 増分に対し HF

HRV ログ変換値は-0.03 変動する)、24 日間のうち一部のデータを除外すると、関係はより強くなった(同 -0.07、95%CI: -0.13~-0.02)。1~4 時間の PM_{2.5} の急性曝露は、24 時間単位で観測した結果よりも強い関係を示さず、ラグを考慮しても 24 時間単位で測定した結果よりも強い相関はみられなかった。この結果は、PM_{2.5} への曝露によって高齢者の心拍変動が減少するという従来の結果と一致していた。

Holguin ら (2003) は、メキシコシティ (メキシコ) の介護施設に住む人のボランティア 34 人 (喫煙者、ペースメーカー装着者または不整脈あり、平均年齢 79 歳、男性 44%) を対象として、大気汚染物質と心拍変動との関係を調べた。2000 年 2 月 8 日~4 月 30 日まで心拍変動を 1 日おきに、午前 8 時~午後 1 時までの間で 5 分間測定し、周波数により高周波成分 (HRV-HF、0.15-0.40Hz)、低周波成分 (HRV-LF、0.04-0.15Hz) 別に検討した。高周波成分に関して、PM_{2.5} と心拍変動との間に有意な負の関係 (10 μ g/m³ の PM_{2.5} 上昇で、HRV-HF が 5% 減少) が見られた。その関係は高血圧有症者に限ると、より大きな減少 (7%) が見られた。O₃ については、高血圧患者で HRV-HF との間に有意な負の関係が認められていたが、PM_{2.5} と O₃ を同時に組み込んだモデルでは関係は見られなかった。その他の汚染物質と心拍変動との間に関係は見られなかった。

Liao ら (2004) は、1996~98 年に米国 Atherosclerosis Risk in Communities Study の対象者 (45~64 歳) について大気汚染と心拍変動との関係を検討した。心拍変動に関連する循環器疾患危険因子、湿度、気温、季節、人種、社会経済因子を調整後、PM₁₀ 濃度-SD 上昇 (11.5 μ g/m³) に関する偏回帰係数は、高周波成分 (HRV-HF、0.15-0.40Hz) では-0.06 (SE: 0.018)、低周波成分 (HRV-LF、0.04-0.15Hz) では-1.03 (SE: 0.32)、そして心拍数 (拍数/分) に対しては 0.32 (SE: 0.158) であった。同様に結果がガス状物質に対しても認められた。

3.2.4. 血液の凝固線溶系への影響がみられる

Sjogren (1997) は、粉じんへの職業曝露と虚血性心疾患(虚血性心疾患)との関係についてまとめた。砒素、アスベスト、ベリリウム、鉛、多環芳香族炭化水素、石英への曝露に関する文献をレビューした。選択した職業は、農業従事者、紙・紙パルプ労働者、林業従事者、溶接工であった。都市大気中の粒子状物質による大気汚染が、肺胞の炎症を引き起こし、メディエーターの放出が高感受性のヒトにおける血液凝血性を高め、循環器に関連する死亡を引き起こすという仮説が、1995 年に示された。このレビューでは、この仮説を拡大し、職業性曝露と虚血性心疾患の発生とを関連付けて検討した。その結果、この仮説を立証するためには、喫煙習慣など、その他の想定される関連因子をコントロールした条件で、粒子に曝露された作業者と曝露されていない作業者について、フ

ィブリノゲン濃度を比較するなどの方法で検証する必要がある。

Gardner ら (2000) は、雄の Sprague-Dawley ラット (60 日齢)、1 群 6 匹) に 0.3, 1.7, 8.3 mg/kg の重油燃焼飛散灰 (ROFA)、あるいは 8.3 mg/kg のセントヘレナ山の火山灰 (MSH, median count diameter $1.4 \mu\text{m}$) を気管内投与した。ROFA は、Florida の発電所燃焼炉下流の研究所で採集した (mass mean aerodynamic diameter $1.95 \mu\text{m}$)。投与 24 時間後に静脈血を採血し、活性化された APTT (thromboplasmin time)、PT (Prothrombin Time)、PF (Plasma Fibrinogen)、PV (Plasma Viscosity)、CBC (Complete Blood Count) を測定した。ROFA 曝露では、APTT、PT ともに影響が認められなかったが、PF の有意な増加が 8.3 mg 曝露群でのみ観察された。PV 値の増加も ROFA と MSH 曝露で認められたが、有意差はなかった。フィブリノゲンは、心肺疾患のリスク要因となることが報告されており、APTT、PT には有意差が認められなかったものの血液学的な指標は、粒子状物質による炎症性反応の指標として、特に心血管系リスクの高い集団に対して有効であるのかもしれないと述べている。

Kodavanti ら (2002) は、WKY ラットと SHR に ROFA (MMAD $1.3 \mu\text{m}$ 以下、曝露時間 WKY ラット: 6 時間/日、3 日/週、1 週間、4 週間、SHR: 6 時間/日、3 日/週、1 週間、2 週間、4 週間、曝露濃度 $15 \text{ mg}/\text{m}^3$) を鼻部吸入及び気管内投与し、心肺血管系への影響を検討した。ROFA は SO_4 、Zn、Ni、Fe、V を含んでいた。

鼻部吸入及び気管内投与いずれにおいても ROFA 曝露による体重変動は認めなかった。肺病理は重傷度を数値化した指標で評価した。肺泡マクロファージの集積は肺の病巣や肺の広い範囲でみられ、中隔肥厚と関連した肺胞炎がみられた。気管支上皮の肥大と単核細胞の血管周囲への浸潤を認めた。BALF の評価では、気管内投与では、WKY ラット及び SHR 共に投与量の増加に従いアルブミン、LDH 活性、好中球数は有意に増加したが、5 mg 投与群では投与後 2 日目でも有意な高値を示した。グルタチオンは WKY ラットのみ 5 mg 投与群で有意に増加し、投与後 2 日目でも有意な高値を示した。鼻部吸入では、WKY ラット及び SHR 共にアルブミン、LDH 活性、好中球数は清浄空気群に比べ曝露群で有意に増加し、曝露期間が長くなるに従い増加傾向が認められ、WKY ラットに比べ SHR でアルブミンの有意な増加を観察した。グルタチオンは 1 週間曝露の WKY ラットでのみ有意に増加した。

血液の評価では、気管内投与では、血漿フィブリノゲンが WKY ラット、SHR 共に 5 mg 投与群で有意に増加し、投与後 1~2 日間高値を示したがその後減少した。鼻部吸入では、血漿フィブリノゲンは SHR のみ曝露群で有意に増加したが、曝露期間が長くなるに従い減少傾向が認められた。白血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット値、好中球数は、気管内投与及び鼻部吸入いずれにおいても非曝露群では WKY ラットに比べ SHR で高い傾向を示した。ヘマトクリット値は、気管内 5 mg 投与 WKY ラットでのみ

最初の2日間、非曝露群と比較し有意な増加を示したが、その他の指標には曝露影響を認めなかった。血小板数はWKYラット及びSHRで有意な変化を認めなかった。血漿粘度は、清浄空気群ではWKYラットとSHRで類似した値を示したが、気管内5mg投与群ではWKYラットに比べSHRで有意に増加した。

これらの結果から、SHRではPM曝露が肺障害及び酸化ストレスと関連する急性の血栓形成反応を引き起こす可能性が示唆された。この結果は、心臓に疾患を持つヒトにおけるPM曝露と心血管疾患との関連性を示唆する疫学的結果と一致するものであると述べている。

Ulrichら(2002)は、O₃で前処理したWistarラット(雄)に濃縮したオタワ標準粉じん(EHC-93、平均粒径0.5 μ m)を気管内投与した。O₃による前処理の条件は0.8ppm、8時間とした。O₃処理の16時間後にEHC-93の曝露を行った。曝露後2、4、7日後の気管肺胞洗浄液、血液検査(炎症に関する指標、白血球数、各種サイトカイン、フィブリノゲン値など)、肺・心臓組織中の各種サイトカイン mRNA(リアルタイムPCR、Polymerase Chain Reaction)を調べた。結果として、1)炎症の指標としたBALF中のタンパク質濃度は、2、4、7日後のいずれの観察においても3倍に増加した。曝露2日後のBALF中のTNF- α は、4倍に上昇した。2)肺組織障害の指標として、エンドセリン mRNAの60%低下(肺内の血管内皮障害)、曝露2日後のiNOS mRNAの3.5倍増加(肺組織における曝露後のNO産生メカニズムを示唆)などが認められた。3)血液中のフィブリノゲン値の20%上昇(血液濃縮および血流障害を示唆)が見られた。

GhioとHuang(2004)のレビューによると、疫学研究は、粒径0.1~2.5 μ mの微小粒子状物質(PM)が、ヒトの健康に対して影響を及ぼすことを示唆した。大気中微小粒子状物質の濃縮装置は、僅かな質的な変化で環境中の微小粒子状物質を濃縮する技術である。濃縮装置の利点は、濃縮された粒子状物質(CAPs)が、現実の環境に基づくものであり、大気中微小粒子状物質の適切な曝露を行うことが可能なことである。制限事項として、粒子状物質の量と構成成分の変異性と、データを解析するための統計的手法に関する何らかの不確実性を含んでいることが挙げられる。

多数の初期の調査において得られた結果は、人間と動物の両方で安全にCAPsへの曝露実験が可能であることを示した。ヒトに対するCAPs曝露研究により、血液成分の指標と心拍変動において、急性肺炎に関連する変化が認められた。動物実験の結果は、潜在的な肺炎症状の発生を示唆した。血液成分の変異、心臓における特定のエンドポイントの変化、そして、特定のモデル動物において感受性が高まることを示した。これらの研究は、微小粒子状物質の曝露と、呼吸器や循環器系における有害な健康影響との間にみられる因果関係の確認に至った。さらに、CAPsに含有されている特異的成分が、これらの組織に特異的に影響を及ぼすことが示唆された。

Petrovic ら(2000)は、ハーバード大気粒子濃縮機を用いて、トロントのダウンタウンの大気から濃縮されたPM_{2.5} (CAPs) の健康影響を調べた。4人の若い健康な非喫煙者(男女各々2人、18~40歳)をろ過空気(FA)および23~124μg/m³のCAPsにマスクを介して鼻呼吸で、安静下で2時間曝露した。CAPsは、低(31.5±7.9μg/m³)、中(52.9±33.9μg/m³)、高レベル(92.1±24.6μg/m³)に分類し、肺機能、症状報告、炎症性細胞、血液凝固因子および心臓への影響を調べた。CAPs曝露中の、平均ガス濃度は、O₃が9±8ppb、NO₂が20±7ppbであった。曝露後、心臓の影響を増強するために、130bpmの心拍数を目標に30分の運動を行った。その間、心臓の反応を調べた。12誘導の心電図(ECG)データの心臓病専門医によるレビューでは、曝露中、曝露後や曝露後24時間に臨床的に有意な心臓への影響はみられなかった。高レベルのCAPs曝露に続いて、運動後に測定された血漿フィブリノゲンは、FA反応(2%の平均増加)に比べ曝露前値以上の増加傾向(10%の平均増加)を示した。統計的に唯一の肺機能への有意な影響(p<0.01)は、胸腔容量がFA後の平均5.6%の増加に比べて高レベルのCAPs曝露後には平均6.4%の小さな減少がみられたことであった。しかし、呼吸器症状の増加は伴わなかった。誘発された痰での評価では呼吸器の細胞性炎症性反応はみられなかった。しかし、CAPs曝露後に鼻洗浄液中の好中球のパーセンテージの増加傾向がみられた。このパイロット研究の結果から、トロントにおける濃縮された大気PM_{2.5}のこれらのレベルへの若い健康な志願者の曝露は、有意な急性の健康影響を引き起こさないかもしれないことを示している。PM_{2.5}の心肺系の影響をさらに調べるためには、より多くの被験者と感受性のある人々に関する研究がさらに必要であろうと述べている。

Gong ら(2003)は、18~45歳の12人の健康な非喫煙者(男女各々6人、平均年齢28歳)と12人の喘息患者(男女各々6人、平均年齢34歳)を平均濃度が174μg/m³(範囲99~224)の微小サイズ(PM_{2.5})範囲の濃縮大気粒子(CAPs)とろ過空気(FA)に曝露した。2段階式のハーバードのインパクト濃縮機と全身ボディチャンバーを用い、間欠的運動下(分時換気量が15~20L/min/m²体表面積の負荷で15分の運動と15分の安静の繰り返し)で2時間曝露した。曝露前後に、症状質問票、血圧、Holter心電図、動脈血酸素飽和度、スパイロメトリー(FVC、FEV₁)、採血を行った。血液は、血球数；全身性炎症マーカー[IL-6、IL-8、血清 amyloid A、血漿溶解性 ICAM-1；凝固性マーカー(フィブリノゲン、因子VII、von Willebrand 因子)、誘発性痰については、総細胞数；細胞分画；気道炎症マーカー[IL-6、IL-8、そして喘息患者では ECP]を調べた。いずれのグループも、FAに比しCAPs曝露に起因するスパイロメトリーやルーチンの血液学的測定で有意な変化を示さなかった。両方のグループは、曝露後誘発された痰中のCAPs関連の円柱細胞の減少、血液凝固能および全身性炎症におけるあるメディエーターの僅かな変化、および心拍変動の副交感神経刺激における軽度の増加を示した。取

縮期血圧は、FA に比し CAPs 曝露中、喘息患者で減少し、健康者では増加した。心血管系（呼吸器系ではない）症状（眩暈など）は、両方のグループで CAPs 曝露により僅かに増加した。以上の結果から、都市の微小粒子曝露は、CAPs と FA の間の統計的に有意な差をもつ異なった生物学的エンドポイントを引き出し、また血液の炎症および心拍変動における観察された変化は、他の実験室や疫学研究から報告されている呼吸器系よりもむしろ全身的な影響と一致していると結論している。これらの結果を明確にするためには、他の生物学的エンドポイント、PM サイズ・モードやリスク因子を含めたさらなる研究が必要であろうと述べている。

Huangら(2003)は、CAPsに2時間曝露された正常者が、肺の好中球性炎症を進展し、血中フィブリノゲンの増加を示すことを以前に示した(Ghioら、2000)が、本研究は、CAPs中の可溶性成分が、これらの変化にどのように寄与しているかを調べることにした。ろ過空気またはCAPsの何れかに曝露された以前の研究(Ghioら、2000)から37人の若い健康な非喫煙者(男35人、女2人、平均年齢26.2歳)に関するデータを再解析した。大気粒子は、Harvard/EPAの濃縮機を用いてChapel Hillの大気から取り入れ、0.1~2.5 μm の粒径の粒子を曝露室の入口で6~10倍に濃縮した(CAPs濃度:23.1~311.1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)。間欠的運動下(分時換気量が25L/min/m²体表面積の負荷で15分の運動と15分の安静の繰り返し)で2時間曝露した。曝露前および曝露後の静脈血サンプルと同様に曝露後のBAL(BronchoAlveolar Lavage)について、細胞性および急性炎症エンドポイントについて解析した。CAPsの水溶性分画中の9つの最も豊富な成分(V、Fe、Ni、Cu、Zn、As、Se、Pb、SO₄)を定量化し、主成分分析を用いて、これらの溶解成分濃度とBALFと末梢血の細胞性と生化学的エンドポイントを相関させた。硫酸塩/Fe/Se因子は好中球のBALパーセンテージの増加と、またCu/Zn/V因子は血中フィブリノゲンの増加と関連していた。硫酸塩、FeおよびSeの濃度は、PM質量と高度に相関($R>0.75$)し、PMとCu/Zn/Vとの相関は大きくなかった($R=0.2-0.6$)。ヒトの調整された曝露からの結果は、PMの特異的成分と肺の好中球の流入および血中フィブリノゲン増加と関連付けし、汚染粒子の溶解成分が、PMに曝露されたヒトにおける肺と血液系に特異的に影響を与えるかもしれないことを示していると述べている。

3.2.5. 心機能変化において呼吸器系の刺激が影響する

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 μm より小さかった。ハロー

セン麻酔下でPM_{2.5}を2.0mg/0.3 mL 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。

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、O₃曝露はn=4、対照はn=3):1ppmO₃の曝露(6時間)後、0、0.25mgROFA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、2.5mgROFA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。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℃、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 2.5mg、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ー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、Fe₂(SO₄)₃、NiSO₄、VSO₄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、②0.105mg Fe₂(SO₄)₃、③0.263mg NiSO₄、④0.245mg VSO₄、2群(モノクロタリン処置群、各n=10):①生理食塩水投与、②0.105mg Fe₂(SO₄)₃、③0.263mg NiSO₄、④0.245mg VSO₄、3群(モノクロタリン処置・金属混合群、各n=6):①Fe₂(SO₄)₃+VSO₄、②Fe₂(SO₄)₃+NiSO₄、③NiSO₄+VSO₄、④Fe₂(SO₄)₃+NiSO₄+VSO₄とした。