

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。

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 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 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、冠動脈閉塞動物で 71.8~741.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 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。

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。

Hwang ら (2005) は、粒子径平均 389 ± 2 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 ~ $153 \mu\text{g}/\text{m}^3$) 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 分の間の 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適用しうる優れた方法であることが明らかになった。

Nadziejko ら (2004) は、老齢ラットにおける CAPs 急性曝露の心機能影響を明らかにするため、F344 ラット (18 ヶ月齢) に対し、CAPs (ニューヨーク州由来)、超微小カーボン粒子と SO₂ を曝露した。曝露濃度は、CAPs で $161 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、超微小カーボン粒子で $500 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $1,280 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、SO₂ で 1.2 ppm であった。曝露時間を 4 時間とした。18 ヶ月齢を超えた老齢ラットは、若いラットに比べ不整脈が頻発するようになった。ここでは老齢ラットにテレメーターを埋め込み、CAPs の影響を調べた。曝露前に心電図を記録し、曝露終了後 24 時間の心電図と比較することにより曝露した物質の直接的影響を調べた。CAPs を曝露したラットに於いて遅延あるいは不規則性拍動が有意に認められた。しかし、超微小カーボン粒子や SO₂ の曝露では自発性の不整脈の発現頻度には影響がみられなかった。一方、心室性不整脈はどの曝露群においても変化は見られなかった。本研究の結果は、濃度レベルが上昇している PM への急性曝露によって不整脈の発生が高まるということをさらに支持した。

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 μ m の ROFA を、3mg/m³ 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。

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(ORA)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 1 μ m 以下、15~20nm)を吸入曝露した。ORA 濃度が 1.95~5.62 $\times 10^5$ 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、37~106 μ g/cm³ であった。曝露時間は 6 時間/日であった。ORA 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。ORA 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。

3.2.6. 微小粒子(粒子中成分)は血液中に浸出し血液系に影響を及ぼす

Gurgueira ら(2002)は、ラットに CAPs(300 \pm 60 μ g/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 μ g/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。

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 μ g/300 μ 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 μ g/kg(体重)、i.v.)、アセチルコリン(3 μ g/kg(体重)、i.v.)、

またはムスカリン(3 μ g/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。

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/0.3 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。

3.2.7. 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

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/0.3 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。

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 µg/m³、CO(一酸化炭素)を 35ppm、CAPs を 348.4µg/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 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 93.7~1,055.8µg/m³、冠動脈閉塞動物で 71.8~741.2µg/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 0.8~0.4µm でレンジは <3µm であり(Bagate ら,2004) Bagate ら (2004)、構成は Gerlofs-Nyland ら(2005)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)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 μ M)、PM(100 μ g/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 μ g/m³、硫酸エアロゾル:平均 225 μ g/m³、硫酸微小粒子:468 μ g/m³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 0.1~0.2 μ m(空気力学的直径)の DE を、0、30、100、300、1,000 μ g/m³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 5bpm で、曝露群のそれは 290 \pm 7bpm 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、O₃ 曝露は n=4、対照は n=3): 1ppmO₃ 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。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 2.5 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。

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℃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。

Chengら(2003)は、肺高血圧症モデルラットにおけるCAPs曝露の循環器影響を調べるために急性曝露実験を行った。モノクロタリン(60mg/kg(体重))投与による肺高血圧ラット(SD)に、テレメトリー送信機を装着し、CAPsを $108\sim 338\mu\text{g}/\text{m}^3$ (9日平均 $240\pm 77\mu\text{g}/\text{m}^3$)の濃度で、5時間/日、3連続日の条件で曝露した。ラットにモノクロタリンを腹腔内投与し肺高血圧を惹起させた。その14日後に、テレメトリーシステムをラットに移植し、CAPsを吸入曝露した。継続的に、心拍数、血圧、深部体温を記録した。CAPs曝露時の心拍数は、曝露開始後の早期には清浄空気曝露時と比較して低くなり、その後徐々に増加し、清浄空気曝露時よりも高くなった。1時間後には14.9bpm、2時間後には11.7bpmの心拍数低下が見られた。血圧も同様の経過を示し、1時間後には3.3mmHg、2時間後には4.1mmHgの低下が認められた。しかし、これらの変化と粒子濃度の間には有意な相関は得られなかった。本研究では大気微小粒子は血圧および心拍数に影響することが明らかになった。

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ノーマウスに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ノーマウスに心電図、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分の間の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ノーマウスでは心拍、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ノーマウスの心拍、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。肺胞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。

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 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 $93.7 \sim 1,055.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、冠動脈閉塞動物で $71.8 \sim 741.2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 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。

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。

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