

4) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

正常血圧ラットと比較して心臓血管系への影響が鋭敏に現れる可能性がある自然発症高血圧ラット (SHR) 及びその対照群である Wistar/Kyoto ラット (WKY) を用いて、PM_{2.5} による高血圧ラットの呼吸循環器系への影響を検討した。

(2) CAPs (濃縮大気粒子) 曝露システムを用いた PM_{2.5} による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究 (第2期研究)

第2期では、平成15年度から平成18年度にかけて、横浜市内に設置された濃縮大気粒子 (Concentrated Air Particles : CAPs) 曝露システムを用いた CAPs の各種短期吸入曝露実験を実施した。

第2期においては、第1期における成果も踏まえつつ、PM_{2.5} 曝露に対する高感受性と考えられる病態である肺の炎症・不整脈・高血圧や老齢に着目し、これらの病態等を持つ動物又は類似する病態を誘発させた動物を用いて、計4課題の CAPs 吸入曝露実験を行った。

各課題とも、複数年 (4年間) にわたり計6~8回実験を繰り返すことにより進められた。これらの実験結果の評価にあたっては、各実験回別に CAPs 曝露と生体影響指標との関連性を検討するだけでなく、全実験回を統合し解析することとした。統計解析にあたっては、まず、CAPs 曝露有無と各生体影響指標との関連性解析を行い、CAPs の吸入曝露により心機能又は呼吸機能に有意な変化が起こりうるのかどうかについて検討し、次に、CAPs 曝露により有意な変化が認められた場合を中心に、CAPs 曝露濃度と生体影響指標との傾向性の解析を行い、必要に応じて CAPs 成分と生体影響指標との関連を調べた。

① CAPs 吸入曝露が肺障害に及ぼす影響に関する研究

1) マウスの細菌毒素による肺傷害に及ぼす影響

呼吸器系の炎症性傷害に着目し、第1期と同じ正常雄性マウス (6週齢) を用い、細菌毒素又は vehicle (対照溶液) を気管内投与後に CAPs 吸入曝露を行い、マウスの細菌毒素による肺 (の炎症性) 傷害に及ぼす影響について検討した。

② CAPs 吸入曝露が呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究

1) モルモットのキニジン誘発不整脈に及ぼす影響

キニジン投与による不整脈誘発モルモットを用い、CAPs 吸入曝露がモルモットの不整脈の易誘発性に及ぼす影響を検討した。

2) 老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

第1期と同様に老齢ラット (22~24ヶ月齢) を用い、CAPs 吸入曝露が老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響について検討した。

3) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

第1期同様、SHR ラット及び WKY ラットを用い、CAPs 吸入曝露が高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響を検討した。

《参考》 CAPs 曝露システムについて

本研究で用いた CAPs 曝露システムは、ハーバード大学において開発されたもので、サンブラによ

り捕集された大気中の微小粒子 (PM_{2.5}) をバーチャルインパクトによって粒径 0.1 μm~2.5 μm の粒子とガスを含む粒径 0.1 μm 以下に分粒し、これを繰り返すことにより PM_{2.5} を高濃度に濃縮し、曝露チャンバーで動物への吸入曝露を実施するシステムである。米国等で大気中粒子状物質の吸入曝露実験などの目的で活用されている。

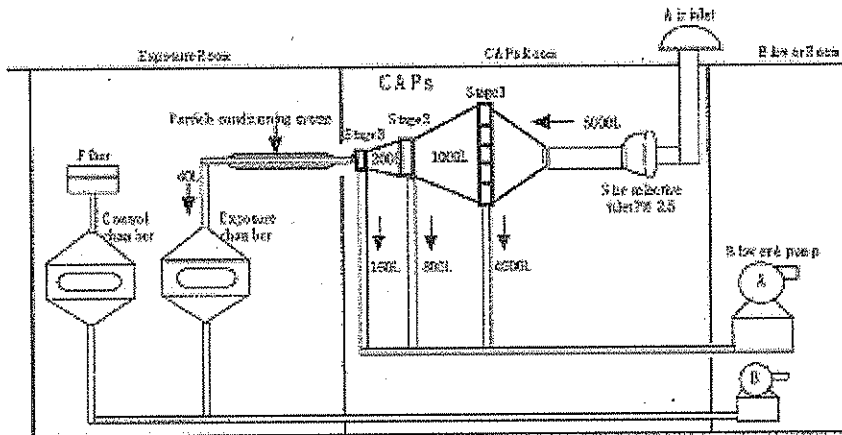


図 CAPs 曝露システムの構成

3. 調査結果

(1) 大気中微小粒子状物質抽出物 (PM_{2.5} 抽出物) を用いた PM_{2.5} による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究 (第 1 期研究)

①細胞を使った PM_{2.5} 抽出物の影響に関する研究

1) ラットの血管内皮微小環境に及ぼす影響に関する研究

PM_{2.5} 抽出物は血管内皮細胞に酸化ストレスを与え、凝固線溶系に影響を及ぼすことが示唆された。

②PM_{2.5} 抽出物の気管内投与が呼吸器系及び循環器系に及ぼす影響に関する研究

1) 細菌毒素に関連する肺傷害に与える影響

PM_{2.5} 抽出物は、それら単独では正常マウスの肺への炎症を惹起する可能性が低い場合でも、細菌毒素により肺の炎症を誘発したマウスにおいては、細菌毒素受容体や炎症性サイトカインやケモカインの発現増強あるいは抗炎症性サイトカインの発現減弱等を介し、炎症を増悪する可能性があることが示唆された。

2) 心不全マウス及びラットの循環機能に及ぼす影響

正常ラット及び心不全ラットともに、PM_{2.5} 抽出物の気管内投与によって特異的な心電図影響は認められなかった。

3) 若齢、老齢及び心肺疾患ラットの循環機能及び肺組織に及ぼす影響

若齢及び老齢ラットへの PM_{2.5} 抽出物の気管内単回投与により、いずれも初期に軽度の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。

4) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

自然発症高血圧ラット (SHR) において $PM_{2.5}$ 抽出物の投与後に明らかな肺抵抗の増加、心電図 R-R 間隔の延長 (心拍数の減少) 及び HF 成分 (副交感神経活動) の増加が認められたが、対照群 (WKY) では $PM_{2.5}$ 抽出物投与後に肺抵抗が増加したが心拍数及び副交感神経活動の有意な変化はなかった。

<まとめ>

第1期の気管内投与実験及び細胞を用いた結果から、ラットの血管内皮細胞を用いた実験により $PM_{2.5}$ 抽出物がラットの血管内皮細胞に酸化ストレスを与え得ること、気管内投与実験により定性的ではあるが $PM_{2.5}$ 抽出物がマウスの肺の炎症を増悪する作用、自然発症高血圧ラット (SHR) において心拍数の減少や副交感神経を介した影響などをもたらす得ることが確認された。

第1期の実験で得られた成果は、第2期に実施したCAPs曝露システムを用いた吸入曝露実験の実験計画に反映させる観点でも有用であったが、気管内投与と吸入曝露とでは気道内での分布等が異なる点も考慮する必要があり、第2期に実施したCAPs曝露システムを用いた吸入曝露実験で得られた成果に含めて評価することとした。

(2) CAPs (濃縮大気粒子) 曝露システムを用いた $PM_{2.5}$ による呼吸器系及び循環器系への影響に関する調査研究 (第2期研究)

今回の実験で用いた CAPs 曝露システムは、大気中 $PM_{2.5}$ を効率よく濃縮して小動物等に吸入曝露するために開発された装置であり、米国等での稼働状況及び国内での稼働上の問題点等を踏まえて設計・製作し設置した。

このシステムの濃縮特性について、濃縮率は実験日によって異なるが、動物曝露実験 (平成 15~18 年度) を通じて概ね 10~60 倍程度 (全体平均 35 倍) であった。また、濃縮率は粒径毎にやや異なり必ずしも一定ではなく、粒径 $0.1\mu m$ (100nm) 以下の超微小粒子はほとんど濃縮されていないことから、同システムにより得られた CAPs は現実大気中 $PM_{2.5}$ を高濃度で濃縮したものではあるが、その粒径分布や成分構成は大気中 $PM_{2.5}$ と異なることに留意しておく必要がある。

①CAPs 吸入曝露が肺傷害に及ぼす影響に関する研究

1) マウスの細菌毒素による肺傷害に及ぼす影響

CAPs 曝露は、細菌毒素による気管支肺胞洗浄液中への炎症細胞浸潤を増悪させた。また、曝露日によって、炎症性タンパク (IL-1 β 、MIP-1 α 、MCP-1、KC) の肺局所における発現を増強させたが、この結果は気道への炎症細胞浸潤と相関はしていなかった。また、CAPs 曝露と炎症のパラメーターには、気道への好酸球浸潤について (CAPs 曝露により) 増強する傾向を認めた以外、相関は認めなかった。

以上より、CAPs 曝露は時として細菌毒素と協調して肺での炎症・傷害を増悪しうることを示唆された。

②CAPs 吸入曝露が呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究

1) モルモットのキニジン誘発不整脈に及ぼす影響

キニジン投与による影響は、CAPs 曝露群が除粒子対照群に比べて、わずかではあるが心臓の興奮性と再分極過程を抑制する傾向があるように見えた。また、CAPs 曝露自体は曝露直後の麻酔下の多くの個体 (モルモット) で心拍数を上げる方向に作用する可能性が考えられた。

今回の研究では、CAPs が明瞭に不整脈を誘発するといった現象は認められなかったが、心筋の興奮性をわずかながらも不安定にする可能性が存在するものと思われた。

2) 老齢ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

PM_{2.5} と心不全の関係を裏付けるに十分な心拍数、血圧、体温、自律神経活動性への明確な影響は認めなかったが、3日間曝露期間中の非曝露時間帯で、CAPs 曝露群で心拍数の増加傾向を認めた。また、心機能指標と CAPs 成分との間に一貫して関連傾向を認める成分は、認めなかった。

CAPs の心肺組織及び血管系での炎症反応を評価する気管支肺胞洗浄液と血液、血液凝固系、組織炎症性サイトカイン・ケモカインなどの指標には、除粒子対照群と比較して CAPs 曝露の影響を反映し、鋭敏に増減した指標は認めなかった。

3) 自然高血圧発症ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響

CAPs 曝露により、副交感神経活動の指標である HF の増加、心拍数の減少が確認された。交感神経活動の指標である LH/HF には曝露の影響は認められなかった。呼吸器の指標である Penh は曝露により増加傾向を示した。以上の影響は、SHR に強く出る可能性があった。血液凝固系の指標には CAPs 曝露の影響は出なかった。上記の指標と曝露粒子濃度との関連性については、明らかとは言えなかった。しかし、濃度が高いほど影響が出る可能性が考えられる例もあった。

<まとめ>

第2期の CAPs 曝露システムを用いた実験結果から、CAPs 曝露が肺障害に及ぼす影響に関しては、マウスを用いた実験等より CAPs 曝露が細菌毒素による肺の炎症性の変化を増悪させる可能性があること等が確認された。

また、循環器系に及ぼす影響に関しては、高血圧ラットの実験より CAPs 曝露中に副交感神経系が優位となり心拍数の減少が観察されたが、一方で老齢ラット及び高血圧ラットの実験において CAPs の曝露終了後に心拍数が上昇する傾向が見られており、今回の実験結果から呼吸器に沈着した CAPs が心拍数変化に影響するかどうかを推測することは難しいものの CAPs 曝露より循環器系に何らかの変化が生じることは否定できないと考えられた。

《第1期及び第2期を通じたまとめ》

第1期の PM_{2.5} 抽出物の気管内投与実験と第2期の CAPs 吸入曝露実験ともに見られた変化は、細菌毒素による肺の炎症の増悪である。微小粒子状物質の曝露による肺の炎症の増悪が、循環器系に直接影響を及ぼす可能性は低いとしても、肺の炎症を介した間接的な影響は必ずしも否定できない。また、SHR ラットを用いた実験において、第1期と第2期ともに、CAPs 曝露中に心拍数が低下する傾向が認められたものの、微小粒子状物質が循環器系に及ぼす影響に関して明瞭な結果は得られなかった。