

## (6) PM<sub>2.5</sub> 抽出物が若齢、老齢及び高血圧ラットの心肺機能及び肺組織・血管系に及ぼす影響に関する研究

### 要旨

PM<sub>2.5</sub>抽出物、ディーゼル排気粒子状物質 (DEP) 抽出物及び抽出溶媒 (Control) の単回気管内投与による心肺機能と心肺組織・血管系への影響について調査した。

#### ○若齢ラット

PM<sub>2.5</sub>抽出物、DEP 抽出物単回投与により、初期に軽度の局所炎症を引き起こされた可能性が推測されたが、その影響は心肺機能 (自律神経系も含む) 及び肺構築に影響を及ぼすほど重度の急性障害や炎症反応ではないことが示唆された。

#### ○老齢ラット

PM<sub>2.5</sub>抽出物、DEP 抽出物単回投与は、初期に肺組織で軽度の局所炎症を引き起こし、PM<sub>2.5</sub>抽出物投与群で心房筋 Arterial Natriuretic Polypeptide (ANP) mRNA の上昇傾向を認めたが、心肺機能 (自律神経系も含む) 及び心肺構築に著しい変化を及ぼすほどの影響ではないことが示唆された。

#### ○高血圧ラット

PM<sub>2.5</sub>抽出物、DEP 抽出物単回投与約 20 時間後の 3 時間 0.4ppm オゾン曝露は、曝露中に心拍数の軽度な低下を引き起こし、その影響は 24 時間後まで持続した。この効果には個体差が見られ、血圧、自律神経系への影響は非常に軽度であった。

### (6. 1) 背景・目的

PM<sub>2.5</sub>の短期曝露が、心肺疾患の罹患率や一日当たりの死亡率を上昇させるという疫学成績が欧米をはじめとして各国で報告されている。死因に急性心不全が挙げられていることから、潜在的な心疾患や肺疾患の関与が示唆され、その機序として心臓器質の障害よりもむしろ恒常的機能を支配する自律神経領域の不安定さが、引き金になっている可能性が示唆されている。しかしながら、PM<sub>2.5</sub>の病態生理との関連性やその作用機序の詳細については、未だほとんど解明されていないのが現状である。これまでの疫学及び動物研究の知見から、PM<sub>2.5</sub>に対する高感受性群として、乳児、幼児、高齢者、心肺疾患有症者が挙げられているが、その点についても未だ十分な裏付けはなされていない。そこで、高感受性群としての若齢ラット (10~11 週齢)、老齢ラット (23~24 ヶ月齢) 及び食塩感受性高血圧ラットを用いて、大気中微小粒子状物質及びディーゼル粒子の有機物抽出溶媒を気管内に投与して、心肺機能と肺組織・血管系の炎症応答に対する影響について検討した。

### (6. 2) 方法

#### (6. 2. 1) 実験動物

##### 1. 若齢ラット

8 週齢の雄性 F344, SPF ラットを日本チャールス・リバーより購入し、1 群 8 匹となるように無作為に群分けを行い実験に供した。実験プロトコルを図 2.6.2-1 に示した。

##### 2. 老齢ラット

雄性 18 ヶ月齢以上の F344, SPF ラットを日本チャールス・リバーより購入し、清浄空気下の特別動物飼育施設で、20 ヶ月齢まで飼育した。1 群 8~10 匹となるように無作為に群分けを行い実験に供した。なお、実験プロトコルを図 2.6.2-1 に示した。個々の老齢ラットの状態を把握するために、屠殺時に脾臓、左右腎臓を摘出し、目視下で観察すると共に、体重量当たりの臓器重量を算出した。その結果を元に、異常値を示す動物から得られたデータは削除した。

##### 3. 食塩感受性高血圧ラット

同一ロットの 5 週齢 Dahl-Iwai 食塩感受性ラットは、予備飼育後 6 週齢より 8%食塩飼料を用いて 11 週齢まで特別動物飼育施設の清浄空気下で飼育した。1 群 4 匹となるように、無作為に群わ

けを行い実験に供した。収縮期血圧は、Control 群、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群でそれぞれ、165.8±4.4、178.0±16.7、175.0±5.8 mmHg であった。なお、実験プロトコルを図 2.6.2-1 に示した。

### (6. 2. 2) 実験方法

心機能測定用動物は、気管内投与 2~4 週間前にペントバルビツール麻酔下 (25mg/kg) で無菌的にテレメトリーセンサーの装着手術を行った。血圧測定用カニューレは、腹部下行大動脈に挿入固定し、ECG 測定用電極は、右肩と左足部の皮下に固定した。腹部には、核心温度センサーと送信機の埋め込みを行った。術後 2~4 週間安静状態下で飼育し、縫合部の回復を確認後、気管内投与実験やオゾン曝露実験を行った。照明は、明期が午前 7 時から午後 7 時まで、暗期が午後 7 時から翌朝午前 7 時までの 12 時間サイクルとした。試験試料は、halothane またはエーテル麻酔下で 1 匹当たり試験試料 3mg/0.2 ml/kg body weight をツベルクリン用ディスポーザブル注射器を用いて気管内に投与した。

食塩感受性高血圧ラットには、試験試料投与約 20 時間後の午前 9 時から 12 時まで、曝露チャンバー内でオゾン発生装置 (柴田科学) を用いて 0.4ppm オゾンを 3 時間曝露した。ラットの生体信号は、気管内投与前 3 日前から投与 3~9 日後まで継続的に受信機を介してコンピュータに送信し、ハイエンドデータ取得、実時間解析システム等によって Heart Rate Variability (HRV)、R-R 間隔などの計測を行なった。測定項目としては、心拍数、血圧、呼吸数、核心温度及び自律神経系への影響を把握するために HRV 解析を行った。HRV 解析では、Low Frequency (LF) power は 0~0.6Hz、High Frequency (HF) power は 0.9~1.6Hz とした。測定終了後、ネンブタール麻酔下で右心室より採血を行い、心肺組織の一部は RNA 抽出用として速やかにアイソジェン液に採取して-30℃で保存した。

気管支肺胞洗浄は、主気管より PBS4ml/100g 体重を 20cmH<sub>2</sub>O 圧で注入し、右肺気管支肺胞腔を 3 回洗浄した。肺組織は、4%ホルマリン・緩衝液を用いて 20cmH<sub>2</sub>O 圧で固定し、薄切切片を作成して HE 染色によって病理学的検討を行った。

### (6. 2. 3) 呼吸パターンの測定

テレメトリーセンサー装着動物は、試験試料の気管内投与前、投与 24 時間後に無麻酔、無拘束下で body plethysmography によって呼吸数、一回換気量、分時換気量を測定した。

### (6. 2. 4) 血液・気管支肺胞洗浄液の生化学的検討

気管内投与 1 日後または 6 日後に、気管支肺胞洗浄液 (BALF) の採取と右心室より採血を行い、BALF 中の細胞数、細胞分画像、総蛋白量及び血液中の細胞数、細胞分画像を検討した。

### (6. 2. 5) 心肺疾患関連指標の分子生物学的検討

定法に従い、心及び肺組織の RNA 抽出を行い、心疾患及び炎症関連指標の遺伝子レベルでの発現量について RT-PCR 法によって検討した。発現量は、Agilent 2100 Bioanalyzer を用いて半定量した。

### (6. 2. 6) データ解析

t-検定、ANOVA、ノンパラメトリック検定法により解析し、p 値が 0.05 以下を有意差ありとした。

## (6. 3) 結果

### (6. 3. 1) 心機能への影響

若齢ラット、老齢ラット、高血圧ラットでは、全実験期間を通して心拍数、血圧、核心温度いずれの指標も明確な 24 時間サイクルの日内変動を示した。9 時から 12 時の平均値で検討した場合、若齢ラット、老齢ラットの気管内投与 24 時間前後での R-R 間隔又は心拍数、血圧、核心温度の

指標は、Control 群、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で明確な変動は示さなかった（表 2.6.3-1）。

高血圧ラット Control 群では、オゾン曝露により各種指標の明確な変動を認めなかったが、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群では、心拍数、血圧が低下傾向を示し、その傾向はオゾン曝露 24 時間後にも観察された。しかしながら、個体差が大きく有意な変動ではなかった（表 2.6.3-1）。

明期、暗期に分割して比較した場合にも、若齢、老齢動物では気管内投与の影響は投与 2 日後まで著しい変化を認めなかった（表 2.6.3-2~5）。高血圧ラットでは、1 日目でオゾン曝露を行っているが、暗期、明期の 2 分割で比較した場合には 3 群間で明確な差を認めないことから、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で観察されたオゾン曝露による心拍数の低下は一過性のものである可能性が示唆された。（表 2.6.3-6~7）。

自律神経系への影響として、本実験では LF、HF 及び LF/HF 比を算出して比較した。LF は交感神経及びその他の成分、HF は副交感神経、LF/HF は自律神経の安定性を示している。試験試料の気管内投与前後 48 時間で比較した LF、HF 及び LF/HF の値は、Control 群、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で明確な差は認めなかった。また、R-R 間隔又は心拍数及びその SDR-R 値（R-R 間隔の SD 値）にも明確な影響を認めなかった（表 2.6.3-2~7）。不整脈数は、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群共に対照群と比較して著しい出現数の増加は認めず、昼夜間での発生頻度にも群間差は認めなかった。

### （6. 3. 2）呼吸パターン（表 2.6.3-8~9）

若齢ラットと加齢ラットでは、気管内投与前後の呼吸パターンには 3 群共に有意な変動は認めず、また群間差も認めなかった。

### （6. 3. 3）BALF 分析（表 2.6.3-10~11、13）

若齢ラットでは、気管内投与 6 日後と 9 日後の BALF 中の総蛋白量に群間差は認めなかったが、総細胞数が Control 群に比較して気管内投与 6 日後に PM<sub>2.5</sub> 抽出物群と DEP 抽出物群でやや高値を示した。細胞分画像では、炎症細胞の明らかな増減は認めなかった。

老齢ラットの総蛋白量は、実験期間を通して 3 群間に明らかな差を認めなかった。総細胞数は、3 群間に有意差を認めなかったが、全ての群で気管内投与 1 日後の BALF 中に好中球とリンパ球を認め、Control 群に比較して DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で好中球が高値を示した。しかしながら、投与 6 日後には 3 群ともに BALF 中に炎症細胞は認めなかった。

高血圧ラットの BALF 中での炎症細胞の出現率は 1~2%以下で、そのほとんどは肺胞マクロファージであり、3 群間に明確な差は認めなかった。

### （6. 3. 4）血液分析結果（表 2.6.3-10、12~13）

若齢ラットの循環血液細胞分析では、気管内投与 9 日後の DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で Control 群に比しやや血小板数の増加傾向を認めた。

老齢ラットの、白血球数には 3 群間に明確な差を認めなかった。Red Blood Cell (RBC) と platelet 数は、DEP 抽出物群の投与 6 日後に高値を示した点を除けば、3 群間に明らかな差は認めなかった。

高血圧ラットでは、White Blood Cell (WBC) が DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群でやや高値を示したが、Control 群と比較して有意差は認めなかった。細胞分画像にも 3 群間に明確な差は認めなかった。

### （6. 3. 5）心組織での心不全関連 ANP、Brain Natriuretic Peptide (BNP) mRNA 発現（表 2.6.3-14）

若齢ラットの気管内投与 6 日後の心房 ANP mRNA の発現量は、Control 群と比較して DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で有意に減少した。心室 ANP mRNA 発現量も DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で減少したが、Control 群での個体差が大きいため有意な差とはならなかった。心房 BNP mRNA 発現量は DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で増加傾向を、心室 BNP mRNA は減少傾向を示したが、いずれも Control 群と比較して有意な差ではなかった。

老齢ラットの心房 ANP mRNA 発現量は、気管内投与 1 日後に PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で高値を示したが、個体差が大きく Control 群との間に有意差は認めなかった。気管内投与 6 日後では、DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で発現量の減少を観察したが、Control 群での個体差が大きく有意差は認めなかった。心室 ANP mRNA 発現量には 3 群間に有意差は認めなかった。一方、心房 BNP mRNA は、DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で気管内投与 1 日後に発現量の低下傾向を、気管内投与 6 日後に増加傾向を示したが、Control 群との間には有意差は認めなかった。心室 BNP mRNA 発現量は、DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で気管内投与 1 日目と 6 日目で低値を示す傾向を認めたが、Control 群での個体差が大きく、いずれの群でも有意な差とはならなかった。

高血圧ラットのオゾン曝露 1 日後の心房と心室 ANP mRNA 発現量は、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で低下傾向を示したが、3 群間には有意差は認めなかった。心室 BNP mRNA 発現量は、DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で増加傾向を示したが、3 群間に有意差は認めなかった。心房 BNP mRNA 発現量は、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で低値を示したが、Control 群の個体差が大きく有意差とはならなかった。

### (6. 3. 6) 肺組織での炎症関連サイトカインの発現 (表 2. 6. 3-15)

若齢ラットの気管内投与 6 日後の肺組織 Tumor Necrosis Factor (TNF)- $\alpha$  mRNA 発現量には、3 群間に有意差は認めなかった。

老齢ラットの気管内投与 1 日及び 6 日後の肺組織 TNF- $\alpha$  mRNA 発現量は、Control 群に比較して低値を示す傾向を示したが、3 群間に有意差を認めなかった。MIP-1 $\alpha$  mRNA 発現量は気管内投与 1 日後に DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で増加傾向を示したが、個体差が大きく 3 群間に有意差は認めなかった。endothelin-1 mRNA 発現量は、気管内投与 1 日後に DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で低値を示し、6 日後には PM<sub>2.5</sub> 抽出物群でむしろ増加傾向を示した。

高血圧ラットの肺組織 MIP-1 $\alpha$ 、endothelin-1 mRNA 発現量は、オゾン曝露 2 日後に測定しているが、endothelin mRNA 発現量が DEP 抽出物群で増加傾向を示したが、MIP-1 $\alpha$  及び endothelin mRNA 両物質の発現量には 3 群間比較で有意差は認めなかった。

### (6. 3. 7) 肺病理所見

#### 1. 若齢ラット

気管内投与 7 日後の肺病理所見では、DEP 抽出物群の一部の動物で気管支粘膜下にごく軽度の繊維化が認められた点を除いては、Control 群、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で気管、気管支及び肺胞組織像の著しい変化は認めなかった。

#### 2. 老齢ラット

気管内投与 1 日目の所見では、Control 群、DEP 抽出物群、PM<sub>2.5</sub> 抽出物群共に気道収縮と粘液上皮の増生及び粘膜下の軽度のリンパ浸潤、周囲肺胞腔内にマクロファージを認めたが、肺胞、肺血管系には特に著変は認めなかった。DEP 抽出物群では、肺胞道の局所的肥厚を認めた。Control 群に比較して、DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で炎症傾向がやや強く認められた。投与 6 日後の所見では、Control 群では気管支及び肺胞、肺血管系には特に著変は認めず、リンパ浸潤や肺胞腔内にマクロファージも認めなかった。DEP 抽出物群と PM<sub>2.5</sub> 抽出物群では、気管支粘膜下の一部に軽度のリンパ浸潤を認めたが、肺胞及び肺血管系には特に著変は認めなかった。

#### 3. 高血圧ラット

3 群共に著しい心肺病変は認めず、やや局所的に軽度の炎症細胞浸潤を認めた個体もあったが、3 群間で明らかな差は認めなかった。

### (6. 4) 考察

#### (6. 4. 1) PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物の心肺機能と心肺組織・血管系への影響

若齢 (12 週齢)、老齢 (23~24 ヶ月齢) F344 ラットへの PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物の気管内投与実験では、単回投与により肺気管支で速やかに炎症反応が誘導されたことが推測されたが、その程度は弱く、かつ速やかに回復する反応であり、心肺機能に著しく影響を与えるものではな

った。加えて、PM<sub>2.5</sub>抽出物と DEP 抽出物により引き起こされた炎症反応の程度と質には、明確な差は認めなかった。本実験で使用した試験試料濃度は一濃度のみであり、濃度反応関係の有無については不明である。

若齢と老齢ラットでの感受性の問題については、両ラット共に BALF、血液、心肺組織の生化学的、分子生物学的検討から、気管内投与時に肺組織局所で急性炎症が招来された可能性を推測させたが、今回の成績結果から、PM<sub>2.5</sub>、DEP への感受性の高低を推測することはできなかった。

Brook ら[1]は、25 人の健常者で CAPs (PM<sub>2.5</sub>, 150 μg/m<sup>3</sup>) とオゾンの混合曝露の影響を検討した結果、清浄空気吸入群に比較して混合曝露群で、冠動脈反応と強い相関を示す腕動脈の収縮が引き起こされることを報告し、この結果から、健常者で心不全を起こさない程度の影響でも、高感受性である心疾患有症者では、突発性の冠動脈収縮によって虚血性心疾患が惹起される可能性を報告している。この血管収縮の生理的機序として、血中エンドセリンの急激な上昇やタバコ煙に対する反応と類似した肺の求心性神経を介した交感神経刺激の反射を挙げている。そこで、本研究では、高血圧ラットを用いて気管内投与約 20 時間後に 0.4ppm、3 時間オゾン曝露を行った。その結果、Control 群ではオゾン曝露に対して心拍数、血圧などは殆ど変動を示さなかったが、PM<sub>2.5</sub>抽出物群及び DEP 抽出物群ではオゾン曝露により心拍数、血圧の軽度な低下傾向を認めた。しかしながら、この反応は個体差が大きいため 3 群で比較した場合には有意差を認めなかった。曝露時間帯で比較した場合に観察された影響は、明期、暗期の 12 時間平均値で比較した場合には、殆ど 3 群間に差を認めないことから、速やかに回復する一過性の影響であった可能性が示唆された。また、本研究で得られた高血圧ラットの PM<sub>2.5</sub>抽出物の気管内投与下でのオゾン曝露の影響は、Brook ら[1]がヒトで報告している CAPs+オゾン曝露下での冠動脈の収縮ではなく、高血圧ラットではむしろ心拍数の低下に起因する血圧低下と副交感神経優位の結果であった。Brook ら[1]と本研究の間で見られる結果の相違には、PM<sub>2.5</sub> (CAPs) と PM<sub>2.5</sub>抽出物という曝露成分の違いやヒト健常者と疾患動物モデルの違いなどが関与しているものと考えられた。

#### (6. 4. 2) 心肺機能、肺組織・血管系炎症反応の評価指標に関して

これまで報告されている PM<sub>2.5</sub>に関する動物実験結果は、PM<sub>2.5</sub>曝露と心不全との関連性について仮説の域を未だ超えていない。吸入された粒子の一部は、I 型肺胞上皮細胞に取り込まれ、能動的あるいは細胞間隙を通過して循環血液中に移行し、血液中の凝固系因子や炎症細胞の活性化、心臓への直接作用、あるいは肺組織炎症、肺迷走神経系や心自律神経系を介した影響が考えられている。特に PM<sub>2.5</sub>の心不全との関連性を明確にするためには、心肺機能への影響を継時的に把握することが重要であり、心機能調節機構としての自律神経系のバランスや不整脈数の評価が重要である。そこで、心拍数、血圧を 24 時間モニターできるテレメトリーシステムを用い、かつリアルタイムで測定した生体信号を用いて HRV 解析を行い交感神経成分、副交感神経成分及び自律神経の安定性について評価した。加えて、若齢ラットでは不整脈数の目測を行ったが、PM<sub>2.5</sub>抽出物及び DEP 抽出物気管内投与により不整脈数の著しい増加は認めなかった。

一方、肺組織での炎症マーカーとしては、気管支肺胞洗浄液中の蛋白濃度や細胞数、細胞分画、肺組織炎症性サイトカインを測定した。突発性の冠動脈収縮のような血管収縮には、血中エンドセリンの急激な上昇や肺の求心性神経を介した交感神経刺激反射の関与が示唆されていることから、血中エンドセリン-1 濃度の供給臓器である肺組織での endothelin mRNA 発現量を加齢動物と高血圧動物で測定した。その結果、老齢ラットでは気管内投与 1 日後に、DEP 抽出物及び PM<sub>2.5</sub>抽出物群で endothelin mRNA 発現量が抑制されたが、気管内投与 6 日後の PM<sub>2.5</sub>抽出物群では増加傾向を示した。また、高血圧ラットのオゾン曝露 1 日後の DEP 抽出物投与群では endothelin mRNA 発現量は増加傾向を示したが、いずれも個体差が大きく Control 群と比較して有意な変動ではなかった。

心機能測定に加えて心不全の指標として、心房・心室の ANP 及び BNP mRNA の遺伝子レベルでの発現量について測定を試みた。ANP は、心房筋内に存在して心臓の伸展によって分泌が規定される。その結果、心不全で循環血液量の増加や心収縮力の低下が招来されると、心房圧が上昇しその分泌は増加する。心筋肥大を伴う心不全では、心室筋からも分泌されるといわれる。それに対して、心筋で産生される BNP は、通常の生理状態では分泌量は変化しないが、心肥大が生じると

心室筋で合成が促進されて増加するとされる。今回の実験では、老齢ラットの PM<sub>2.5</sub> 抽出物群で、心房 ANP mRNA 発現量の増加を認めたが、個体差が大きいことや、病理所見や心機能所見では異常所見が得られていないことから、この結果は試験試料によるものではなく加齢による可能性が考えられた。一方、心室 BNP mRNA 発現量の高血圧ラットでの増加についても、試験試料の気管内投与による結果というよりもむしろ高血圧による心肥大に起因した増加と考えられた。したがって、ANP、BNP の心不全の評価指標としての有用性については、今後更に検討する必要がある。

#### (6. 4. 3) 測定サンプルの採取時期に関する問題

本実験では、心肺機能に対する影響に主眼をおいたために、肺組織・血管系の炎症反応を評価するための試料採取時期が、必ずしも最適な時間に行われていない。特に若齢ラットでは、初期炎症応答時というよりもむしろ急性炎症～回復時における変動を観察している可能性が高い。老齢ラットでは、その点を考慮して気管内投与 1 日後と 6 日後に測定試料を採取し、高血圧ラットでは、気管内投与 1 日後にオゾン曝露を行ったために、その 2 日後に試料採取を行った。従って、本実験では、心肺機能を除いては、若齢ラット、老齢ラット、高血圧ラットの実験結果を相互比較することは出来なかった。

#### (6. 4. 4) 粒子表面の有機物の心肺機能と肺組織・血管系への影響

本実験で使用した PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物は、主に有機溶媒で抽出された粒子表面の有機物の影響を観察しているものと考えられる。気管内投与により急性炎症応答が観察されたが、この成績は、有機溶媒分画に起炎物質や白血球遊走物質が含まれていることを示唆するものと考えられた。加えて、気管内投与により惹起された炎症応答は、速やかに回復する反応であったことから、試験試料成分は肺組織から速やかに除去される性質をもつ物質であり、かつ濃度であったことが推測された。

#### (6. 5) 結論

- ・若齢ラット、老齢ラットへの PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物の気管内単回投与は、初期に軽度の局所炎症を引き起こしたが、その影響は心肺機能（自律神経系も含む）及び肺構築に影響を及ぼすほどのものではなかったことが示唆された。
- ・高血圧ラットへの PM<sub>2.5</sub> 抽出物及び DEP 抽出物気管内投与下での 0.4ppm オゾン曝露では、Control ラットと比較して軽度の心拍数低下と血圧低下を引き起こした。高血圧ラットでは 0.4ppm オゾン曝露で明確な変動を示さないことから、高血圧モデル動物では複合曝露に対してより感受性が高い可能性が考えられた。

#### 引用文献

- 1 Brook RD, Brook JR, Urch B, Vincent R, Rajagopalan S, Silverman F: Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation* 2002; 105:1534-1536

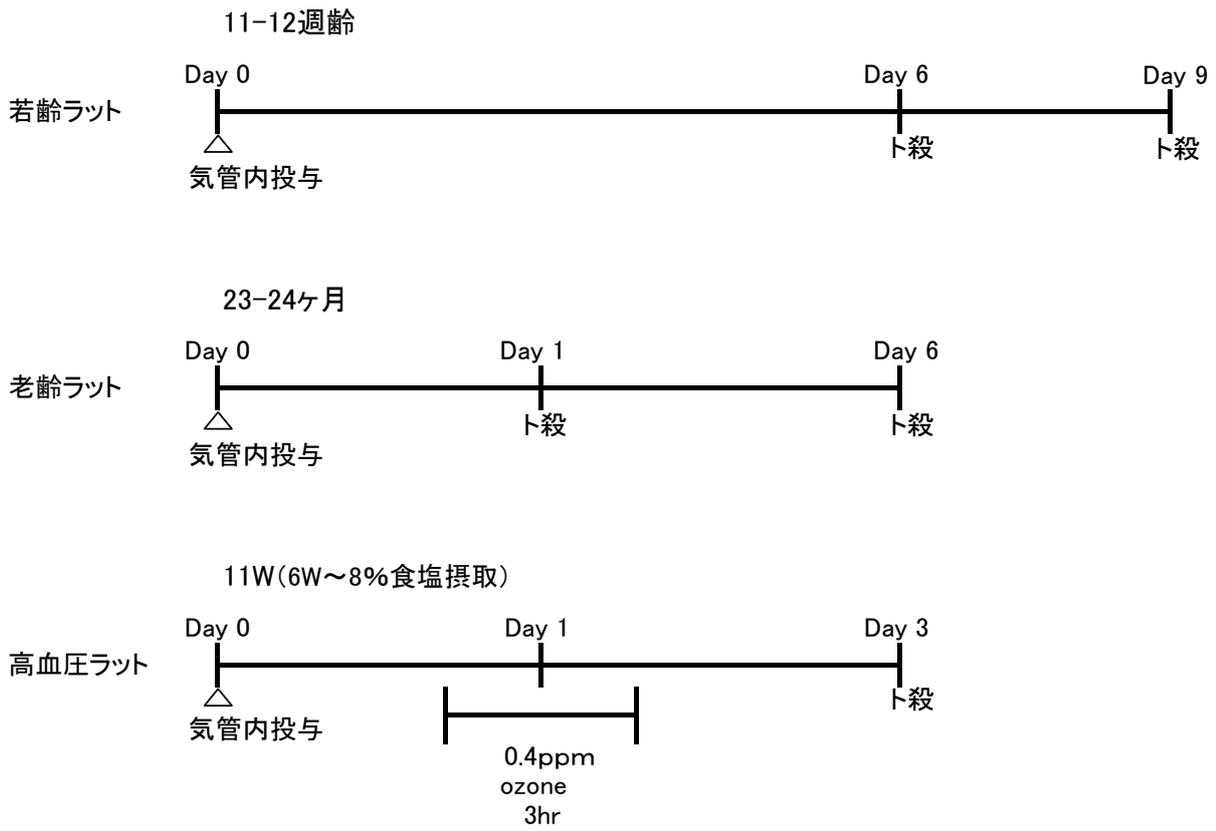


図 2.6.2-1 実験計画

表 2.6.3-1 気管内投与前後の心機能指標の変動

若齢ラット									
気管内投与24h前&24h後									
	平均	分散	低周波	高周波	LH/HF	血圧	BP Mean	BP Sys	体温
	MEAN RR	SD R-R	LF1	HF1		BP Dia	mmHg	mmHg	TEMP
	ms					mmHg			Celsius
Cont(n=4)	-24h(9-12)	45.9	5.9	2.3	2.8	123.0	132.1	142.4	37.1
Cont(n=4)	+24h(9-12)	173.1	62.5	12.3	2.5	112.8	122.5	133.9	37.1
DEP(n=8)	-24h(9-12)	176.7	81.2	15.1	2.5	100.5	109.9	120.4	37.1
DEP(n=8)	+24h(9-12)	181.6	38.3	7.2	1.9	96.5	106.4	117.7	37.1
PM(n=8)	-24h(9-12)	178.4	35.5	8.2	1.5	97.7	107.7	119.1	37.1
PM(n=8)	+24h(9-12)	181.7	55.7	13.0	2.0	91.5	102.0	114.1	37.1
高齢ラット									
気管内投与24h前&24h後									
	R-R	標準偏差	低周波	高周波	LF/HF	血圧	BP Mean	BP Sys	体温
	ms	SD R-R	LF	HF		BP Dia	mmHg	mmHg	TEMP
		ms				mmHg			Celsius
			標準偏差	標準偏差					標準偏差
			SD LF	SD HF					SD TEMP
			mmHg	mmHg					Celsius
Cont(n=5)	-24h(9-12)	193.9	50.4	7.8	2.0	89.1	104.3	121.3	7.3
Cont(n=5)	+24h(9-12)	190.1	20.5	4.5	2.1	87.5	103.0	120.4	6.2
DEP(n=7)	-24h(9-12)	192.6	26.7	5.9	1.4	90.7	104.9	120.3	8.4
DEP(n=7)	+24h(9-12)	186.1	29.1	5.1	1.4	93.5	107.0	121.8	6.8
PM(n=8)	-24h(9-12)	204.4	67.6	16.2	3.3	89.9	105.3	121.9	10.1
PM(n=8)	+24h(9-12)	203.4	35.8	7.2	2.1	88.3	103.3	119.6	7.1
高血圧ラット									
気管内投与24h前&24h後									
	HR	標準偏差	低周波	高周波	LF/HF	血圧	BP Mean	BP Sys	体温
	beat/min	SD HR	LF	HF		BP Dia	mmHg	mmHg	TEMP
		beat/min				mmHg			Celsius
			標準偏差	標準偏差					標準偏差
			SD LF	SD HF					SD TEMP
			mmHg	mmHg					Celsius
Cont(n=4)	-24h(9-12)	323.4	14.6	68.7	18.1	115.9	136.7	157.0	10.4
Cont(n=4)	+24h(9-12)	337.1	41.8	85.6	38.0	110.3	131.9	152.7	11.0
DEP(n=4)	-24h(9-12)	331.1	24.7	105.2	13.1	119.8	142.2	165.1	9.5
DEP(n=4)	+24h(9-12)	316.1	25.9	89.5	30.2	108.3	132.7	157.0	15.0
PM(n=4)	-24h(9-12)	330.2	14.4	74.6	25.3	125.9	146.7	167.8	16.0
PM(n=4)	+24h(9-12)	315.4	30.1	132.2	66.1	115.0	136.6	158.0	12.2
+24(9-12) 平均0.4ppmオゾン曝露中									

表 2.6.3-2 若齢ラット（明期）

Grp.Name	Cont	n=4			分散	血压			体温
Day	R-R	低周波	高周波	LF/HF	SDR-R	BP Dia	BP Mean	BP Sys	TEMP
days	ms	LF	HF			mmHg	mmHg	mmHg	Celsius
-2	165.4	3.0	1.4	2.3	56.7	116.3	125.5	135.8	37.1
-1	165.2	5.9	2.3	7.3	70.7	119.3	128.8	139.6	37.1
0	174.2	17.7	6.7	2.4	37.9	114.1	124.0	135.3	37.0
1	168.3	12.3	2.5	6.7	53.8	111.4	120.9	131.7	37.1
2	173.0	13.1	2.9	6.2	39.3	104.7	113.1	122.8	37.1

Grp.Name	DEP	n=8			分散	血压			体温
Day	R-R	低周波	高周波	LF/HF	SDR-R	BP Dia	BP Mean	BP Sys	TEMP
days	ms	LF	HF			mmHg	mmHg	mmHg	Celsius
-2	172.5	12.2	2.4	4.4	73.0	102.8	112.4	123.2	37.1
-1	172.0	15.7	2.7	4.9	79.8	101.7	111.0	121.4	37.1
0	173.2	10.8	2.1	4.3	70.5	100.4	109.3	119.5	37.1
1	173.6	10.8	2.1	4.7	61.5	99.8	109.5	120.5	37.1
2	171.5	11.6	2.3	4.6	61.9	102.1	111.6	122.2	37.1

Grp.Name	PM	n=8			分散	血压			体温
Day	R-R	低周波	高周波	LF/HF	SDR-R	BP Dia	BP Mean	BP Sys	TEMP
days	ms	LF	HF			mmHg	mmHg	mmHg	Celsius
-2	174.7	8.3	1.6	4.8	35.3	95.9	106.7	118.6	37.1
-1	174.8	8.3	1.6	4.9	35.8	97.8	107.8	118.9	37.1
0	173.0	9.4	1.6	4.9	40.0	99.1	110.6	123.5	37.1
1	176.6	10.1	1.8	4.8	40.6	93.2	103.9	115.8	37.1
2	175.4	9.1	1.7	5.0	42.6	94.8	105.2	116.8	37.1

Injection  
8-19時

表 2.6.3-3 若齢ラット（暗期）

Grp.Name	Cont	n=4			分散	血压			体温
Night	R-R	低周波	高周波	LF/HF	SDR-R	BP Dia	BP Mean	BP Sys	TEMP
days	ms	LF	HF			mmHg	mmHg	mmHg	Celsius
-2	160.5	3.6	1.5	2.5	30.5	122.8	131.7	141.9	37.1
-1	153.4	14.3	3.4	5.6	48.1	121.9	131.7	143.0	37.1
0	168.5	2.8	1.1	2.7	64.5	112.5	121.8	132.6	37.1
1	163.4	14.1	3.8	5.1	35.1	107.0	115.8	126.5	37.1
2	161.5	14.7	3.4	5.4	43.6	111.3	119.5	129.3	37.1

Grp.Name	DEP	n=8			分散	血压			体温
Night	R-R	低周波	高周波	LF/HF	SDR-R	BP Dia	BP Mean	BP Sys	TEMP
days	ms	LF	HF			mmHg	mmHg	mmHg	Celsius
-2	161.9	12.6	2.2	4.7	54.1	104.3	113.0	123.3	37.1
-1	160.7	16.2	2.6	5.1	67.4	103.7	112.4	122.6	37.1
0	166.6	13.3	2.4	4.7	54.6	100.8	110.0	120.7	37.1
1	163.9	13.7	2.2	5.3	65.2	102.8	111.7	122.2	37.1
2	160.4	12.7	2.1	5.2	61.0	105.3	114.1	124.4	37.1

Grp.Name	PM	n=8			分散	血压			体温
Night	R-R	低周波	高周波	LF/HF	SDR-R	BP Dia	BP Mean	BP Sys	TEMP
days	ms	LF	HF			mmHg	mmHg	mmHg	Celsius
-2	157.4	6.9	1.4	4.6	27.8	98.4	108.1	119.4	37.1
-1	157.1	7.9	1.6	4.6	31.4	99.4	108.9	119.8	37.1
0	164.9	7.6	1.4	4.9	31.1	96.7	107.1	119.1	37.1
1	160.4	7.5	1.5	4.7	36.8	96.0	106.1	117.8	37.1
2	159.6	8.7	1.6	5.0	34.0	95.8	105.6	117.0	37.1

Injection  
20-7時

表 2.6.3-4 老齡ラット（明期）

Grp.Name	Cont	n=5		低周波	高周波	標準偏差	標準偏差	LF/HF	血圧	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差	
Day	R-R	標準偏差	標準偏差	LF	HF	SD LF	SD HF	LF/HF	BP Dia	SD Dia	BP Mean	SD BP	BP Sys	SD Sys	TEMP	SD TEMP
days	ms	ms	ms						mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	Celsius
-2	196.9	42.2	7.6	2.0	18.3	2.5	3.2	89.2	7.4	103.6	7.5	119.3	7.9	36.9	0.1	
-1	197.6	48.5	7.6	2.3	20.5	2.5	3.0	87.5	7.1	102.8	7.3	119.5	7.6	37.0	0.2	
0	194.4	44.8	9.8	2.8	23.6	2.9	3.2	88.3	7.0	103.6	6.4	120.3	6.9	36.9	0.3	
1	191.6	21.6	5.4	2.0	9.2	1.7	2.8	87.3	6.3	102.8	6.6	119.9	7.0	37.0	0.2	

Grp.Name	DEP	n=7		低周波	高周波	標準偏差	標準偏差	LF/HF	血圧	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差	
Day	R-R	標準偏差	標準偏差	LF	HF	SD LF	SD HF	LF/HF	BP Dia	SD Dia	BP Mean	SD BP	BP Sys	SD Sys	TEMP	SD TEMP
days	ms	ms	ms						mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	Celsius
-2	191.6	33.3	8.2	1.7	20.2	2.1	3.5	92.1	7.1	106.3	7.4	121.6	7.8	37.0	0.2	
-1	194.6	43.8	10.1	1.9	26.2	2.6	3.9	92.0	7.1	105.9	6.9	120.9	7.5	37.1	0.2	
0	189.2	34.5	7.8	1.9	19.2	2.3	3.3	90.6	7.2	105.7	6.2	122.1	6.8	37.1	0.2	
1	192.0	46.3	10.4	2.0	25.3	2.9	3.6	91.6	7.0	105.6	6.5	120.7	7.2	37.2	0.2	

Grp.Name	PM	n=8		低周波	高周波	標準偏差	標準偏差	LF/HF	血圧	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差	
Day	R-R	標準偏差	標準偏差	LF	HF	SD LF	SD HF	LF/HF	BP Dia	SD Dia	BP Mean	SD BP	BP Sys	SD Sys	TEMP	SD TEMP
days	ms	ms	ms						mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	Celsius
-2	202.7	77.9	17.5	3.3	49.6	6.0	4.2	89.9	7.0	103.5	7.1	118.3	7.5	37.0	0.2	
-1	206.1	102.4	25.6	3.8	77.2	7.3	5.6	90.0	9.5	104.7	7.4	120.5	9.1	36.9	0.3	
0	199.9	59.9	15.6	2.9	42.5	3.9	4.2	91.6	6.4	106.2	6.1	122.1	6.5	36.9	0.2	
1	201.0	65.5	12.3	2.8	35.3	3.7	3.9	90.2	7.2	105.2	6.8	121.4	7.3	37.1	0.2	

Day 8—19時  
0: Injection

表 2.6.3-5 老齡ラット（暗期）

Grp.Name	Cont	n=5		低周波	高周波	標準偏差	標準偏差	LF/HF	血圧	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差	
Night	R-R	標準偏差	標準偏差	LF	HF	SD LF	SD HF	LF/HF	BP Dia	SD Dia	BP Mean	SD BP	BP Sys	SD Sys	TEMP	SD TEMP
days	ms	ms	ms						mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	Celsius
-2	179.9	27.2	5.9	2.1	13.5	2.2	2.8	91.3	8.4	105.7	8.2	122.1	8.7	37.6	0.3	
-1	180.9	26.2	5.8	2.2	10.5	2.0	2.7	91.1	7.8	105.7	7.8	122.3	8.3	37.5	0.2	
0	180.8	37.9	8.4	2.4	19.8	2.5	3.2	90.2	7.4	105.7	7.5	123.2	7.9	37.4	0.2	
1	179.2	34.5	6.7	2.2	16.3	2.1	3.1	91.6	8.1	105.8	8.1	122.0	8.5	37.6	0.3	

Grp.Name	DEP	n=7		低周波	高周波	標準偏差	標準偏差	LF/HF	血圧	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差	
Night	R-R	標準偏差	標準偏差	LF	HF	SD LF	SD HF	LF/HF	BP Dia	SD Dia	BP Mean	SD BP	BP Sys	SD Sys	TEMP	SD TEMP
days	ms	ms	ms						mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	Celsius
-2	180.2	30.0	7.7	1.7	21.4	2.7	3.7	93.7	7.8	107.1	7.8	122.2	8.2	37.8	0.2	
-1	173.3	34.5	8.2	1.8	18.7	2.3	3.7	97.3	8.0	111.6	7.8	127.1	8.1	37.6	0.2	
0	183.9	43.7	9.3	1.9	25.7	2.7	4.0	92.5	9.0	107.4	7.6	123.7	8.7	37.6	0.3	
1	182.2	41.3	8.9	1.9	24.5	3.2	3.9	93.4	10.0	107.8	8.1	123.6	9.3	37.7	0.3	

Grp.Name	PM	n=8		低周波	高周波	標準偏差	標準偏差	LF/HF	血圧	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差	
Night	R-R	標準偏差	標準偏差	LF	HF	SD LF	SD HF	LF/HF	BP Dia	SD Dia	BP Mean	SD BP	BP Sys	SD Sys	TEMP	SD TEMP
days	ms	ms	ms						mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	Celsius
-2	192.6	79.0	20.6	3.6	55.8	5.9	4.7	91.6	8.0	105.0	8.1	120.1	8.5	37.8	0.2	
-1	187.5	98.6	25.0	3.7	59.9	5.9	5.1	95.2	8.5	108.7	8.3	123.8	8.8	37.6	0.2	
0	190.4	124.2	29.4	4.1	73.8	7.0	5.7	94.0	8.1	108.8	7.8	125.2	8.2	37.5	0.2	
1	185.5	94.0	24.9	3.9	60.3	6.3	4.8	94.5	8.2	108.9	8.1	125.0	8.5	37.7	0.2	

Night 20—7時  
0: Injection

表 2.6.3-6 高血圧ラット（明期）

Grp.Name	Cont	n=4															
Day	HR	標準偏差	低周波	標準偏差	高周波	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差
days	beats/min	SD HR	LF	SD LF	HF	SD HF	LF/HF	LF/HF	LF/HF	BP Dia	BP Dia	BP Mean	BP Mean	BP Sys	BP Sys	TEMP	TEMP
										mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	
-2																	
-1	362.7	28.0	100.2	88.8	34.6	39.9	17.1	16.3	109.7	9.6	130.8	9.8	151.7	11.5	38.2	0.9	
0	369.0	51.2	91.9	92.5	33.2	57.1	20.5	21.3	115.8	12.6	136.7	12.9	157.4	13.6	38.0	0.9	
1	368.2	43.5	95.1	115.0	67.3	94.7	21.4	14.8	107.9	10.1	129.0	10.1	149.8	11.0	38.1	0.8	
2	357.9	33.9	108.0	102.7	55.8	95.2	26.1	23.7	110.4	9.7	131.5	9.8	152.2	10.9	38.0	0.9	

Grp.Name	DEP	n=4															
Day	HR	標準偏差	低周波	標準偏差	高周波	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差
days	beats/min	SD HR	LF	SD LF	HF	SD HF	LF/HF	LF/HF	LF/HF	BP Dia	BP Dia	BP Mean	BP Mean	BP Sys	BP Sys	TEMP	TEMP
										mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	
-2																	
-1	355.4	35.0	111.1	108.5	19.0	23.1	18.9	21.3	114.0	11.2	136.6	10.5	159.6	10.8	37.7	0.3	
0	362.8	43.1	112.2	160.1	17.0	21.6	17.9	19.4	115.4	8.5	138.0	9.7	161.7	11.5	37.5	1.1	
1	337.5	31.6	108.7	129.7	27.0	29.6	17.0	21.5	108.5	12.3	132.1	12.7	155.9	13.6	37.5	1.3	
2	349.4	34.5	119.8	126.4	23.8	26.2	16.1	19.3	113.0	10.2	135.9	11.9	159.3	13.8	37.5	1.3	

Grp.Name	PM	n=4															
Day	HR	標準偏差	低周波	標準偏差	高周波	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差
days	beats/min	SD HR	LF	SD LF	HF	SD HF	LF/HF	LF/HF	LF/HF	BP Dia	BP Dia	BP Mean	BP Mean	BP Sys	BP Sys	TEMP	TEMP
										mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	
-2																	
-1	352.1	30.5	118.6	144.6	17.0	34.5	19.6	19.8	118.8	11.5	139.8	12.9	160.9	15.4	37.7	0.3	
0	370.7	44.8	93.6	150.7	18.4	30.9	19.0	17.7	119.8	9.1	140.3	9.5	161.2	11.5	37.6	0.6	
1	342.3	32.7	104.9	138.7	35.3	66.9	22.4	24.1	113.2	7.8	134.5	8.4	155.6	11.2	37.6	0.3	
2	349.9	30.3	128.7	149.9	31.6	60.6	20.9	19.6	115.6	9.8	136.7	11.4	157.7	14.2	37.5	0.3	

Day 8時-19時  
 0: injection  
 9-12時 0.4ppmオゾン曝露日

表 2.6.3-7 高血圧ラット（暗期）

Grp.Name	Cont	n=4															
Night	HR	標準偏差	低周波	標準偏差	高周波	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差
days	beats/min	SD HR	LF	SD LF	HF	SD HF	LF/HF	LF/HF	LF/HF	BP Dia	BP Dia	BP Mean	BP Mean	BP Sys	BP Sys	TEMP	TEMP
										mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	
-2	367.5	28.8	113.0	42.3	48.5	45.4	15.9	18.9	118.3	7.1	139.9	6.8	160.6	8.8	38.6	0.9	
-1	369.5	29.8	124.4	130.9	44.9	73.8	20.1	17.8	122.1	7.2	143.6	6.5	164.9	8.2	38.7	0.9	
0	384.3	33.5	128.0	154.9	38.1	81.3	19.4	24.3	122.4	8.9	143.8	8.8	164.7	10.1	38.6	0.9	
1	378.1	32.3	152.6	179.8	57.1	81.1	20.2	19.2	120.9	9.7	142.5	8.9	163.7	9.3	38.7	0.9	
2	373.9	26.1	125.1	151.0	34.1	48.7	17.7	15.0	121.4	9.1	143.1	8.1	164.3	8.3	38.6	0.9	

Grp.Name	DEP	n=4															
Night	HR	標準偏差	低周波	標準偏差	高周波	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差
days	beats/min	SD HR	LF	SD LF	HF	SD HF	LF/HF	LF/HF	LF/HF	BP Dia	BP Dia	BP Mean	BP Mean	BP Sys	BP Sys	TEMP	TEMP
										mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	
-2	371.0	27.1	111.6	163.7	82.5	105.9	26.0	30.2	121.5	11.4	145.3	11.3	169.1	12.4	38.1	0.6	
-1	381.1	32.7	104.0	147.0	25.8	28.3	16.4	17.3	125.0	8.7	147.7	8.7	170.8	9.9	38.3	0.4	
0	381.3	26.1	124.5	169.4	23.6	27.6	17.4	17.3	120.1	10.5	144.1	12.1	168.4	14.2	38.1	1.2	
1	371.7	26.3	155.8	174.5	28.3	29.8	17.5	20.1	121.2	10.9	143.9	12.2	167.4	13.7	38.2	1.3	
2	374.0	25.1	145.0	183.8	23.9	25.2	16.6	16.6	124.3	10.2	147.7	12.3	171.9	14.9	38.2	1.3	

Grp.Name	PM	n=4															
Night	HR	標準偏差	低周波	標準偏差	高周波	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	標準偏差	体温	標準偏差
days	beats/min	SD HR	LF	SD LF	HF	SD HF	LF/HF	LF/HF	LF/HF	BP Dia	BP Dia	BP Mean	BP Mean	BP Sys	BP Sys	TEMP	TEMP
										mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	mmHg	Celsius	
-2	368.8	30.9	114.3	129.1	22.7	30.2	12.3	9.4	129.2	11.5	149.6	13.3	170.0	16.3	38.3	0.5	
-1	381.4	29.2	141.1	150.3	22.9	29.1	13.2	13.6	129.4	8.5	150.7	11.4	171.9	15.0	38.3	0.4	
0	384.8	28.0	101.5	133.7	19.1	33.7	14.7	14.2	125.6	8.7	147.3	10.8	169.0	13.9	38.2	0.4	
1	373.7	26.7	174.3	197.9	28.2	40.3	14.6	12.1	125.4	7.3	146.2	10.2	167.1	14.1	38.2	0.3	
2	375.6	27.5	121.7	142.2	31.6	60.6	12.5	10.9	128.9	7.4	149.8	10.6	170.7	14.6	38.2	0.3	

Night 20時-7時  
 0: injection  
 9-12時 0.4ppmオゾン曝露日

表 2.6.3-8 若齢ラットの呼吸パターン

Group	Day	n	Body weight (g)	Ventilation (breaths/min)	Tidal volume (ml BTPS/100g B.W.)	Respiratory minute volume (ml BTPS/min/100g B.W.)
Control	Pre	8	217.6±8.76	140.0±15.5	1.303±0.105	182.4±25.1
	Day 6	8	223.4±13.6	137.5±14.7	1.342±0.267	182.4±26.6
	Day 7	8	238.7±15.3	103.3±52.1	1.078±0.103	128.3±17.3
E-DEP	Pre	8	232.9±22.7	138.8±15.5	1.033±0.136	144.0±27.9
	Day 6	8	239.6±20.0	129.4±15.9	1.237±0.232	137.6±64.5
	Day 7	8	257.9±21.5	120.0±13.9	1.140±0.184	135.7±19.3
E-PM2.0	Pre	8	237.4±16.1	146.3±26.3	1.061±0.131	153.2±21.1
	Day 6	8	247.6±9.8	128.1±37.8	1.237±0.126	174.6±36.0
	Day 7	8	263.8±7.4	135.0±22.7	1.238±0.134	166.5±29.3

※Mean±SD

表 2.6.3-9 老齢ラットの呼吸パターン

Group	Day	n	Body weight (g)	f (times/min)	Vt (ml)	VE (ml/min)
Control	Day1	5	256.7±15.3	120.0±0.0	2.89±0.79	385.5±30.9
E-DEP	Day1	5	255.0±31.6	120.0±0.0	3.69±0.36	442.2±43.3
E-PM	Day1	5	266.0±17.8	120.0±0.0	3.46±0.36	415.0±44.4

※Mean±SD

表 2.6.3-10 若齢ラットの気管支肺胞洗浄液と血液の分析結果

Group	Day	n	Recovery (%)	Total cell (x100/ul)	Total protein (mg/ml)	Cell differential (%)				Blood cell count	
						Alveolar macrophage	Neutrophil	Lymphocyte	WBC(x100/ul)	RBC(x10000/ul)	Platelet(x10000/ul)
Control	Day 6	4	80.0±0.0	4.5±1.0	0.241±0.06	99.3±1.5	0.3±0.5	0.8±1.0	32.0±9.8	792.8±182.6	66.5±19.8
	Day 9	4	80.0±0.0	4.0±1.5	0.222±0.02	99.3±1.0	0.8±1.0	0.0±0.0	38.5±10.3	890±167.5	70.5±15.7
E-DEP	Day 6	4	70.0±0.0	10.5±1.9	0.222±0.01	99.9±0.5	0.5±1.0	0.0±0.0	38.0±11.2	754.2±167.9	55.6±28.7
	Day 9	4	67.5±5.0	3.8±2.4	0.233±0.04	99.3±0.5	0.0±0.0	0.8±0.5	44.8±5.5	910.8±96.95	89.4±1.9
E-PM2.0	Day 6	4	70.0±0.0	9.0±1.8	0.245±0.04	100.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	33.0±1.8	761.0±38.7	56.4±8.7
	Day 9	4	67.5±9.5	2.5±1.0	0.228±0.01	95.3±7.2	4.3±6.7	0.3±0.6	52.3±12.7	919.5±94.5	90.8±21.1

※Mean±SD

表 2.6.3-11 老齢ラットの気管支肺胞洗浄液の分析結果

Group	Day	n	Recovery (%)	Total cell (x100/ul)	Cell differential(%)				Total protein (mg/ml)
					AM	PMN	LYM	Eo	
Control	Day 1	9	68.4±5.0	3.4±1.4	93.9±6.7	5.1±7.3	1.1±1.2	0.0±0.0	0.246±0.045
	Day 6	6	66.8±4.4	4.8±1.2	100.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.168±0.013
E-DEP	Day 1	9	70.9±6.5	4.3±0.9	81.7±16.6	16.7±15.6	1.5±1.4	0.0±0.0	0.302±0.085
	Day 6	7	65.0±6.7	5.0±1.4	100.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.198±0.044
E-PM2.0	Day 1	8	65.5±10.6	4.3±0.9	80.2±14.8*	19.0±14.8*	1.1±0.8	0.0±0.0	0.277±0.047
	Day 6	8	70.3±6.2	4.0±1.2	100.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.166±0.025

AM: Alveolar macrophage, PMN: Neutrophil, Lym: Lymphocyte, Eo: Eosinophil

\*: vs the relative control group

※Mean±SD

表 2.6.3-12 老齡ラットの血液分析結果

Group	Day	n	WBC ( $\times 100/\mu\text{l}$ )	RBC ( $\times 10000/\mu\text{l}$ )	Platlet ( $\times 10000/\mu\text{l}$ )
Control	Day 1	9	32.8 $\pm$ 10.5	865.5 $\pm$ 109.8	61.8 $\pm$ 8.0
	Day 6	6	44.7 $\pm$ 15.5	719.2 $\pm$ 59.8	59.9 $\pm$ 13.1
E-DEP	Day 1	9	28.2 $\pm$ 7.1	817.9 $\pm$ 56.6	68.1 $\pm$ 16.1
	Day 6	3	33.3 $\pm$ 6.5	935.0 $\pm$ 125.0*	88.2 $\pm$ 13.4*
E-PM 2.0	Day 1	8	37.9 $\pm$ 6.4	833.5 $\pm$ 51.8	60.6 $\pm$ 12.3
	Day 6	4	44.8 $\pm$ 12.9	751.0 $\pm$ 22.4	57.1 $\pm$ 13.3

\*: vs the relative control group

※Mean $\pm$ SD

表 2.6.3-13 高血圧ラットの気管支肺胞洗浄液と血液中の細胞数

Group	Cells/BAL $\mu\text{l}$	WBC( $\times 10^2/\mu\text{l}$ )	RBC( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	PL( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	Blood Lym(%)	Blood PMN(%)
Control (4)	5.5 $\pm$ 3.0	66.0 $\pm$ 17.1	828.8 $\pm$ 78.2	100.4 $\pm$ 6.9	62.0 $\pm$ 6.4	38.0 $\pm$ 6.4
E-DEP (4)	6.5 $\pm$ 2.9	84.8 $\pm$ 21.7	790.1 $\pm$ 38.7	87.0 $\pm$ 9.7	58.0 $\pm$ 7.1	42.2 $\pm$ 7.1
E-PM (4)	6.0 $\pm$ 1.4	82.8 $\pm$ 17.6	855.0 $\pm$ 91.9	102.9 $\pm$ 10.1	60.8 $\pm$ 10.0	39.3 $\pm$ 10.0

※Mean $\pm$ SD

表 2.6.3-14 心組織 ANP・BNP mRNA 発現量

単位:発現量

若齡ラット		ANP-心房	ANP-心室	BNP-心房	BNP-心室
Control (n=4)	Day 6	1.00 $\pm$ 0.19	1.00 $\pm$ 1.13	1.00 $\pm$ 0.39	1.00 $\pm$ 0.22
	Day 6	0.16 $\pm$ 0.05	0.14 $\pm$ 0.16	1.36 $\pm$ 0.39	0.48 $\pm$ 0.42
E-PM (n=8)	Day 6	0.10 $\pm$ 0.06	0.11 $\pm$ 0.21	1.59 $\pm$ 0.72	0.83 $\pm$ 0.65

老齡ラット		ANP-心房	ANP-心室	BNP-心房	BNP-心室
Control (n=5)	Day 1	1.00 $\pm$ 1.71	1.00 $\pm$ 0.58	1.00 $\pm$ 0.50	1.00 $\pm$ 1.16
	Day 6	1.00 $\pm$ 0.98	1.00 $\pm$ 0.41	1.00 $\pm$ 0.42	1.00 $\pm$ 0.74
E-DEP (n=5)	Day 1	0.86 $\pm$ 1.21	1.22 $\pm$ 1.52	0.70 $\pm$ 0.41	0.37 $\pm$ 0.29
	Day 6	0.09 $\pm$ 0.18	0.86 $\pm$ 0.28	2.09 $\pm$ 2.65	0.83 $\pm$ 0.59
E-PM (n=5)	Day 1	3.74 $\pm$ 1.95	1.16 $\pm$ 0.65	0.65 $\pm$ 0.57	0.32 $\pm$ 0.31
	Day 6	0.19 $\pm$ 0.27	1.02 $\pm$ 0.82	1.80 $\pm$ 2.90	0.51 $\pm$ 0.38

高血圧ラット		ANP-心房	ANP-心室	BNP-心房	BNP-心室
Control (n=4)	Day 3	1.00 $\pm$ 1.51	1.00 $\pm$ 1.43	1.00 $\pm$ 2.19	1.00 $\pm$ 1.03
E-DEP (n=4)	Day 3	1.06 $\pm$ 1.23	1.22 $\pm$ 1.53	0.10 $\pm$ 0.10	2.11 $\pm$ 2.08
E-PM (n=4)	Day 3	0.32 $\pm$ 0.44	0.33 $\pm$ 0.66	0.10 $\pm$ 0.05	1.58 $\pm$ 0.71

※Mean $\pm$ SD

表 2.6.3-15 肺組織での遺伝子発現の結果

単位:発現量

若齢ラット		TNF- $\alpha$
Control (n=4)	Day 6	1.00 $\pm$ 0.53
E-DEP (n=8)	Day 6	0.42 $\pm$ 0.42
E-PM (n=8)	Day 6	1.02 $\pm$ 0.75

老齢ラット		TNF- $\alpha$	MIP-1 $\alpha$	endothelin
Control (n=5)	Day 1	1.00 $\pm$ 1.27	1.00 $\pm$ 0.24	1.00 $\pm$ 1.37
(n=6)	Day 6	1.00 $\pm$ 0.43		1.00 $\pm$ 0.76
E-DEP (n=5)	Day 1	0.80 $\pm$ 0.41	3.00 $\pm$ 2.89	0.41 $\pm$ 0.52
(n=8)	Day 6	0.53 $\pm$ 0.31		1.18 $\pm$ 0.65
E-PM (n=5)	Day 1	0.44 $\pm$ 0.47	8.14 $\pm$ 3.15	0.09 $\pm$ 0.113
(n=7)	Day 6	0.94 $\pm$ 0.98		3.03 $\pm$ 3.32

高血圧ラット		MIP-1 $\alpha$	endothelin
Control (n=4)	Day 3	1.00 $\pm$ 0.91	1.00 $\pm$ 0.87
E-DEP (n=4)	Day 3	1.13 $\pm$ 0.95	2.41 $\pm$ 3.25
E-PM (n=4)	Day 3	0.82 $\pm$ 0.55	0.76 $\pm$ 0.23

※Mean $\pm$ SD