

Kleinman ら(2003)は、ラットを用いてカーボン粒子(EC:elementary carbon)と(NH₄)HSO₄ (ABS:ammonium bisulfate)との混合物の長期効果(曝露時間 4 時間/日、3 日連続/週、4 週間)を検討した。粒径 MMAD:は 0.3 μ m であった。各群の曝露濃度は、1 群:清浄空気、2 群:O₃0.198 \pm 0.004ppm、3 群:EC 51.35 \pm 12.15 μ g/m³+ABS 76.25 \pm 18.36 μ g/m³+O₃ 0.194 \pm 0.004ppm、4 群:EC 92.35 \pm 18.51 μ g/m³+ABS 136.29 \pm 27.61 μ g/m³+O₃ 0.197 \pm 0.003ppm であった。結果として、①BrdU ラベリングによる細胞再生の指標は、1 群を 100 として 2 群(O₃)で 120%、3 群で 310~340%、4 群で 200~290% ②BALF 中のアルブミンからみた透過性は 3 群でのみ有意に増加、しかし細胞の生存、回収率、細胞分面に影響なし、③マクロファージの Fc レセプター発現は 3、4 群で低下、呼吸バーストは 3 群、4 群で低下した。O₃ 単独よりも O₃ と微小粒子の混合物の方が、毒性があることが報告されている。

Cassee ら (1997)は、マウスで NH₄HSO₄ 粒子の曝露影響を検討した。粒径は ultrafine:85nm、fine(low mass):531nm、fine(high mass):453nm [mass median diameter] であり、曝露濃度は ultrafine:235 μ g/m³、fine(low mass):78 μ g/m³、fine(high mass):972 μ g/m³、曝露時間は 4 時間/日、連続 3 日間であった。肺やアレルギー反応に関するいずれの指標でも有意な結果を認めなかった。

Cassee ら(1998b)は、マウスで NH₄NO₃ 粒子の急性曝露効果(曝露時間 4 時間/日、連続 3 日間)を検討した。粒径は、ultrafine:0.03 μ m、fine:0.3 μ m で、曝露濃度は 250 μ g/m³ であった。肺やアレルギー反応に関するいずれの指標でも有意な結果を認めなかった。

Cassee ら(1998a)は、マウスで(NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O 粒子の急性曝露効果(曝露時間 4 時間/日、連続 3 日間)を検討した。粒径は 459nm、曝露濃度は 250 μ g/m³ であった。その結果、肺や気管に関するいずれの指標でも有意な結果を認めなかった。

Elder ら(2000a)は、F344 ラット(雄、10 週齢、20 月齢)に Ultrafine carbon particles(UCP、CMD 25 nm、100 μ g/m³、ヒトでは 50 μ g/m³ に相当)と O₃(1 ppm)に、6 時間単独曝露あるいは混合曝露(LSP:12 分、30 分後に UCP および O₃ 曝露開始、UCP および O₃:6 時間曝露)した。

気道感染のモデルとして低濃度のエンドトキシン(LPS)吸入によるプライミングを行った。BALF の炎症指標と BALF 細胞からのオキシダント遊離を曝露 24 時間後に調べた。若年ラットでは UCP、O₃、LPS の肺炎作用が認められ、また O₃ と LPS の混合曝露では炎症が抑えられることが認められた。老年ラットでは LPS と O₃ のみ有意な炎症作用が認められ、UCP と O₃ の混合曝露ではそれぞれの単独曝露以上の肺の炎症が認められた。BALF 細胞からのオキシダント遊離は一般的に多核白血球(PMN)反応と一致していたが、若年ラットでは LPS プライミングした UCP および O₃ 曝露群でオキシダント遊離が減少していた。

老年ラットではこの混合曝露では逆にオキシダント遊離が増加していた。

著者らはこの結果から都市のUCPは感受性のあるヒト集団の罹患率上昇に関与し、また、加齢、高濃度 O₃との混合曝露は肺の炎症および炎症細胞活性化に影響を及ぼすと述べている。

Elder ら(2000b)は、大気中粒子状物質濃度の増加と高齢者における心肺疾患罹患率との間に関係があるといういくつかの疫学報告に基づいて、ultrafine carbonaceous particle(UCP)と O₃が協働して肺の酸化ストレスや炎症を引き起こしており、さらに損傷を有する肺や老化した肺ではそれが増強するという仮説を立て、以下の実験を行った。損傷を有する肺のモデルとしてエンドトキシン曝露マウスと老化した肺気腫マウス(TSK マウス)を用いた。8週齢または22月齢のF344ラット(SPF)(雄)、および14~17月齢のTSKマウス(雄、肺気腫)にUCP(CMD25nm、110 μg/m³)およびO₃(1 ppm)を単独あるいは混合で6時間曝露(エンドトキシン:12分、30分後にUCPおよびO₃曝露開始、UCPおよびO₃:6時間曝露)した。エンドトキシン(Estimated alveolar deposited dose; 70 unit/個体 and 7.5 units/個体)の吸入は呼吸器感染のモデルとして用いた。曝露24時間後にBALFを調べた。肺胞腔内への炎症細胞の浸潤は両方の種、年齢で認められた。エンドトキシン処理に続くUCPとO₃の混合曝露群がもっとも高いBALF中好中球数を示した。BALF中の炎症細胞からの活性酸素種遊離は刺激の有無にかかわらず好中球反応とよく相関していた。ANOVA解析によるとUCPとO₃の相互関係と同様にUCPの有意な影響が認められた。しかしながら、若年ラットではUCPとO₃混合曝露では活性酸素種活性は抑えられたが、老年ラットおよびTSKマウスでは活性酸素種活性が増強していた。すなわち肺の炎症細胞遊離の機序が年齢依存的に異なるといえる。以上の結果から、UCPの短期間曝露で有意な肺の炎症や酸化ストレスを引き起こされ、この炎症や酸化ストレスは年齢や他の物質の同時曝露、さらには呼吸器の損傷により修飾されることが示された。

Elder ら(2004b)は、ラットにおいて超微小カーボン粒子(UCP)(粒径36nm、曝露濃度:150μg/m³)の急性曝露効果(曝露時間6時間)を検討した。LPSは肺胞間隙の好中球には変化をあたえないが、血液還流中の好中球の割合を増加させた。F344ラット、SHRともUCPで肺の炎症は起こらなかった。UCPは血中の好中球を減少させ、細胞内が蛍光染色の酸化が増加した。また血清中のトロンビン-アンチトロンビン複合体とフィブリノゲンの値は増加した。2種類のラットでトロンビン-アンチトロンビン複合体のレベルが異なっていた。都市大気中に時々生じる高濃度の粒子のモデルとして吸入されたUCPは、高齢ラットの肺以外への影響と炎症性刺激の反応性に変化を与えることが示唆できた。

Alessandrini ら(2006)は、マウスで超微小カーボン粒子(Elemental carbon ultrafine particles、粒径:34.8±0.5nm(CMD)、53.1±13.4nm(VMD) 曝露濃度:119、332、526

$\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均))のアレルギー性気道炎症への急性影響を調べた。カーボン粒子の曝露時間は24時間であるが、抗原感作とのタイミングを検討し、その影響メカニズムを解析した。その結果、最終の抗原感作より24時間前、及び4日前にカーボン粒子を曝露した群でより炎症反応やサイトカイン産生が増強しており、抗原感作後の曝露では炎症反応の遅れやサイトカイン産生の低下がみられた。抗原感作前のカーボン粒子曝露は、強力なアジュバント効果を生じることが示された。

Takenakaら(2004)は、Ultrafine cadmium oxide particles (CdO)、(粒径：40～50 nm、曝露濃度：低曝露群： $70\mu\text{g Cd}/\text{m}^3$ 、 1×10^6 個/ cm^3 、高曝露群： $550\mu\text{g Cd}/\text{m}^3$ 、 2.2×10^6 個/ cm^3)の急性曝露実験(曝露時間6時間)を行った。その結果、①ラットにCdOを吸入させたところ16～19%が肺に7日間滞留した。肝臓と腎臓のCd量も軽度だが増加した。②高濃度のCdOを吸入させると肺胞壁の肥厚と好中球およびリンパ球浸潤、BALF中の好中球増加がみられた。CdOの吸入は、肺に滞留するのみではなく、肝臓や腎臓に移行することが示された。

Pinkertonら(2004)は、SDラット(10日齢)に対するsoot(すす)およびFe粒子の急性効果(曝露時間6時間/日、3日間)を検討した。粒径のメディアン径は72～74nm(combined mixture of Fe/soot particles)であり、sootとFeの曝露濃度は $250\mu\text{g}/\text{m}^3$ ($243 \pm 34\mu\text{g}/\text{m}^3$)、このうちFeの曝露濃度は $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ ($96\mu\text{g}/\text{m}^3$)であった。解剖を行う2時間前にBrdUを腹腔内投与した。細気管支、肺実質、近位肺胞領域でのBrdUの取り込みを検討した結果、近位肺胞領域においてのみ、soot+Fe曝露群で有意な減少が認められた。肺胞サイズは、両群において有意な差は認められなかった。この結果は、微粒子曝露が肺胞形成を障害する可能性を示唆したと報告している。

Zhouら(2003)は、正常成獣ラットに6時間/日で3日間にわたってsoot(すす)単独($250\mu\text{g}/\text{m}^3$)、Fe粒子単独($57\mu\text{g}/\text{m}^3$)、sootとFeの併用(soot $250\mu\text{g}/\text{m}^3$ とFe粒子 $45\mu\text{g}/\text{m}^3$)の3条件で曝露した。sootあるいはFe単独条件では効果がほとんど見られなかったのに対し、sootとFeの併用曝露群では、肺組織のフェリチンの有意な誘導、抗酸化力の有意な減少、IL-1 β の上昇とシトクロムP-450の上昇およびNF- κ Bの活性化がみられた。sootとFe粒子は、共存すると酸化ストレス作用を相乗的に引き起こすことが示された。

2) 循環器系

ChenとNadziejkoら(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の一種)、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 \pm 79

$\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、ApoE^{-/-}: $120\pm 90 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、DK(雄): $131\pm 99 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、DK(雌): $131\pm 99 \mu\text{g}/\text{m}^3$)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)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。

Gunnison と Chen (2005) は、動脈硬化マウスにおけるCAPs曝露の影響を明らかにする目的で慢性曝露実験を行った。ApoE^{-/-}マウスとDKマウスに対して、CAPs(ニューヨーク州由来、10倍濃縮)を $131(\pm 99) \mu\text{g}/\text{m}^3$ (曝露期間の平均濃度(\pm SD)、日平均濃度範囲は $13\sim 441 \mu\text{g}/\text{m}^3$)と、清浄空気を6時間/日、5日/週、約4ヶ月連続の条件で吸入曝露した。動脈硬化をきたしやすいマウス(ApoE^{-/-}マウス)を用い曝露終了後に、心臓と肺を摘出し、発現遺伝子をAffymetrix社のGeneChipを用い、網羅的に解析した。対照群に比較し、CAPs曝露群で1.5倍以上の有意な変化が見られた遺伝子は、肺に関しては存在しなかった。心臓に関しては、Rex3遺伝子が、有意な変動を示した。解析法を修飾すると、心臓において10程度、肺において30~40の遺伝子が軽度に変動していた。PM曝露に関連した肺や心臓の病態にいくつかの遺伝子発現が示されたが、それらの関連性を確定するにはより詳細な研究が必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。

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。

Lippmannら(2005b)は、CAPs曝露による動脈硬化疾患モデル動物の循環器影響を明らかにするために、亜慢性曝露実験を行った。ApoE-/-マウスとダブルノックアウトマウス(ApoE-/-LDLr-/-)に対して、CAPs(ニューヨーク州由来、10倍濃縮)を、 $110 \mu\text{g}/\text{m}^3$ の曝露濃度で、6時間/日×5回/週で5または6ヶ月間曝露した。ApoE-/-マウス(大動脈プラーク)、ApoE-/-LDLr-/-DKマウス(大動脈と冠動脈プラーク)の動脈硬化疾患モデル動物を用いてCAPsの亜慢性曝露を行った。ApoE-/-マウスにおいて、CAPsの日間変動は循環機能の変化(心拍数の低下)と関連があった。CAPsを曝露したApoE-/-マウスにおいて、曝露終了後の循環機能、動脈硬化様プラーク、冠動脈変化、脳の黒質の細胞密度が除じん空気曝露群に比べて有意に見られた。ApoE-/-LDLr-/-DKマウスにおいて、サーカディアンリズムに関する遺伝子発現の変化の兆候がみられた。ApoE-/-マウスでは、循環機能やプラーク形成において亜慢性曝露したCAPsの影響が見られた。本研究で得られた結果は、過剰死亡に関する疫学データに生物学的妥当性を与えるもの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症ラット(SD)に、テレメトリー送信機を装着し、CAPs を 108~338 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (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、脈拍、血圧、深部体温を記録した。CAPs 曝露時には、清浄空気曝露時に比較し、脈拍は早期に低下し、その後徐々に増加し、曝露 11 時間後にピークに達した。1 時間後には 14.9bpm、2 時間後には 11.7bpm の脈拍低下が見られた。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。

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(ニューヨーク州タキシード(Tuxedo)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、心室性不整脈ほ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_{2.5} 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示唆している。

Lippmann ら(2005c) は、PM_{2.5} の成分と心拍数、心拍変動との関連性を明らかにする目的で、慢性実験を行った。ApoE^{-/-}と C57 マウス(対照群)に対して、CAPs(粒子径 2.5 μm 以下)を 113 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の濃度で、6 時間/日 \times 5 日/週の条件で吸入曝露した。C57 マウスでは心拍数、心拍変動に変化はなかった。ApoE^{-/-}マウスでは、PM_{2.5} 曝露の影響が認められた。すなわち、一部の時間帯(明期)では心拍変動パワー値の減少が RO 成分(residual oil)に強く相関して認められた。また、イオウ二次生成物は心拍数の減少に強く相関した。動脈病変マウスの心拍変動における CAPs 曝露の影響が認められたが、今後さらに詳細な研究が必要であると述べている。

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 μm (空気力学的直径)の DE を、0、30、100、300、