

3. 循環器（心血管系）への影響

3.1 仮説の紹介

米国等における大気汚染の健康影響に関する疫学研究において、微小粒子状物質が循環器への影響に伴う過剰死亡と関連があることが示されてから、細胞や小動物等を用いた実験的研究においても微小粒子状物質の循環器系への影響に関する研究が蓄積されてきた。

ヒトおよび実験動物における微小粒子状物質の吸入による一般的な循環器疾患の発現機序については、これまで世界中で膨大な数の基礎研究と臨床研究がなされている。

循環器疾患の原因の一つとなる不整脈の発生については、健常者よりも虚血性心疾患患者（冠動脈閉塞などによる心筋梗塞）、動脈硬化症や高脂血症を伴う高血圧患者、先天性・後天性 QT 延長症候群患者などに現れやすい。また、運動時や起立時など循環器への機能的負荷が増大する際に不整脈が生じやすい。この発生には、自律神経バランスの変化が密接に関与していると考えられる。

また、粒子状物質が心血管系に作用を及ぼすと考えられる他の経路として、粒子状物質が血管内皮細胞を障害することで血小板の活性化、フィブリノゲンの増加、血栓形成が促進される可能性が挙げられる。このような凝固線溶系の変化は塞栓症を起こしやすくし、血管抵抗の上昇や冠動脈閉塞による心血管系影響が現れやすくなると考えられる。

さらに、微小粒子状物質が気管支や肺実質を刺激し炎症性影響をもたらすことが知られているが、その結果として炎症性の内因性物質による心臓への直接的影響や気道粘膜の知覚神経刺激による心臓への反射性影響が生じうるという可能性もある。また、肺に沈着した粒子状物質中の成分が血液中に吸収される場合には、それらの成分の心血管系に対する直接作用（酸化作用など）の可能性も否定できない。

国内外の文献的知見あるいは学術集会における議論等から、微小粒子状物質を吸入することによって引き起こされる循環器系への影響は、自律神経系を介した影響あるいは肺の炎症、血液の凝固線溶系の変化、粒子状物質成分の血管内への浸出を介した影響のいずれか、あるいはこれらの組み合わせによるものと推察される。

以上の背景を踏まえ、影響評価に関する以下の仮説を設け、それぞれの仮説項目について概要を述べる。

- (1) 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる
- (2) 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす
- (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
- (4) 血液の凝固線溶系への影響がみられる
- (5) 心機能変化において呼吸器系の刺激が影響する
- (6) 微小粒子（粒子中成分）は血液中に浸出し心血管系に影響を及ぼす
- (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

(8) 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

3.2 論文の紹介

3.2.1 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる

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/0.3mL 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 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、CO(一酸化炭素)を 35ppm、CAPs を 348.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 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 93.7~1,055.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、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。

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 0.8~0.4 μm でレンジは <3 μm であり (Bagate ら (2004))、構成は 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、Zn²⁺(50 μM)、PM(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)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ー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 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、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。

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。

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、 O_3 曝露は $n=4$ 、対照は $n=3$): 1ppm O_3 の曝露(6 時間)後、0、2.5mg 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。 O_3 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、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 NiSO_4 、 VSO_4 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、② 0.105mg $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③ 0.263mg NiSO_4 、④ 0.245mg VSO_4 、2 群(モノクロタリン処置群、各 n=10): ① 生理食塩水投与、② 0.105mg $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③ 0.263mg NiSO_4 、④ 0.245mg VSO_4 、3 群(モノクロタリン処置・金属混合群、各 n=6): ① $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{VSO}_4$ 、② $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4$ 、③ $\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ 、④ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ 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°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。

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。

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なかった。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-6mRNA 発現量、フィブロンネクチン、G6PD は WKY、SHR で同様に増加していたが、MIP-2mRNA 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。

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×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。

Gordon ら (2000) は、F344 ラット(雄)にモノクロタリンを前投与して右心肥大と肺高血圧を誘導した後に、Gerber 遠心エアロゾル濃縮器を用いたニューヨークの CAPs を吸入曝露(曝露濃度:134~400 μ g/m³、3~6 時間/日、1 日)して、呼吸機能、心電図、BALF 中の炎症性細胞と LDH 活性を測定した。モノクロタリンを前投与したラットにおいて、ニューヨークの CAPs の 6 時間曝露により BALF 中の好中球が有意に上昇したケースも見られたが、一定した傾向が見られず、心肺機能においても特筆すべき変化は見られなかった。

3.2.2 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす

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。

Rhoden ら (2005) は、CAPs の吸入および都市大気粒子(UAP)の気管内投与による心臓の酸化ストレスの変化と自律神経機能との関連を調べるため、急性実験を行った。SD ラットに対し、CAPs を吸入曝露し、UAP として標準試料 1649(The National Institute of Standards and Technology、Washington、USA)を気管内投与した。CAPs の曝露濃度は 700 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。SD ラットに CAPs を吸入曝露(700 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、5 時間)すると心臓の乾湿重量比が有意に増大したが、抗酸化剤の N-アセチルシステインを前処置するとこの増大は見られなかった。また、CAPs 吸入前に自律神経遮断薬を投与すると、CAPs で誘発される心臓の酸化物量のレベル増加が抑制された。これらの成績から、PM 曝露は、自律神経活動を介して心臓の酸化物を増加させること、そして結果的に酸化ストレスが心臓の有意な機能的変化をもたらすことが明らかになった。

Rivero ら (2005) は、PM_{2.5} がラットの全身における炎症や肺と心臓における血管系の狭窄をもたらすか否かについて明らかにする目的で、急性実験を行った。曝露物質としてサンパウロ(ブラジル)市内の交通量の極めて多い中心部の上空 15m から大気を採取、2.5 μm 以下のものを選別した。PM_{2.5} は S、As、Br、Cl、Co、Fe、La、Mn、Sb、Sc、Th などの構成要素から成っていた。蒸留水 1 mL に PM_{2.5} を 100 μg 希釈したもの(PM100)または蒸留水 1 mL に PM_{2.5} を 500 μg 希釈したもの(PM500)を投与した。気管内投与は 38 匹の健康な Wistar ラットにペントバルビタールで麻酔(30mg/kg(体重) i.p.)をかけたのち、上記の溶液を各々気管内投与した。網状赤血球総数は PM100 群と PM500 群の両方で有意に増加し(p<0.05)、ヘマトクリット値は PM500 群でのみ増加した(p<0.05)。分葉核好中球(segmented neutrophils)やフィブリノゲンの定量値は大きく減少を示し、リンパ球数は PM100 群で有意に増加した(p<0.05)。細葉間小動脈の L/W(内腔/壁)比の投与量依存的減少が PM 群で観察された(p<0.001)。細気管支周囲動脈の管腔/壁の割合(L/W 比)は PM500 群で大きく減少した(p<0.001)。心臓における乾湿重量比の有意な増加は PM500 群で観察された(p<0.001)。結論として、サンパウロにおける環境中の微小粒子状物質は肺と心臓の組織学的変化を引き起こすことが分かった。肺の脈管構造は明らかに粒子状物質の気管内投与により影響を受け、健康なラットにおいて明瞭な血管狭窄を示した。

Campen ら (2000) は、ROFA が肺高血圧症モデルラット(モノクロタリンで作製)および正常ラットに及ぼす影響と、異なる飼育環境温度における体温反応への影響を明らか

にする目的で、急性～亜急性実験を行った。ROFA(Dreher ら (1997) に記載)を各種の条件下で気管内投与した。4 群では術後 12 日目にモノクロタリン(60mg/kg(体重))を腹腔内投与し、肺高血圧症状が現れるまでさらに 12 日間を置いた。ラットの飼育環境温度および曝露条件は、1 群(22℃環境飼育):0、0.25、1.0、2.5mg ROFA 投与(各 n=4)、2 群(10℃環境飼育):0、0.25、1.0、2.5mg ROFA 投与(各 n=4)、3 群(22℃環境飼育):1ppmO₃ の曝露(6 時間)後、0、2.5mg ROFA 投与(各 n=4)、4 群(22℃環境飼育):モノクロタリンを腹腔内投与後、0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与(各 n=4)とした。

深部体温：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 を投与した 22℃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℃環境下群も深部体温は同様の濃度依存性を示したが、22℃環境下よりも影響が大きかった。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。モノクロタリン処理群では濃度依存的に持続的に体温が下がり続け、致死率も高かった。

心拍数：心拍数の変化はすべての群における深部体温の変化に酷似していた。

不整脈と心電図変化：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。

臓器重量：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。

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。

Gurgueira ら (2002) は、ラットに CAPs(300±60µg/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 µg/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。

Elder ら (2004) は、超微小粒子(UFP)が悪影響を引き起こす可能性を調べるために F344 ラットをこれらの UFP (平均粒子濃度 37～106 µg/m³)に曝露した。老齢ラットは、高速道路上において曝露システム(mobile emissions laboratory)を使用し、①エアロゾ

ル<1mm)と気相、②気相、③ろ過空気のいずれかに曝露した。何匹かのラットは、前もって炎症を誘導するため低投与量の菌体内毒素もしくはインフルエンザ・ウイルスで処置した。全身チャンバーでの曝露はロチェスターとバッファローの間に Interstate90 号上の 6 時間の運転期間を一度または 3 日間連続で行われた。肺の炎症に関連する指標、炎症性細胞の活性化、および急性反応は曝露後に測定された。道路上の曝露システムではろ過空気を曝露したラットでは測定指標に影響をあたえなかった。血管内皮細胞活性化の変化を示す血漿エンドセリン (ET)-2 の粒子関連の増加を見いだした。さらに、急性反応と炎症性細胞の活性化に関連する粒子による影響を認めた。また、前もって炎症誘導したラットで高速道路上の粒子との相互作用も見いだされた。これらの結果は、道路上の粒子混合物の曝露は易感染性の老齢ラットの肺と心血管系に影響があることを示している。

Chen と Nadziejko (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的一种)、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しめる心臓自律神経機能の攪乱を導くことが示唆された。

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。

Suwa ら (2002) は、動脈病変をもつ動物(ウサギ)における PM₁₀の影響を調べた。曝露物質は、オタワ標準粉じん(EHC-93)であり、粒径は PM₁₀ 0.8 \pm 0.4 μm であった。ウサギ(遺伝性高脂血症(WHHL)ラビット PM₁₀投与群(n=10)、対照溶液群(n=6))に対して、気管内投与を4週間行った。PM₁₀の投与により循環血における多核白血球(PMN)数の増加と骨髄での貯蔵量の増加が観察された。動脈硬化病変の進行と PM₁₀を貪食した肺胞マクロファージ数の増加が見られた。

Sun ら (2005) は、ApoE-/-マウスに PM_{2.5}を6ヶ月吸入させ、大動脈のアテローム性動脈硬化について検討した。ApoE-/-マウスに対し、PM_{2.5}を 85 mg/m^3 の曝露濃度で、6時間/日、5日/週の条件で6ヶ月間吸入曝露した。高脂食群では大動脈の粥腫面積率は PM_{2.5}群で 41.5%、脂肪面積率 30%で、それぞれ対照群より有意に大きかった。正常食群では PM_{2.5}の影響はなかった。フェニレフリン、セロトニンによる動脈収縮率は高脂食群で PM_{2.5}群が対照群に比べて有意に高い値を示した。正常食群では有意差はなかった。アセチルコリンによる動脈弛緩率は高脂食群で PM_{2.5}群が対照群に比べて有意に減少した。これらの実験から、動脈病変をもつ ApoE-/-マウスでは低濃度 PM_{2.5}の長期曝露によって血管運動緊張を変化させ、血管炎症を招き動脈硬化を増強することが示唆された。

Kodavanti ら (2003) は、金属組成が都市部の大気中 PM と類似した oil combustion emission particulate matter (EPM) を曝露し、重油燃焼排気による大気汚染の健康影響を調べるため、急性および慢性実験を行った。SD ラット、WKY ラット、SHR に対し、重油燃焼排気中の粒子状物質(EPM、粒径 1.2 μm 、幾何標準偏差 2.6) を吸入曝露した。連続曝露群では、曝露濃度を 2、5、10 mg/m^3 、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 $10\text{mg}/\text{m}^3$ 、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($110\sim 360\ \mu\text{g}/\text{m}^3$)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 $360\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ 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 $1\ \mu\text{m}$ 以下、 $15\sim 20\text{nm}$)を吸入曝露した。道路上大気中の浮遊粒子状物質濃度が $1.95\sim 5.62\times 10^5$ 粒子/ cm^3 (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、 $37\sim 106\ \mu\text{g}/\text{cm}^3$ 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 0.1~0.2 μm (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 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。

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 μm 以下(PM₁₀)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 0.2ppm [平均 \pm SEM]; DEP:4.4 \pm 0.3ppm; 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)(151ng/mL 対 115ng/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23~124 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 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、O₃が9 \pm 8ppb、NO₂が20 \pm 7ppb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 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 174 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (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。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。

3.2.4 血液の凝固線溶系への影響がみられる

Sjogren (1997) は、粉じんへの職業被曝と虚血性心疾患(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, 8.3mg/kgの重油燃焼飛散灰(ROFA)、あるいは8.3mg/kgのセントヘレナ山の火山灰(MSH, median count diameter 1.4 μ 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 μ m)。投与24時間後に静脈血を採血し、活性化されたthromboplasmin time (APTT)、pothrombin time(PT)、plasma fibrinogen(PF)、plasma viscosity(PV)、complete blood count(CBC)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8.3mg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 μ 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 mg/m³)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SO₄、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。肺胞マクロファージの集積は肺の病巣や肺の広い範囲で見られ、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、5mg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 5mg 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 5mg 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 5mg 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) 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可変性と、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。血液成分の変性、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 23~124 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 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、O₃ が 9 \pm 8 ppb、NO₂ が 20 \pm 7ppb 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 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 174 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (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。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。

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 μ m 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 μ g/m³）。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 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 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。

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 $^{\circ}$ C 環境飼育、各 n=4):0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与、2 群(10 $^{\circ}$ C 環境飼育、各 n=4):0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与、3 群(22 $^{\circ}$ 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、2.5mg ROFA 投与、4 群(22 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 NiSO_4 、 VSO_4 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 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③0.263mg NiSO_4 、④0.245mg VSO_4 、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 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③0.263mg NiSO_4 、④0.245mg VSO_4 、3 群(モノクロタリン処置・金属混合群、各 n=6):① $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + VSO_4 、② $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + NiSO_4 、③ NiSO_4 + VSO_4 、④ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ + NiSO_4 + VSO_4 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°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 $389 \pm 2 \text{ nm}$ (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 ~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応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 $500\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $1,280\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 SO_2 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 SO_2 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サポートした。

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 $2.22\mu\text{m}$ の ROFA を、 $3\text{mg}/\text{m}^3$ 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 $1\mu\text{m}$ 以下、 $15\sim 20\text{nm}$) を吸入曝露した。ORA 濃度が $1.95\sim 5.62\times 10^5$ 粒子/ cm^3 (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、 $37\sim 106\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 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($300\pm 60\mu\text{g}/\text{m}^3$) 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($1.7\text{ mg}/\text{m}^3$ 、30 分)の曝露において認められたが CB($300\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、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 µg/300 µL 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(10µg/kg(体重)、i.v.)、アセチルコリン(3µg/kg(体重)、i.v.)、またはムスカリン(3µg/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 2.5µm 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 μ g/m³、CO(一酸化炭素)を 35ppm、CAPs を 348.4 μ g/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 93.7~1,055.8 μ g/m³、冠動脈閉塞動物で 71.8~741.2 μ g/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 0.8~0.4 μ m でレンジは <3 μ m 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、Zn²⁺(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ー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ため、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 $0.1\sim 0.2\mu\text{m}$ (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。

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、 O_3 曝露は $n=4$ 、対照は $n=3$): 1ppm O_3 の曝露(6 時間)後、0、2.5mg 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。 O_3 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。 O_3 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°C、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、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 NiSO_4 、 VSO_4 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、② 0.105mg $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③ 0.263mg NiSO_4 、④ 0.245mg VSO_4 、2 群(モノクロタリン処置群、各 n=10): ① 生理食塩水投与、② 0.105mg $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、③ 0.263mg NiSO_4 、④ 0.245mg VSO_4 、3 群(モノクロタリン処置・金属混合群、各 n=6): ① $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{VSO}_4$ 、② $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4$ 、③ $\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ 、④ $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3+\text{NiSO}_4+\text{VSO}_4$ 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°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。

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 108~338 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (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 ± 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 $52 \sim 153 \mu\text{g}/\text{m}^3$)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なかった。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。肺泡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-6mRNA 発現量、フィブロンectin、G6PD は WKY、SHR で同様に増加していたが、MIP-2mRNA 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 93.7~1,055.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、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。

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 $2.22\mu\text{m}$ の ROFA を、 $3\text{mg}/\text{m}^3$ 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。

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。

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 (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、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 µg/m³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。

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。

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。

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。

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、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 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。

Kodavanti ら (2000) は、WKY ラット及び SHR に ROFA(15 mg/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。肺泡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-6mRNA 発現量、フィブロンネクチン、G6PD は WKY、SHR で同様に増加していたが、MIP-2mRNA 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。

Vincent ら (2001) は、オタワ標準粉じん(EHC-93)(48 mg/m³)とそれを水ろ過した EHC-93L (49 mg/m³)、Diesel soot(DS)(4.2 mg/m³)、CBP(4.6 mg/m³)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。

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。

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 $^{\circ}$ C 環境飼育、各 n=4):0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与、2 群(10 $^{\circ}$ C 環境飼育、各 n=4):0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与、3 群(22 $^{\circ}$ 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、2.5mg ROFA 投与、4 群(22 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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、② 0.105mg Fe₂(SO₄)₃、③ 0.263mg NiSO₄、④ 0.245mg VSO₄、2 群(モノクロタリン処置群、各 n=10): ① 生理食塩水投与、② 0.105mg Fe₂(SO₄)₃、③ 0.263mg NiSO₄、④ 0.245mg VSO₄、3 群(モノクロタリン処置・金属混合群、各 n=6): ① Fe₂(SO₄)₃+VSO₄、② Fe₂(SO₄)₃+NiSO₄、③ NiSO₄+VSO₄、④ Fe₂(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。

3.2.8 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

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 0.5μm)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の暴露を行った。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)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。

Watkinson ら(1997)のレビューによると、Watkinson らによる多くの研究において、げっ歯動物を生体内異物薬剤に曝露することによって観察される核心温と関連機能パラメーターの低下は、毒性反応を緩和することが示されている。さらに、それらの研究結果は、多くの実験条件が、低体温反応の大きさを変化させることを示した。約2℃の体温降下で特徴付けられた適度の低体温反応は、有害物質に対する最適の保護となって

いるようである。有害ガス、または粒子状物質などの吸入曝露実験では、実験動物が曝露される有害物質の用量は、有害物質の大気中濃度と実験動物の毎分換気量によって決定される。実験では、一般に曝露濃度は一定に保たれるが、毎分換気量は新陳代謝によって変動し、これらのパラメーターが、実験条件全般を変化させる可能性がある。しかしながら、曝露期間中の低体温反応の発現は、新陳代謝や毎分換気量などのパラメーターと、用量の低下と直接関連している。一般的に、吸入曝露による毒物研究では、安静状態の動物に曝露させるか、または運動を行っているヒトに対して曝露させる。動物実験では、運動時の呼吸を模倣し、ヒトでの研究により近似させるため、同時に CO₂ を曝露する。本レビューでは、吸入曝露実験で使われた実験的プロトコルに従って、(1) 動物種や動物の大きさの影響、ハンドリングによるストレスの影響、低体温反応、これらに付随する肺毒性への影響、(2) オゾン急性毒性への運動ストレスの付加的な影響、(3) 正常ラットと肺炎を誘発したラットに対する環境中粒状物質の毒性などに関する検討を行った。これらの研究の結果は、低体温反応の大きさが肺における有害物質の摂取量に正比例し、実験動物の現存量と曝露する際の周囲温度に反比例していることを示した。低体温反応は、実験動物の取り扱いやケージの条件変化などのストレスに対して敏感に反応を示す。運動が低体温反応を減衰させる。一方、運動の代替として通気中の CO₂ を増加させると反応は増強される。正常動物に対しては穏やかな反応を引き起こす有害物質の曝露量であっても、肺疾患、もしくは肺機能に障害を起こしている実験動物に対しては、顕著な低体温反応を誘導することもある。一般に、環境中に有害物質が存在する条件では、低体温反応は動物の毎分換気量を減少させ、大気中の有毒物質の摂取量を制限する。これらの吸入試験の結果は、毒性発現における低体温反応の影響に関する結論を支持し、体温変動をモニターし、毒性学的なデータの分析に組み込む必要性を強調している。一方、人間は有害物質の曝露による低体温反応を示さないため、動物の毒性研究で得られた結果をヒトに外挿することや、ヒトと動物の研究データを比較することは、かなり複雑である。

Watkinson ら (2001) は、O₃ および PM 曝露が心機能と体温調節に及ぼす影響を正常動物と自然発症高血圧モデル、肺高血圧モデルの動物を用いて明らかにすることを目的とした。動物は、F344 ラット、SD ラット、SHR、WKY ラット、C57BL/6J マウス、C3H/HeJ マウス、Hartley モルモットを用いた。モノクロタリン処置による肺高血圧症ラットに対し、O₃(0.25~2.0ppm)、PM(ROFA、オタワ粉じん、ヘレナ火山の火山灰、金属成分、0.3ml の酸性溶液にて溶解)を気管内に投与した。O₃(0.25~2.0ppm)曝露や各種 PM の曝露により、概ね濃度に依存して心拍数と体温が低下した。ラットでは、0.5ppmO₃ 曝露で心拍数は 75~100bpm 減少し、深部体温は 2.5~4℃低下した。しかしこれらの反応は曝露中の生体のストレスなどの環境条件の影響を強く受けた。ROFA など PM の気管内投与によって、初期の急性反応(投与後 0~6 時間)と後から現れる遅発反

応(投与後 12~72 時間)が誘発された。これらの反応には徐脈、低体温に加え高頻度の不整脈および肺炎を伴っていた。健康な SD ラットに対して高濃度の ROFA(2.5mg)を気管内投与すると、心拍数は 50bpm 程度減少し、深部体温は 2℃低下した。これらの変化は 6 時間以内に回復したが、その後 3 日間にわたって散発的な低下が起こった。モノクロタリン処置ラットでは、このような心機能および体温の変化がより誇張されて出現した。これらの反応の少なくとも一部には肺刺激受容器の刺激や副交感神経系を介する機序が働いている可能性が示唆される。

Campen ら (2000) は、ROFA が肺高血圧症モデルラット(モノクロタリンで作製)および正常ラットに及ぼす影響と、異なる飼育環境温度における体温反応への影響を明らかにする目的で、急性~亜急性実験を行った。ROFA(Dreher ら (1997) に記載)を各種の条件下で気管内投与した。4 群では術後 12 日目にモノクロタリン(60mg/kg(体重))を腹腔内投与し、肺高血圧症状が現れるまでさらに 12 日間を置いた。ラットの飼育環境温度および曝露条件は、1 群(22℃環境飼育):0、0.25、1.0、2.5mg ROFA 投与(各 n=4)、2 群(10℃環境飼育):0、0.25、1.0、2.5mg ROFA 投与(各 n=4)、3 群(22℃環境飼育):1ppmO₃ の曝露(6 時間)後、0、2.5mg ROFA 投与(各 n=4)、4 群(22℃環境飼育):モノクロタリンを腹腔内投与後、0、0.25、1.0、2.5mgROFA 投与(各 n=4)とした。

深部体温：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 を投与した 22℃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℃環境下群も深部体温は同様の濃度依存性を示したが、22℃環境下よりも影響が大きかった。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。モノクロタリン処理群では濃度依存的に持続的に体温が下がり続け、致死率も高かった。

心拍数：心拍数の変化はすべての群における深部体温の変化に酷似していた。

不整脈と心電図変化：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。

臓器重量：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。

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。

3.3 論文による仮説の検証

3.3.1 微小粒子状物質の曝露によって不整脈が誘発されやすくなる

CAPs、粒子状物質、ROFA、金属粒子の曝露実験に関する報告では、これらの物質の気管内投与および吸入によって、清浄空気曝露に比べて不整脈や徐脈を生じやすいとする報告や心電図波形の変化を生じやすいとする報告が多く示されている。

冠動脈閉塞による心筋梗塞モデルラットの実験 (Kang ら (2002)) では、自発的に徐脈と期外収縮を起こしているが、PM_{2.5} (2mg/0.3 mL saline) の気管内投与によって徐脈の悪化と心室期外収縮の悪化が誘発されている。この研究報告では心筋梗塞モデルラットは正常な sham ラットに比べて明らかに心機能異常を起こしやすいといえるが、PM_{2.5} を含まない vehicle 液の投与実験がなされていないため、上記の変化が微小粒子状物質によるものか否かの確定を下すことはできない。別の心筋梗塞モデルラットの実験 (Wellenius ら (2004)) では、CAPs (350.5 mg/m³) への吸入曝露は、清浄空気および一酸化炭素への曝露とは異なり、心室期外収縮の発現頻度が有意差には至らないものの増大することを報告している。正常犬に対する CAPs の吸入曝露実験 (Godleski ら (2000)) では、心拍変動解析の低周波 (LF) パワーおよび高周波 (HF) パワーの値が対照空気曝露にくらべて CAPs 曝露では有意に増大したが、自律神経バランスおよび心拍数には有意な変化が認められていない。SHR にオタワ由来の粒子状物質および生理食塩水、LPS を予め気管内投与した後に心臓を摘出し灌流標本を作製して虚血再還流の影響を観察した実験がある (Bagate ら (2006))。この実験では、冠動脈閉塞前の左室内圧は、生理食塩水群 > LPS 群 > 粒子状物質群の順に高いが、35 分間の冠動脈閉塞直後はいずれの群も同じレベルに左室内圧が低下した後、回復過程に差が認められ、生理食塩水群は回復に向かったのに比べて、LPS 群および粒子状物質群は回復しなかった。SHR に CAPs を吸入曝露した実験 (Nadziejko ら (2002)) では、CAPs 曝露開始直後から呼吸数の減少と心拍数の減少が観察されている。これらの減少は CAPs の気道刺激受容器の刺激による効果であると考察している。SHR に清浄空気および DE (30,100,300,1000μg/m³) を 6 時間/日 × 7 日間曝露した実験 (Campen ら (2003)) では、曝露中の明期の心拍数が清浄空気群では減少するのに対して、DE 曝露群では曝露期間中は心拍数が高く維持された。また心電図 PQ 間隔が DE 曝露群では用量依存性に延長することが示されている。正常動物およびモノクロタリン誘発肺高血圧症ラットなどに、ROFA (0.25, 1.0, 2.5mg) または対照液を気管内投与した実験 (Campen ら (2000)) では、これらの動物で投与後に用量依存性の徐脈が現れることが示されている。別の実験で ROFA (0.25, 1.0, 2.5mg) または対照液を正常ラットに気管内投与した実験 (Watkinson ら (2000)) では、投与後の 6 時間以内の急性期と 12~72 時間後の遅延期において徐脈と不整脈が 2 相性に現れることを述べている。この研究では、同時に SHR、モノクロタリン誘発肺高血圧症ラット、正常ラットに対して ROFA (15mg/m³ × 6 時間/日 × 3 日間) の吸入実験を行っており、上記と同様の心機能変化を観察している (SHR

は正常ラットよりも異常が強い)。正常ラットおよびモノクロタリン誘発肺高血圧症ラットに ROFA ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ 、NiSO₄、VSO) を気管内投与した実験 (Campen ら (2002)) では、VSO で顕著な徐脈と不整脈が急性期に現れ、NiSO₄ では同様の変化が遅れて現れることを明らかにしている。正常マウスおよび先天性にアテローム性動脈病変を有すマウス (ApoE^{-/-}マウス、ApoE^{-/-}LDLr^{-/-}DK マウス) に CAPs (52-153 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) を吸入曝露 (6 時間×5/週～5 ヶ月) した実験 (Hwang ら (2005)) では、CAPs の曝露によって上記の疾患モデルマウスにおいて徐脈が明瞭に発現し心拍変動も大きくなった。

冠動脈閉塞による心筋梗塞モデルのイヌに CAPs ($345.25 \pm 194.30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、6 時間×3～4 日) を曝露した実験 (Wellenius ら (2003)) では、CAPs に曝露された心筋梗塞モデルイヌにおいて清浄空気に曝露した群よりも心電図 ST 上昇が顕著であったが、不整脈および徐脈はみられなかった。また、正常ラット (WKY) および SHR に ROFA (15mg/m³) を吸入曝露した実験 (Kodavanti ら (2000)) では、ROFA に曝露された SHR にのみ心電図波形の変化 (ST の低下) が認められている。一方、ROFA (3mg/kg) を高齢のビーグル犬に曝露した実験 (3 時間×3 日間) では、軽度の徐脈がみられたものの、不整脈は観察されず、T 波の波形、振幅に変化がみられなかった (Muggenburg ら (2000))。

また、Gordon ら (2000) は、ニューヨークで捕集された CAPs (実際の大气中濃度の約 10 倍) を正常ラット、正常ハムスターおよびモノクロタリン誘発肺高血圧症ラット、心筋症ハムスターに 3 時間または 6 時間/日×3 の条件で曝露したが心電図変化は観察されていない。

微小粒子状物質曝露影響調査研究報告において、麻酔下でキニジン投与したモルモット、加齢ラット及び高血圧ラットに CAPs を曝露した動物実験の結果を見ると、CAPs 曝露中に心拍数を減少させる効果は明らかではないものの、曝露後に心拍数が上昇する等吸入曝露により実験動物の循環機能に何らかの変化が生じることが否定できないとされている。

数多くの研究で利用されて確立された疾患モデル動物を用いた研究において、微小粒子状物質の吸入あるいは気管内投与によって、期外収縮や徐脈など心機能に明瞭な (統計的に有意な) 変化が観察されている。一部の報告では、疾患モデル動物に対応する正常動物との比較がなされていなく、国内の調査研究においても欧米の研究と比較して明瞭な変化は観察されないものの、ほとんどの報告で疾患モデル動物は対照の正常動物に比べて心機能の異常所見が多い。

これらの実験結果を俯瞰すると、心臓血管系に対する微小粒子状物質の影響について、影響が見られない知見も存在するが、それにもまして期外収縮や徐脈など心機能に明瞭な変化を示す根拠が多く存在する。この知見による影響の違いが何によって生じているものかについては依然不明な点が多いものの、微小粒子状物質の吸入により、実験動物の循環機能について不整脈に関連する変化が生じやすくなるといえる。

3.3.2 微小粒子状物質の曝露によって、心血管系器官の構造や機能の変化をきたし、そのことが不整脈の発現性に影響を及ぼす

CAPs、粒子状物質、ROFA、金属粒子の曝露実験に関する研究について、これらの物質の気管内投与および吸入によって、不整脈の発現性に、血中エンドセリン濃度の上昇、心拍変動の増大等の生理学的、形態学的変化が影響を及ぼすとする報告が多く示されている。

気管内投与実験では、冠動脈閉塞ラットへの PM_{2.5} 曝露による血中エンドセリン濃度の上昇が不整脈の発現に関与すると考察している報告 (Kang ら (2002))、正常ラットへの CAPs 曝露では心拍変動のばらつきが増大 (標準偏差値増加、HF/LF 値の増加=副交感神経亢進) が生じ、そのような変化に自律神経活動による心臓の過酸化物量の増加が関与しているという報告 (Rhoden ら (2005)) がある。また、正常ラットへの粒子状物質の曝露により肺動脈内腔/壁厚比の減少、心臓湿重量/乾重量比の増加が生じるという報告がある (Rivero ら (2005))。モノクロタリン処理による肺高血圧症モデルラットでは、ROFA の曝露によって期外収縮、房室ブロック、徐脈が明瞭に認められたが、これらの曝露動物では右心肥大、肺重量増加、肺の炎症像が生じている (Campen ら (2000))。

これらの実験報告を全体的に考察すると、CAPs や粒子状物質の気管内投与は、心臓内部での生理活性物質の増加や過酸化物の増加を起し、さらに肺動脈の狭窄や肺炎の進行による心臓への圧負荷などの要因が加わることによって、不整脈を誘発しやすくするものと考えられる。

一方、吸入実験においても多くの生理的、形態的指標に変化が出現することが報告されている。すなわち、1) 正常ラットへの CAPs および ROFA の吸入曝露によって、心臓および肺における酸化的ストレス指標が正常レベルの約 2 倍に速やかに上昇する (Gurgueira ら (2002)) こと、2) 老齢ラットへの道路微小粒子の曝露は血漿エンドセリン-2 濃度の上昇をもたらす (Elder ら (2004)) こと、3) アテローム性動脈病変を有す DK マウスでは、CAPs 曝露により血管細胞の増殖性が促進され、大動脈プラークの大きさ、重症度に悪影響をもたらす (Chen と Nadziejko (2005)) こと、4) 先天性に動脈病変を有すマウス (ApoE^{-/-}) への CAPs 曝露によって動脈病変が悪化する (Chen と Hwang (2005)) こと、5) 同様のマウスへの PM_{2.5} の長期曝露によって心拍変動への影響と動脈病変の悪化が認められる (Lippmann ら (2005a)) こと、6) WHHL ウサギへの PM₁₀ の曝露により全身の動脈および冠動脈の動脈硬化病変を悪化させる (Suwa ら (2002)) こと、7) 高脂肪食の apoE^{-/-} マウスへの PM_{2.5} 曝露によって、大動脈の粥状病変の悪化と血管収縮薬に対する収縮反応の亢進が認められる (Sun ら (2005)) こと、8) WKY ラットへの ROFA の長期の曝露によって心筋組織における多発性的変性像、線維化が生じる (Kodavanti ら (2003)) こと、などである。さらに、血液性状に関する

報告もみられる。Gordon ら(1998)は、正常ラットおよび肺高血圧症ラットへの CAPs の吸入によって末梢血の血小板および好中球が増加することを報告したが、常に増加するわけではない。

これらの実験結果を俯瞰すると、CAPs や ROFA の吸入曝露によって主に血管系の形態的な変化を促進する傾向が存在し、とくに潜在的に血管系に異常を持っている動物では血管病変の悪化がより促進されるといえる。このような血管系の異常は、心臓に対する圧負荷を増大させ、不整脈を誘発しやすくするものと考えられる。

3.3.3 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

微小粒子状物質の曝露によって自律神経機能に影響が現れることがいくつかの文献で報告されている。エンドトキシン処理を行った SHR に道路上大気 (ORA) を吸入させた実験では副交感神経の活動亢進による心拍数の減少と交感神経の活動の低下が示されており、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確に述べられている (Elder ら(2007))。一方、ROFA (3.42mg/m³) を心筋梗塞モデルラットに1時間吸入曝露した研究では、心拍間隔のばらつきの減少(副交感神経緊張の低下)がみられている (Wellenius ら(2002))。

正常ラットに CAPs (750 µg/300 µL saline) を気管内投与すると、投与直後~60 分間に心拍間隔のばらつきの増大、HF/LF の増大が生じている (Rhoden ら(2005))。

微小粒子状物質曝露影響調査研究報告において、SHR に CAPs を曝露した動物実験の結果を見ると、副交感神経活動の指標となる HF の増加や心拍数の減少傾向が認められている。多くの動物実験の研究は副交感神経の活動の亢進を示したが、心拍数の増加を示した報告も少数存在する (Vincent ら(2001)、Campen ら(2003))。

一方、ヒトのボランティア実験では、PM_{2.5} や PM₁₀ の曝露で心拍数や心電図への影響が観察されないとする報告 (Nightingale ら(2000)、Petrovic ら(2000)、Gong ら(2003)) もみられるが、心拍変動 (HRV) 解析結果には影響が現れるとする報告もある (Park ら(2005))。それらの多くは、PM_{2.5} の曝露 (Liao ら(1999)、Creason ら(2001)、Holguin ら(2003)、Park ら(2005)) または PM₁₀ (Liao ら(2004)) の曝露によって、HRV が全体的に低下することを示しているが、主に交感神経活動を反映する低周波成分 (LF) と副交感神経活動を反映する高周波成分 (HF) とを比較した場合、HF の低下の方が LF の低下よりも強く生じる傾向があることを明らかにしている。また、このような HRV の低下は健常者に比べて高血圧患者 (Holguin ら(2003))、心血管系患者 (Liao ら(2004)) あるいは糖尿病患者 (Park ら(2005)) でより強く生じる傾向がみられている。これらのヒトの研究で得られた自律神経機能影響に関する傾向は上述の動物実験による傾向とは必ずしも一致しないが、ヒトにおいても動物においても PM_{2.5} および PM₁₀ の曝露が自律神経機能に影響を及ぼすことが示唆される。

3.3.4 血液の凝固線溶系への影響がみられる

CAPs、DEP などの粒子状物質の曝露によって、凝固線溶系の変化が観察されるとする報告が比較的多く認められる (Sjogren(1997)、Gardner ら(2000)、Kodavanti ら(2002)、Ulrich ら(2002)、Ghio と Huang(2004)、Petrovic ら(2000)、Gong ら(2003))。

いくつかの文献で、ROFA の気管内投与による血漿フィブリノゲンの増加、DEP の気管内投与による静脈及び動脈の血栓形成の増大、血小板の活性化が起こることが示されている。DEP の気管内投与実験では、数種の動物種において静脈内の血栓形成の促進が投与量依存性に認められている点は注目される。

ヒトボランティアの研究では、健康な非喫煙者への CAPs 曝露で、BALF 中の好中球の増加や血中フィブリノゲンの増加が認められており、Huang ら(2003)は、CAPs 中の硫酸塩/Fe/Se 因子が BALF 中の好中球の増加、Cu/Zn/V 因子が血中フィブリノゲン増加と関連していて、粒子状物質の特異的成分の重要性を指摘している。健康な志願者の間欠運動下での CAPs の曝露は、WBC 数や LDH の両方の減少およびフィブリノゲン濃度の増加と関連していると結論している。

以上、粒子状物質や DEP の曝露に関する動物実験の結果から、一部の報告を除き血液成分に影響が現れるとする報告が多いといえる。多くの実験では高濃度の粒子状物質への曝露ではあるが、血液凝固系が活性化し、血栓の形成を誘導していくことが示唆された。このような結果は、ヒトボランティアの研究における CAPs 曝露による血中フィブリノゲンの増加に関する報告や大気汚染物質の曝露による血栓症が起こる臨床的報告と傾向が一致している。このような血液性状の変化は、冠動脈閉塞や肺塞栓症を起こしやすくし、また末梢血管抵抗を増大することで心臓への圧負荷を高める可能性がある。

3.3.5 心機能変化において呼吸器系の刺激が影響する

微小粒子状物質は気管支や肺実質を刺激し炎症性影響をもたらすことが知られている。一般に気管支や肺実質の炎症性変化が生じた場合に、心臓や血管系に及ぼす影響メカニズムとしては次の経路が考えられる。① 炎症部位からのサイトカインや生理活性物質の産生と血流への放出、② 気道知覚神経 (気管支 C 線維、肺胞 C 線維、刺激受容器) の刺激による心血管系への自律神経反射、③ 炎症による肺循環障害である。① では心臓や血管の増殖性変化、血管収縮または弛緩などが、② では徐脈と血圧低下、③ では肺鬱血、肺高血圧症、右心負荷などが結果としてもたらされる。

ラットへの PM_{2.5} の気管内投与で誘発された不整脈の発現には心肺反射が主要な要因とは考えられないと考察した文献がある (Kang ら(2002))。しかしながら、気道の知覚神経終末、とくに C 線維の刺激は迷走神経反射による徐脈や血圧低下を誘発することが

生理学的に広く知られている。したがって、呼吸器内に侵入した物質に気道刺激性が存在する場合には、迷走神経中の求心性神経（C線維）を介した遠心性神経（副交感神経）の活性化による心臓影響を無視することはできないものと推測される。実際、PM_{2.5}、CAPs、ROFAの気管内投与実験の多くで投与直後から徐脈が出現している（Kangら（2002）、Campenら（2000）、Watkinsonら（2000）、Campenら（2002））。また、これらの物質の吸入実験でも多くの例で徐脈が認められている（Godleskiら（2000）、Nadziejkoら（2002）、Hwangら（2005）、Nadziejkoら（2004）、Muggenburgら（2000）、Elderら（2007））。上述の実験にはラットやマウスが多く使われており、これらの動物は本来的に交感神経緊張が高い動物であるため、気道刺激が存在する場合の心拍反応は副交感神経側に現れやすいものと考えられる。以上の動物実験の研究報告から呼吸器刺激によって少なからず心血管系へ影響を及ぼすものと思われる。

3.3.6 微小粒子（粒子中成分）は血液中に浸出し心血管系に影響を及ぼす

微小粒子が循環器系に浸出する過程としては、①肺胞に沈着した可溶性粒子の一部が上皮細胞から吸収される経路、②肺胞マクロファージの食作用によって取り込まれた粒子がマクロファージとともにリンパ系に移行した後に血流に入る経路、③沈着した粒子中の可溶性成分が溶解し血液中に移行する経路が考えられる。血液中に移行した超微小粒子の一部は血管系や中枢神経系へと侵入する可能性が示唆されている。これらの微小粒子が血流中に多量に存在する場合は、それらが血管内皮細胞を障害することで血栓形成を促進する可能性が考えられる。上述したように粒子状物質やDEPは血液凝固系を促進しうることが示唆されているが、血液中の微小粒子状物質と血液凝固系および血管内皮障害との因果関係については機序を含めて直接的な証明を行った研究は乏しい。また、気管内投与実験などでは、心臓内の酸化的ストレス指標が増加することが報告（Gurgueiraら（2002））されている。これらの変化が血液内に侵入あるいは溶解した粒子成分による直接作用なのか、あるいは自律神経系（Rhodenら（2005））や他の生体内内因性物質（Kangら（2002））による二次的な影響なのかについても正確なことはまだわかっていない。

3.3.7 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

心筋梗塞モデル（Kangら（2002）、Welleniusら（2004）、Godleskiら（2000））、高血圧症モデル（Bagateら（2006）、Nadziejkoら（2002）、Campenら（2003））、肺高血圧症モデル（Campenら（2000）、Watkinsonら（2000）、Campenら（2002）、Chengら（2003））および動脈硬化症モデル（Hwangら（2005））がCAPs、粒子状物質、ROFA、金属粒子の曝露による心血管系影響の評価に有効に使用されている。これらの実験では、正常動物に比べて疾患モデル動物では期外収縮や徐脈などの心機能変化を起こしやすいか、あるいは心電図波形の変化を起こしやすい（Welleniusら（2003）、Kodavantiら

(2000)) ことを述べた報告が多い。とくに心筋梗塞モデルのラットやイヌ、肺高血圧症モデルのラットでは曝露による不整脈や心電図変化が比較的明瞭に現れている。

心筋梗塞モデル犬を使った実験 (Godleski ら (2000)) では、ボストンの CAPs 吸入曝露によって心電図 ST 上昇がより速やかに発現すること、徐脈が出現すること、心拍変動のパワー (低周波成分と高周波成分) が増大することが示されている。一方、同じ研究で、正常犬では T 波交互脈が CAPs 曝露によって抑制されることから、正常個体では不整脈をむしろ抑制する方向の変化であるとみている。別の心筋梗塞モデル犬の CAPs 曝露実験 ($345.25 \pm 194.30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、6 時間 \times 3~4 日) では、心電図 ST 上昇が明瞭に出現したが不整脈および徐脈はみられなかった (Wellenius ら (2003))。また、正常な加齢ビーグル犬 (平均 10.5 歳) に ROFA ($3\text{mg}/\text{kg}$ 、3 時間 \times 3 日間) を曝露した実験では、徐脈が認められたが、期外収縮などの不整脈は出現せず T 波の波形・振幅にも変化がみられなかった (Muggenburg ら (2000))。

アテローム性動脈病変を先天性に有す ApoE^{-/-}マウスに CAPs を曝露 ($110 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、6 時間 \times 5/週 \times ~5 ヶ月) した実験では、心臓自律神経系活動の曝露初期の亢進とその後低下が示されている (Chen と Hwang (2005))。同じモデルマウスに CAPs を曝露 ($133 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、6 時間 \times 5/週 \times ~5 ヶ月) した実験では、明瞭な徐脈が出現した (Hwang ら (2005))。また、同様の実験系で心拍数の減少は CAPs の日間変動に連動して変化している (Lippmann ら (2005b))。

冠動脈凝固閉塞による心筋梗塞モデルラットでは、PM_{2.5} ($350.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の吸入曝露後 10 分で期外収縮や房室ブロックが出現したが、とくに曝露前から期外収縮が多い個体は曝露によって期外収縮の発現が明らかに多くなった (Wellenius ら (2004))。同様の他の心筋梗塞モデルラットの実験では、ROFA の曝露 ($3.42\text{mg}/\text{m}^3$ 、1 時間) によって期外収縮の著明な増加 (141%) が認められている (Wellenius ら (2002))。

CAPs ($73 \mu\text{g}/\text{m}^3$) の SHR (自然発症高血圧ラット) への曝露によって、曝露開始後 4 時間以内の観察で軽度の血圧低下がみられている (Nadziejko ら (2002))。加齢 F344 ラット (18 ヶ月齢) への CAPs 曝露 ($160, 200 \mu\text{g}/\text{m}^3$; 4 時間) によって、期外収縮と徐脈が明瞭に出現している。SHR に DE を曝露 (0, 30, 100, 300, $1,000 \mu\text{g}/\text{m}^3$; 6 時間 \times 7 日間) した実験では、軽度の期外収縮と明瞭な頻脈、PQ 間隔の延長が認められている (Campen ら (2003))。SHR および正常ラット (WKY) に ROFA ($15\text{mg}/\text{m}^3$) を曝露した実験では、WKY では曝露による心電図影響はなかったが、SHR では ST 分節の低下が現れた (Kodavanti ら (2000))。正常 Wistar ラットにオタワ粒子 (EHC-93 $48\text{mg}/\text{m}^3$) を曝露した実験では、曝露中および曝露終了後に心拍数増加 (頻脈) および血圧上昇が認められた (Vincent ら (2001))。

循環機能の変化は、気管内投与実験においてより明瞭に出現している。PM_{2.5} ($2.0\text{mg}/0.3 \text{ mL}$) を心筋梗塞モデルラットに投与すると、10 分後に明瞭な期外収縮と徐脈が出現している (Kang ら (2002))。モノクロタリン肺高血圧症ラットに ROFA (0.25

～2.5mg) を投与した実験では期外収縮、房室ブロック、徐脈が明瞭に発現している (Campen ら (2000))。高濃度曝露では投与後 24 時間目においても心拍数の減少は回復していない。モノクロタリン肺高血圧症ラットおよび SHR に ROFA (0.25, 1.0, 2.5 mg/0.3 mL) を投与した実験では、SHR で明瞭な期外収縮と徐脈が出現している (Watkinson ら (2000))。この実験では正常ラットにおいても徐脈と期外収縮が出現したが、発現性は疾患モデルラットで強く生じており、肺高血圧症ラットでは死亡率が上昇した (50%上昇)。SHR の心臓障害は肺高血圧症ラットよりも弱かった。Fe₂(SO₄)₃、NiSO₄、VSO₄ の肺高血圧症ラットへの投与では明瞭な期外収縮と NiSO₄、VSO₄ では明瞭な徐脈が認められている (Campen ら (2002))。

日本国内の実験では、正常ラットのほかに SHR、加齢ラット、ドキシソルビシン投与心不全マウス、ラットなどが疾患モデル動物として用いられ、PM_{2.5} あるいは DE の吸入曝露実験がなされている。また正常モルモットに対するキニジン誘発不整脈の発現性も観察している。キニジン誘発不整脈実験では、一部の実験の曝露群では QT 間隔の延長傾向が認められたが、再現性が乏しい。これらの国内研究報告では、曝露によると思われる特異的な循環機能 (心電図、血圧) 変化はほとんど見出されていない。

上記の各種の疾患モデル動物を用いた実験成績を俯瞰した場合、冠動脈の閉塞による心筋梗塞モデル動物およびモノクロタリン誘発肺高血圧症モデルにおいてとくに徐脈や不整脈といった心機能異常が現れやすいように見受けられる。心筋梗塞モデル動物では、虚血心筋部位と正常心筋部位との間で不整脈誘発の受攻性が異なることや心不全による酸素供給能の低下などが感受性亢進の要因として考えられ、肺高血圧症モデル動物では右心負荷による心臓への負担の増大やそれに伴う心臓内の各種の内因性物質 (サイトカインやエンドセリンなど) の変化が関与する可能性が考えられる。

3.3.8 複合大気汚染により影響の増悪が生じる

Ulrich ら (2002) はオタワ由来粉塵 (EHC-93) を O₃ 曝露したラットまたは O₃ 曝露を行っていないラットに気管内投与 (0.1, 1.5, 5mg) し、生理食塩水の投与との比較を行っている。その結果、O₃ 曝露の有無にかかわらず、投与の 2 日後に血漿フィブリノゲンが 20%増加したことを報告している。Watkinson 一派 (Watkinson ら (1997)、Watkinson ら (2001)、Campen ら (2000)) は、ROFA の気管内投与による生体反応が O₃ の前曝露や寒冷環境飼育のストレスによってどのような修飾を受けるかについて研究を行っている。これらの前処置を行った動物では ROFA の気管内投与によって徐脈、不整脈および体温低下が無処置にくらべてより強く起こることを明らかにしている。微小粒子状物質以外の他の要因による複合影響に関する研究は少ないが、肺への O₃ や寒冷ストレス (交感神経緊張亢進) が ROFA などの心血管系作用を高める可能性は否定できない。

引用文献

- Bagate, K., J. J. Meiring, M. E. Gerlofs-Nijland, F. R. Cassee, H. Wiegand, Á. R. Osornio-Vargas and P. J. Borm (2006). "Ambient particulate matter affects cardiac recovery in a Langendorff ischemia model." *Inhal Toxicol* 18(9): 633-43.
- Bagate, K., J. J. Meiring, M. E. Gerlofs-Nijland, R. Vincent, F. R. Cassee and P. J. Borm (2004). "Vascular effects of ambient particulate matter instillation in spontaneous hypertensive rats." *Toxicol Appl Pharmacol* 197(1): 29-39.
- Campen, M. J., D. L. Costa and W. P. Watkinson (2000). "Cardiac and thermoregulatory toxicity of residual oil fly ash in cardiopulmonary-compromised rats. ." *Inhal Toxicol* 12(suppl. 2): 7-22.
- Campen, M. J., J. D. McDonald, A. P. Gigliotti, S. K. Seilkop, M. D. Reed and J. M. Benson (2003). "Cardiovascular effects of inhaled diesel exhaust in spontaneously hypertensive rats." *Cardiovasc Toxicol* 3(4): 353-61.
- Campen, M. J., J. P. Nolan, M. C. Schladweiler, U. P. Kodavanti, D. L. Costa and W. P. Watkinson (2002). "Cardiac and thermoregulatory effects of instilled particulate matter-associated transition metals in healthy and cardiopulmonary-compromised rats." *J Toxicol Environ Health A* 65(20): 1615-31.
- Chen, L. C. and J. S. Hwang (2005). "Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. IV. Characterization of acute and chronic effects of ambient air fine particulate matter exposures on heart-rate variability." *Inhal Toxicol* 17(4-5): 209-16.
- Chen, L. C. and C. Nadziejko (2005). "Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. V. CAPs exacerbate aortic plaque development in hyperlipidemic mice." *Inhal Toxicol* 17(4-5): 217-24.
- Cheng, T. J., J. S. Hwang, P. Y. Wang, C. F. Tsai, C. Y. Chen, S. H. Lin and C. C. Chan (2003). "Effects of concentrated ambient particles on heart rate and blood pressure in pulmonary hypertensive rats." *Environ Health Perspect* 111(2): 147-50.
- Creason, J., L. Neas, D. Walsh, R. Williams, L. Sheldon, D. Liao and C. Shy (2001). "Particulate matter and heart rate variability among elderly retirees: the Baltimore 1998 PM study." *J Expo Anal Environ Epidemiol* 11(2): 116-22.
- Dreher, K. L., R. H. Jaskot, J. R. Lehmann, J. H. Richards, J. K. McGee, A. J. Ghio and D. L. Costa (1997). "Soluble transition metals mediate residual oil fly ash induced acute lung injury." *J Toxicol Environ Health* 50(3): 285-305.
- Elder, A., J. P. Couderc, R. Gelein, S. Eberly, C. Cox, X. Xia, W. Zareba, P. Hopke, W. Watts, D. Kittelson, M. Frampton, M. Utell and G. Oberdorster (2007). "Effects of on-road highway aerosol exposures on autonomic responses in aged, spontaneously

- hypertensive rats." *Inhal Toxicol* 19(1): 1-12.
- Elder, A., R. Gelein, J. Finkelstein, R. Phipps, M. Frampton, M. Utell, D. B. Kittelson, W. F. Watts, P. Hopke, C. H. Jeong, E. Kim, W. Liu, W. Zhao, L. Zhuo, R. Vincent, P. Kumarathasan and G. Oberdorster (2004). "On-road exposure to highway aerosols. 2. Exposures of aged, compromised rats." *Inhal Toxicol* 16 Suppl 1: 41-53.
- Gardner, S. Y., J. R. Lehmann and D. L. Costa (2000). "Oil fly ash-induced elevation of plasma fibrinogen levels in rats." *Toxicol Sci* 56(1): 175-80.
- Gerlofs-Nijland, M. E., A. J. Boere, D. L. Leseman, J. A. Dormans, T. Sandström, R. O. Salonen, L. van Bree and F. R. Cassee (2005). "Effects of particulate matter on the pulmonary and vascular system: time course in spontaneously hypertensive rats." *Part Fibre Toxicol* 2(1): 2.
- Ghio, A. J. and Y. C. Huang (2004). "Exposure to concentrated ambient particles (CAPs): a review." *Inhal Toxicol* 16(1): 53-9.
- Godleski, J. J., R. L. Verrier, P. Koutrakis, P. Catalano, B. Coull, U. Reinisch, E. G. Lovett, J. Lawrence, G. G. Murthy, J. M. Wolfson, R. W. Clarke, B. D. Nearing and C. Killingsworth (2000). "Mechanisms of morbidity and mortality from exposure to ambient air particles." *Res Rep Health Eff Inst*(91): 5-88; discussion 89-103.
- Gong, H., Jr., W. S. Linn, C. Sioutas, S. L. Terrell, K. W. Clark, K. R. Anderson and L. L. Terrell (2003). "Controlled exposures of healthy and asthmatic volunteers to concentrated ambient fine particles in Los Angeles." *Inhal Toxicol* 15(4): 305-25.
- Gordon, T., C. Nadziejko, L. C. Chen and R. Schlesinger (2000). "Effects of concentrated ambient particles in rats and hamsters: an exploratory study." *Res Rep Health Eff Inst*(93): 5-34; discussion 35-42.
- Gordon, T., C. Nadziejko, R. Schlesinger and L. C. Chen (1998). "Pulmonary and cardiovascular effects of acute exposure to concentrated ambient particulate matter in rats." *Toxicol Lett* 96-97: 285-8.
- Gurgueira, S. A., J. Lawrence, B. Coull, G. G. Murthy and B. Gonzalez-Flecha (2002). "Rapid increases in the steady-state concentration of reactive oxygen species in the lungs and heart after particulate air pollution inhalation." *Environ Health Perspect* 110(8): 749-55.
- Holguin, F., M. M. Tellez-Rojo, M. Hernandez, M. Cortez, J. C. Chow, J. G. Watson, D. Mannino and I. Romieu (2003). "Air pollution and heart rate variability among the elderly in Mexico City." *Epidemiology* 14(5): 521-7.
- Huang, Y. C., A. J. Ghio, J. Stonehuerner, J. McGee, J. D. Carter, S. C. Grambow and R. B. Devlin (2003). "The role of soluble components in ambient fine particles-induced changes in human lungs and blood." *Inhal Toxicol* 15(4): 327-42.

- Hwang, J. S., C. Nadziejko and L. C. Chen (2005). "Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. III. Acute and chronic effects of CAPs on heart rate, heart-rate fluctuation, and body temperature." *Inhal Toxicol* 17(4-5): 199-207.
- Kang, Y. J., Y. Li, Z. Zhou, A. M. Roberts, L. Cai, S. R. Myers, L. Wang and D. A. Schuchke (2002). "Elevation of serum endothelins and cardiotoxicity induced by particulate matter (PM_{2.5}) in rats with acute myocardial infarction." *Cardiovasc Toxicol* 2(4): 253-61.
- Kodavanti, U. P., C. F. Moyer, A. D. Ledbetter, M. C. Schladweiler, D. L. Costa, R. Hauser, D. C. Christiani and A. Nyska (2003). "Inhaled environmental combustion particles cause myocardial injury in the Wistar Kyoto rat." *Toxicol Sci* 71(2): 237-45.
- Kodavanti, U. P., M. C. Schladweiler, A. D. Ledbetter, R. Hauser, D. C. Christiani, J. McGee, J. R. Richards and D. L. Costa (2002). "Temporal association between pulmonary and systemic effects of particulate matter in healthy and cardiovascular compromised rats." *J Toxicol Environ Health A* 65(20): 1545-69.
- Kodavanti, U. P., M. C. Schladweiler, A. D. Ledbetter, W. P. Watkinson, M. J. Campen, D. W. Winsett, J. R. Richards, K. M. Crissman, G. E. Hatch and D. L. Costa (2000). "The spontaneously hypertensive rat as a model of human cardiovascular disease: evidence of exacerbated cardiopulmonary injury and oxidative stress from inhaled emission particulate matter." *Toxicol Appl Pharmacol* 164(3): 250-63.
- Liao, D., J. Creason, C. Shy, R. Williams, R. Watts and R. Zweidinger (1999). "Daily variation of particulate air pollution and poor cardiac autonomic control in the elderly." *Environ Health Perspect* 107(7): 521-5.
- Liao, D., Y. Duan, E. A. Whitsel, Z. J. Zheng, G. Heiss, V. M. Chinchilli and H. M. Lin (2004). "Association of higher levels of ambient criteria pollutants with impaired cardiac autonomic control: a population-based study." *Am J Epidemiol* 159(8): 768-77.
- Lippmann, M., T. Gordon and L. C. Chen (2005a). "Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles (CAPs) in mice. I. Introduction, objectives, and experimental plan." *Inhal Toxicol* 17(4-5): 177-87.
- Lippmann, M., T. Gordon and L. C. Chen (2005b). "Effects of subchronic exposures to concentrated ambient particles in mice. IX. Integral assessment and human health implications of subchronic exposures of mice to CAPs." *Inhal Toxicol* 17(4-5): 255-61.
- Muggenburg, B. A., E. B. Barr, Y. S. Cheng, J. C. Seagrave, L. P. Tilley and J. L. Mauderley (2000). "Effect of inhaled residual oil fly ash on the electrocardiogram of dogs." *Inhal Toxicol* 12 Suppl 4: 189-208.
- Nadziejko, C., K. Fang, E. Nadziejko, S. P. Narciso, M. Zhong and L. C. Chen (2002).

- "Immediate effects of particulate air pollutants on heart rate and respiratory rate in hypertensive rats." *Cardiovasc Toxicol* 2(4): 245-52.
- Nadziejko, C., K. Fang, S. Narciso, M. Zhong, W. C. Su, T. Gordon, A. Nádas and L. C. Chen (2004). "Effect of particulate and gaseous pollutants on spontaneous arrhythmias in aged rats." *Inhal Toxicol* 16(6-7): 373-80.
- Nightingale, J. A., R. Maggs, P. Cullinan, L. E. Donnelly, D. F. Rogers, R. Kinnersley, K. F. Chung, P. J. Barnes, M. Ashmore and A. Newman-Taylor (2000). "Airway inflammation after controlled exposure to diesel exhaust particulates." *Am J Respir Crit Care Med* 162(1): 161-6.
- Park, S. K., M. S. O'Neill, P. S. Vokonas, D. Sparrow and J. Schwartz (2005). "Effects of air pollution on heart rate variability: the VA normative aging study." *Environ Health Perspect* 113(3): 304-9.
- Petrovic, S., B. Urch, J. Brook, J. Datema, J. Purdham, L. Liu, Z. Lukic, B. Zimmerman, G. Tofler, E. Downar, P. Corey, S. Tarlo, I. Broder, R. Dales and F. Silverman (2000). "Cardiorespiratory effects of concentrated ambient PM_{2.5}: A pilot study using controlled human exposures." *Inhal Toxicol* 12(Suppl. 1): 173-188
- Rhoden, C. R., G. A. Wellenius, E. Ghelfi, J. Lawrence and B. Gonzalez-Flecha (2005). "PM-induced cardiac oxidative stress and dysfunction are mediated by autonomic stimulation." *Biochim Biophys Acta* 1725(3): 305-13.
- Rivero, D. H., S. R. Soares, G. Lorenzi-Filho, M. Saiki, J. J. Godleski, L. Antonangelo, M. Dolhnikoff and P. H. Saldiva (2005). "Acute cardiopulmonary alterations induced by fine particulate matter of Sao Paulo, Brazil." *Toxicol Sci* 85(2): 898-905.
- Sjogren, B. (1997). "Occupational exposure to dust: inflammation and ischaemic heart disease." *Occup Environ Med* 54(7): 466-9.
- Sun, Q., A. Wang, X. Jin, A. Natanzon, D. Duquaine, R. D. Brook, J. G. Aguinaldo, Z. A. Fayad, V. Fuster, M. Lippmann, L. C. Chen and S. Rajagopalan (2005). "Long-term air pollution exposure and acceleration of atherosclerosis and vascular inflammation in an animal model." *Jama* 294(23): 3003-10.
- Suwa, T., J. C. Hogg, K. B. Quinlan, A. Ohgami, R. Vincent and S. F. van Eeden (2002). "Particulate air pollution induces progression of atherosclerosis." *J Am Coll Cardiol* 39(6): 935-42.
- Ulrich, M. M., G. M. Alink, P. Kumarathasan, R. Vincent, A. J. Boere and F. R. Cassee (2002). "Health effects and time course of particulate matter on the cardiopulmonary system in rats with lung inflammation." *J Toxicol Environ Health A* 65(20): 1571-95.
- Vincent, R., P. Kumarathasan, P. Goegan, S. G. Bjarnason, J. Guénette, D. Bérubé, I. Y. Adamson, S. Desjardins, R. T. Burnett, F. J. Miller and B. Battistini (2001).

- "Inhalation toxicology of urban ambient particulate matter: acute cardiovascular effects in rats." *Res Rep Health Eff Inst*(104): 5-54; discussion 55-62.
- Watkinson, W. P., M. J. Campen, J. Y. Lyon, J. W. Highfill, M. J. Wiester and D. L. Costa (1997). "Impact of the hypothermic response in inhalation toxicology studies." *Ann N Y Acad Sci* 813: 849-63.
- Watkinson, W. P., M. J. Campen, J. P. Nolan and D. L. Costa (2001). "Cardiovascular and systemic responses to inhaled pollutants in rodents: effects of ozone and particulate matter." *Environ Health Perspect* 109 Suppl 4: 539-46.
- Watkinson, W. P., M. J. Campen, J. P. Nolan, U. P. Kodavanti, K. L. Dreher, W. Y. Su, J. W. Highfill and D. L. Costa (2000). Cardiovascular effects following exposure to particulate matter in healthy and cardiopulmonary-compromised rats. Relationships between acute and chronic effects of air pollution. . U. Heinrich and U. Mohr. Washington, DC, ISLI Press, : 447-463.
- Wellenius, G. A., J. R. Batalha, E. A. Diaz, J. Lawrence, B. A. Coull, T. Katz, R. L. Verrier and J. J. Godleski (2004). "Cardiac effects of carbon monoxide and ambient particles in a rat model of myocardial infarction." *Toxicol Sci* 80(2): 367-76.
- Wellenius, G. A., B. A. Coull, J. J. Godleski, P. Koutrakis, K. Okabe, S. T. Savage, J. E. Lawrence, G. G. Murthy and R. L. Verrier (2003). "Inhalation of concentrated ambient air particles exacerbates myocardial ischemia in conscious dogs." *Environ Health Perspect* 111(4): 402-8.
- Wellenius, G. A., P. H. Saldiva, J. R. Batalha, G. G. Krishna Murthy, B. A. Coull, R. L. Verrier and J. J. Godleski (2002). "Electrocardiographic changes during exposure to residual oil fly ash (ROFA) particles in a rat model of myocardial infarction." *Toxicol Sci* 66(2): 327-35.