

(5) PM_{2.5}抽出物が心不全ラットの心電図及び血圧変化に与える影響に関する研究

要旨

心機能異常を有する動物に対する PM_{2.5} 又はディーゼル排気粒子 (DEP) の気管内投与、あるいはディーゼル排気 (DE) の吸入曝露が心電図及び血圧に及ぼす影響を調べるため、ドキソルビシン又はイソプロテレノールの投与による心不全マウス又はラットを作成し、以下の I～III の実験を実施した。

【実験 I】

心不全ラットに PM_{2.5} 抽出物及び DEP 抽出物の気管内投与を行った。その結果、これらの曝露に特異的な心電図影響は認められなかった。ただし、DEP 抽出物の気管内投与では、気道刺激による迷走神経反射が亢進している可能性が考えられた。

【実験 II】

ドキソルビシン (DX) による心不全モデルマウス及び正常マウスを用いて、ディーゼル排気 (DE : 3mg/m³) の吸入曝露による心臓、血圧に及ぼす影響を調べた。実験は DX 濃度が異なる条件で 2 回にわたって行った。実験 1 では DX の投与量を 16mg/kg (DX16) 又は 20mg/kg (DX20) とし、DE 曝露開始前日と曝露開始後 1、3 日目に心電図及び血圧測定を行った。実験 2 では DX の投与量を 12mg/kg (DX12) 又は 14mg/kg (DX14) とし、DE 曝露開始前日と曝露開始後 2、5 日目に心電図及び血圧測定を行った。

その結果、実験 1 において DX16 群及び DX20 群で DX 投与後の心拍数減少及び血圧低下が明瞭で心臓抑制が強く発現していることが示された。このことは、DX 投与群では、観察期間中に生存個体数が減少した結果とも符合した。また、実験 1 及び実験 2 の心電図解析において、P 波、Q 波、R 波、QRS 群、S 波及び T 波についてそれぞれの振幅及び間隔 (持続時間) を詳細に検討した。その結果、DX の投与による心電図変化は明瞭に認められたものの、DE 曝露による影響は今回観察した期間中では認められなかった。しかしながら、心拍数に関しては DE 曝露により増加 (DX12 群及び DX14 群) 又は減少 (DX16 群及び DX20 群) という変化が観察され、QT 間隔も延長又は短縮を示した。また、血圧に関しては、DE 曝露によって上昇 (DX12 群、DX14 群) 又は低下 (DX16 群、DX20 群) の変化が示された。

上記の実験結果などから、DE 吸入曝露はマウスが軽度の心機能不全状態で心臓が代償機能を十分に働かせる余力がある場合には、心機能を亢進させ、また血圧を上昇させる方向に作用するが、マウスが重度の心機能不全状態では心臓の収縮力を弱め血圧を低下させる方向に作用することが考えられた。

【実験 III】

実験 I・II では高濃度のドキソルビシン心不全マウスにおける DEP 及び DE の影響を観察したが、実験 III ではより毒性の低いドキソルビシン濃度による心不全マウスと正常マウスにおける DE 吸入曝露の影響を調べた。比較的低濃度のドキソルビシン投与 (14mg/kg) による心不全モデルマウスへの DE 吸入の影響と正常マウスにおける DE の影響の有無を確認するための実験を行った。DE は DEP 濃度 3mg/m³ とした。観察指標としては心電図及び血圧とし、これらの測定はマウスの無麻酔下で行った。

その結果、ドキソルビシン投与マウスでは心電図及び血圧にドキソルビシンによる変化が認められたが、DE 曝露による影響は観察されなかった。また、正常マウスにおいても DE 曝露による心電図及び血圧の変化は観察されなかった。

(5. 1) 背景・目的

大気中微粒子物質が循環機能に及ぼす影響は、循環器が正常な動物のみならず異常な動物においても調べる必要がある。そこで、心筋傷害モデルの一種であるドキソルビシン (アドレアマイシン) 及びイソプロテレノールの中用量～大用量投与による心機能異常モデルをラット及びマウスを用いて作製し、PM_{2.5} 抽出物又は DEP 抽出物の気管内投与や、曝露チャンバー (国立環境研究所) による DE の吸入曝露を行った。

(5. 2) 方法

(5. 2. 1) 実験 I

心筋傷害を誘発することが知られているドキシソルビシン (6mg/kg+6mg/kg) 及びイソプロテレノール(80mg/kg+80mg/kg)を正常ラットに投与し、心機能異常ラット (以下、心不全ラット) を作成した。ラットは F344 系ラット (雄、8 週齢) を用いた。

上記のドキシソルビシン心不全ラット (n=7) に PM_{2.5}抽出物 (6mg/kg) を、またイソプロテレノール心不全ラット(n=5)に DEP 抽出物 (3mg/kg) の気管内投与を行い、心電図、血圧を指標とした実験を行った。なお、PM_{2.5}抽出物気管内投与は同条件で実験を 2 回行い、それぞれの供試ラット数は実験 1 : 投与群=3、非投与群=4、実験 2 : 投与群=7、非投与群=6 である。

(5. 2. 2) 実験 II

1. 実験 1

1.1 心不全マウスの作出

ドキシソルビシン最終投与量が 16mg/kg または 20mg/kg になるよう 0 日目、3 日目、6 日目にマウス (ICR) に腹腔内投与し、心不全モデルマウスを作出し、これらを DX16 群及び DX20 群とした。また、比較のためにドキシソルビシンを投与せず、生理食塩水のみを投与した群 (NDX 群) を設けた。各群の供試マウス数は表 1 のとおりである。

1.2 DE 吸入方法 (図 2.5.2-1)

DX16 群及び DX20 群に対して、DE を 3.0mg/m³ の濃度で吸入曝露した。また、対照として、DE を含まない清浄空気に曝露した対照群 (0mg/m³) を設けた。これらの DE 曝露は国立環境研究所のチャンバーを用いて行った。供試マウス数は NDX 群が各 6 匹、DX 群が各 8 匹とした。

1.3 心電図及び血圧測定法

DX 群及び NDX 群に対して、DE の吸入曝露開始前日、吸入開始後 1 日目及び 3 日目に心電図及び血圧を無麻酔下で記録した。心電図記録はマウスをチャンバーから搬出した後、エナメル線記録電極を右前肢、左後肢の皮下に、また生体アース電極を腰部の皮下にそれぞれ装着して標準肢 II 誘導による誘導を行った。増幅器からの出力をパーソナルコンピューターに導き、心電図解析ソフト (ソフトロン社製) を用いてデータ解析と保存を行った。上記の心電図記録電極をとりつけたマウスを直径 10cm、高さ 12cm の円筒形ガラス容器内に収容し、無麻酔、自由行動下で心電図記録を行った。心電図波形のコンピューターへの取り込みは基線の動揺が少なく、また筋電図の混入が少ない安定した記録 (2 秒間) を 3 回以上行い、そのうちもっとも状態の良好な記録をもとに、各波形成分の解析を行った。データは連続 10 心拍の平均値 (アベレージング処理) を測定値として表した。

血圧測定はオッシロメトリック法を採用した Tail-cuff 方式の自動血圧測定装置 (ソフトロン社製) を用いて行った。マウスを小型血圧測定チャンバー (円筒形、弱加温式) に収容し、尾根部にマウス用 Tail-cuff を装着することで行った。血圧測定の原理は、Tail-cuff 内圧を高めた後、一定の速度で減圧を行い拍動の出現時と消失時の血圧から収縮期圧、弛緩期圧及び平均血圧を自動的に検出もしくは算出した。安定した測定を 1 匹のマウスにつき 3 回以上行い、もっとも安定した記録に基づいて各血圧値とした。

1.4 解析項目

心電図波形については、RR 間隔、PQ 間隔、QT 間隔、QRS 持続時間、ST 持続時間、P 波振幅、R 波振幅、S 波振幅、Q 波振幅及び T 波振幅の解析を行った。

不整脈については、房室ブロック及び期外収縮などの発現性について解析した。

血圧については、収縮期圧、弛緩期圧及び平均血圧の解析を行った。

2. 実験 2

2.1 心不全マウスの作出

ドキシソルビシン最終投与量が 12mg/kg または 14mg/kg になるよう 0 日目、3 日目、6 日目にマウスに腹腔内投与し、心不全モデルマウスを作出し、これらを DX12 (-AIR : 清浄空気曝露群、

-DE : DE 曝露群) 群及び DX14 (-AIR, -DE) 群とした。なお、この実験では NDX 群は設けなかった。なお、使用したマウスは、各群 10 匹とした (表 2.5.2-2)。

2.2 PM_{2.5} 吸入方法 (図 2.5.2-2)

DX12 群、DX14 群に対して、DEP 濃度を 3.0mg/m³ で吸入曝露した。供試マウス数各群 10 匹とした。

2.3 心電図及び血圧測定法

実験 1 と同様に行った。

2.4 解析項目

実験 1 と同様の項目について解析を行った。

(5. 2. 3) 実験Ⅲ

1. 心不全マウスの作出

ドキシソルビシンを最終投与量が 14 mg/kg となるよう 3 回に分けて腹腔内投与 (0 日目、3 日目、6 日目に投与) して心不全マウスを作出した。これらのマウスを DE 曝露群 (14D、n=10) 及び清浄空気曝露群 (14A、n=10) に分けた。また、ドキシソルビシンのかわりに生理食塩水を腹腔内投与した対照群として SD 群 (DE 曝露群の対照、n=10) 及び SA 群 (清浄空気曝露群の対照、n=10) を設けた (表 2.5.2-3)。

2. DE 吸入方法

DEP 濃度が 3mg/m³ の吸入曝露チャンバー及び粒子や汚染ガスを含まない清浄空気吸入チャンバーを用いて上記の 4 群のマウスを曝露した。

3. 心電図及び血圧測定法

DE の吸入曝露開始 2 日前、吸入開始後 1 日目及び 3 日目に心電図と血圧を無麻酔下で記録した。心電図記録はマウスを曝露チャンバーから搬出後、エナメル線電極を記録電極として右前肢、左後肢の皮下に、また生体アース電極を腰部の皮下にそれぞれ装着して標準肢Ⅱ誘導による心電図誘導を行った。増幅器からの出力をパーソナルコンピューターに導き、心電図解析ソフト (ソフトロン社製 SP2000) を用いてデータ解析と保存を行った。上記の心電図記録電極を装着したマウスを直径 10cm、高さ 12cm の円筒形ガラス容器内に収容し、無麻酔、自由行動下で心電図記録を行った。心電図波形の取り込みは基線の動揺が少なく、また筋電図の混入が少ない安定した記録 (2 秒間) を 3 回以上行い、そのうち最も状態が良好な記録をもとに各波形成分の解析を行った。データは連続 10 心拍の平均値 (アベレージング処理) を測定値として表した。

血圧測定はオッシロメトリック法を採用した Tail-cuff 方式の自動血圧測定装置 (ソフトロン社製) を用いて行った。マウスをマウス用血圧測定チャンバー (円筒形) 内に収容し、尾根部にマウス用 Tail-cuff を装着することで行った。血圧測定の原理は、Tail-cuff 内圧を高めて一旦尾部血流を遮断した後、一定の速度で減圧を行い拍動の出現時と消失時の血圧から収縮期圧、弛緩期圧、平均血圧を自動的に算出した。安定した記録をマウス 1 匹につき 3 回以上行い、最も安定した記録を測定値とした。

4. 解析項目

実験Ⅱと同様の項目について解析を行った。

(5. 3). 結果

(5. 3. 1) 実験Ⅰ

1. 予備実験 (心機能障害モデル動物の作出)

ドキシソルビシン又はイソプロテレノールの投与による心不全モデルを作出するための予備実験を行った。動物は Wistar ラット (雌 40 週齢、5 匹) を用いた。イソプロテレノールは 80mg/kg を 2 日間に 2 回皮下投与した。また、ドキシソルビシンは 2.5mg/kg を 1 週間に 6 回、総量 15mg

／kg になるよう皮下投与した。

ドキシソルビシンでは、R 波の増高、T 波の増高が著しく、また QRS 持続時間の延長、QT 間隔の延長が認められ、心拍数の上昇も著しい（心拍出量を補うための反応）ことから、心筋障害による心不全が生じていることが示唆された(表 2.5.3-1)。

イソプロテレノール投与では、PR 間隔の延長、QRS 間隔の延長、R 波の低振幅化が生じた。このことから、心房及び心室の興奮伝導遅延及び脱分極過程の障害が考えられた。また、T 波の増高、QT 間隔の延長 (2/3) が認められたことから心室再分極過程の障害が生じていることが考えられた。(表 2.5.3-2)

これらの予備実験から、イソプロテレノール及びドキシソルビシンの過剰投与によって、心機能障害（心不全）をもたらすことが明らかになった。

2. 本実験

2.1 心不全ラットの心機能

ドキシソルビシン心不全ラットでは、ドキシソルビシンの投与によって心拍数の減少、QRS 持続時間及び QT 間隔の延長、T 波の増大を示した。イソプロテレノール心不全ラットでは、イソプロテレノールの投与によって、心拍数には大きな変化が認められないが、QT 間隔の軽度の延長、R 波の軽度の増大が認められた。

2.2 PM_{2.5} 抽出物気管内投与の結果

ドキシソルビシン心不全ラットに対して、PM_{2.5}抽出物（溶媒として DMSO 溶液を使用）又は対照液（DMSO 溶液のみ）を気管内投与した場合、心電図の各指標には明瞭な変化がなく、PM_{2.5}抽出物気管内投与群及び対照液（DMSO）群との間にも相違が認められなかった（表 2.5.3-3）。イソプロテレノール心不全ラットでは、DEP 抽出物及び DMSO の気管内投与によって、心拍数の減少（RR 間隔の延長）及び PR 間隔、QRS 持続時間、QT 間隔の延長、R 波振幅の減少、T 波振幅の増大が明瞭に認められた。しかしながら、DEP 抽出物気管内投与群及び DMSO 気管内投与群の間で、有意な相違は観察されなかった（表 2.5.3-4～5）。

一方、ドキシソルビシン心不全ラットにおいて、末梢血管収縮薬であるフェニレフリンの静脈内投与によって血圧を上昇させ、血圧上昇に伴う圧反射（心拍数減少）を観察した実験では、血圧上昇度は PM_{2.5}抽出物投与群と対照液投与群との間で同程度であるにもかかわらず、心拍数の減少（圧反射）は PM_{2.5}抽出物投与群で強く生じた。このような圧反射が PM_{2.5}抽出物投与群で強く生じた原因は明確ではないが、PM_{2.5}抽出物投与群では気道刺激による迷走神経緊張が、対照液投与群よりも強く起こっている可能性が示唆される。

(5. 3. 2) 実験 II

1. 実験 1

1.1 生存マウス数

DE または清浄空気の曝露開始前日、曝露開始後 1 日目及び 3 日目における生存マウスを表 6 に示す。DX16 群では曝露開始後 1 日目では多くの個体が生存しているものの、曝露 3 日目では生存するマウス数が半分以下に減少した。DX20 群では曝露開始後 1 日目ですでに生存数が半数以下になり、3 日目には 16 匹中 1 匹のみの生存数であった。

1.2 心拍数

曝露前日の心拍数は、DX16-AIR 群 678.8bpm、DX16-DE 群 666.4bpm、DX20-AIR 群 577.7bpm、DX20-DE 群 621.5bpm を示し、これらの値は NDX-AIR 群の 787.4bpm、NDX-DE 群の 753.8bpm に比べて低かった。

DX 群は NDX 群に比べて DE 曝露開始前日、曝露開始後 1 日目及び 3 日目の心拍数が有意に減少した。DX20 群では、曝露 3 日目では死亡個体が多かったため正確な値は得られなかったが、DX20 群は DX16 群に比べて心拍数の減少が大きかった。DX16 群、DX20 群のいずれも、DE 群と AIR 群との間に心拍数には有意差は認められなかった。

1.3 P 波振幅

DX20-AIR 群の曝露 1 日目で NDX 群に比べてやや大きい傾向が認められたが、全体的にとくに

明瞭な変化は認められなかった。

1.4 Q波振幅

DE曝露群に特異的な変化は認められなかった。

1.5 R波振幅

DX20-DE群の曝露開始前日のR波が、DX20-AIR群及びNDX群に比べて有意に小さかったが、DE曝露による影響は認められなかった。

1.6 T波振幅

DX群はNDX群と比べて有意に大きくなる傾向が認められたが、DE曝露の影響は認められなかった。

1.7 P波持続時間

P波振幅と同様に、DX20mg群（正常空気群）の曝露開始後1日目でNDX群に比べてやや大きい傾向が認められた。

1.8 QRS持続時間

DX群はNDX群と比べて延長する傾向が認められたが、DE曝露の影響は認められなかった。

1.9 RR間隔

DX20-AIR群では、DEまたは清浄空気曝露の前日におけるRR間隔の延長傾向が示されたが、DE曝露の影響は示されなかった。曝露開始後3日目のDX20群では死亡個体が多かったため、測定値の評価はできなかった。

1.10 PR間隔

DX20-AIR群は、曝露開始後1日目で延長する傾向が認められた。また、DX16-DE群及びDX20-AIR群の曝露開始後1日目では、少数の個体でRR間隔の顕著な延長が観察された。しかしながらDE曝露の影響は不明瞭であった。

1.11 QT間隔

NDX-DX群では曝露開始後3日目で、NDX-AIR群に比べて有意に延長した。DX16-AIR群、DX16-DE群、DX20-AIR群は、いずれもそれぞれのNDX群に比べて延長したが、DE曝露群と清浄空気群との差は明瞭ではなかった。

1.12 血圧

弛緩期圧がNDX-DE群では、曝露開始後3日目でNDX-AIR群に比べて有意に低下した。

DX16群ではNDX群に比べて弛緩期圧が低下したが、とくにDE群では曝露開始後1日目でAIR群に比べて有意に低下した。DX20群は生存個体数が少なく、個体の衰弱も激しかったため、血圧測定値は参考にならなかった。収縮期圧は、DX16-DE群の曝露開始後3日目で低下する傾向が示されたが、有意差はなかった。平均血圧は、NDX-DE群では曝露開始後3日目でNDX-AIR群に比べて有意に低下、またDX16-DE群の曝露開始後1日目でDX16-AIR群に比べて有意に低下した。

2. 実験2

2.1 生存マウス数

DEまたは清浄空気の曝露前日、曝露開始後2日目及び5日目における生存マウスを示す。DX12群では観察期間中すべてのマウスが生存したが、DX14では曝露開始後2日目及び5日目で死亡個体が多くみられた。しかし、この死亡数は前述した実験1のDX16群、DX20群に比べて少なかった。

2.2 心拍数

DE曝露開始後2日目において、DX12-DE群及びDX14-DE群の心拍数は、DX12-AIR群及びDX14-AIR群に比べてそれぞれ有意に増加した。

2.3 P波振幅

DX12-DE群及びDX14-DE群のいずれも、清浄空気曝露群であるDX12-AIR群及びDX14-AIR群との間に差は認められなかった。

2.4 R波振幅

DX12-DE群及びDX14-DE群のいずれも、清浄空気曝露群であるDX12-AIR群及びDX14-AIR群との間に差は認められなかった。

2.5 S波振幅

DX14-DE群の曝露開始後5日目で、S波の陰性の振幅がDX14-AIR群に比べて小さかった。

2.6 T波振幅

DX12-DE群及びDX14-DE群のいずれも、清浄空気曝露群であるDX12-AIR群及びDX14-AIR群との間に差は認められなかった。

2.7 P波持続時間

DX12-DE群及びDX14-DE群のいずれも、清浄空気曝露群であるDX12-AIR群及びDX14-AIR群との間に差は認められなかった。

2.8 QRS持続時間

曝露前日のQRS持続時間で、DX12-DE群がDX12-AIR群に比べて短縮した。また、DX14-DE群はDX12-DE群に比べて延長が示されたが、DE曝露による影響はいずれも認められなかった。

2.9 RR間隔

DX12-DE群で曝露前日のRR間隔がDX12-AIR群に比べて短縮を示し、DX14-DE群では曝露開始後5日目でDX14-AIR群及びDX12-DE群に比べて短縮を示した。

2.10 PR間隔

DX12-DE群及びDX14-DE群のいずれも、清浄空気曝露群であるDX12-AIR群及びDX14-AIR群との間に差は認められなかった。

2.11 QT間隔

DX12-DE群の曝露開始後2日目でDX12-AIR群に比べて短縮、DX14-DE群では曝露開始後5日目でDX14-AIR群と比べて短縮が示された。

2.12 ST間隔

DX14-DE群の曝露前日のST間隔がDX14-AIR群に比べて短縮した。

2.13 血圧

弛緩期圧及び平均血圧は、曝露開始後5日目でDX12-DE群はDX12-AIR群に比べて上昇した。また、曝露開始後2日目でDX14-AIR群の弛緩期圧及び平均血圧がDX12-AIR群に比べて低下を示した。

(5.3.3) 実験Ⅲ

1. 生存マウス数

ドキシソルビシン投与群(14A群、14D群)では死亡個体数が増加し、曝露開始後3日目の生存個体数は14A群で10匹中2匹、14D群で11匹中4匹に減少した。

2. 心拍数(図2.5.3-1)

SA群、SD群、14A群、14D群の曝露2日後の心拍数は、それぞれ 542.1 ± 73.5 、 576.2 ± 93.0 、 592.2 ± 65.8 、 579.0 ± 76.3 であり、それぞれの群間で有意差がなかった。すなわち、ドキシソルビシン 14mg/kg の投与による心拍数の減少は認められなかった。また、曝露開始後1日目、3日目の心拍数は、生理食塩水及びドキシソルビシン投与のいずれもDE曝露群と清浄空気群との間に差が認められなかった。14A群の曝露開始後3日目では、生存個体数が2匹になったため、比較には用いなかった。以下の指標においても同様とした。

3. P波振幅(図2.5.3-2)

ドキシソルビシン投与及びDE曝露による特記すべき変化は認められなかった。

4. R波振幅(図2.5.3-3)

14D群でやや小さい値が示されたが、生理食塩水及びドキシソルビシン投与群のいずれもDE曝露の影響は認められなかった。

5. S波振幅(図2.5.3-4)

いずれの群でもDE曝露の影響は認められなかった。

6. T波振幅 (図 2.5.3-5)

ドキソルビシン投与群は生理食塩水投与群に比べて全体的に T 波の振幅は増大する傾向を示した。曝露 2 日前の 14A は SA に対して、曝露 2 日前及び曝露開始後 3 日目の 14D は、それぞれ同日の SD 群に対して有意 ($P<0.05$, non-paired) に高い値を示した。しかしながら、DE 曝露の影響は認められなかった。

7. P波持続時間 (図 2.5.3-6)

14A 群の曝露 2 日前、14D 群の曝露開始後 1 日目に、SA 群、SD 群のそれぞれ対応する時間に対して有意 ($P<0.05$, non-paired) な延長を示した。しかしながら、ドキソルビシン投与群、ドキソルビシン非投与群のいずれも DE 曝露による影響は認められなかった。

8. QRS 持続時間 (図 2.5.3-7)

ドキソルビシン投与群ではやや延長する傾向が認められたが、DE 曝露の影響は認められなかった。

9. RR 間隔 (図 2.5.3-8)

14D 群の曝露開始後 3 日目で SD 群に比べてやや延長したが、DE 曝露の影響は認められなかった。

10. PR 間隔 (図 2.5.3-9)

SD 群の曝露開始後 3 日目の PR 間隔 ($30.0\pm 1.2\text{msec}$) は、SA 群の PR 間隔 ($28.2\pm 2.0\text{msec}$) に比べて有意 ($P<0.05$, non-paired) な延長を示した。曝露開始後 1 日目の 14D 群は SD 群に比べて有意な延長を示した。

11. QT 間隔 (図 2.5.3-10)

ドキソルビシン投与群は、生理食塩水投与群に比べて明らかに QT 間隔が延長した。しかしながら、両群とも DE 曝露の影響は認められなかった。

12. QTc (図 2.5.3-11)

QT 間隔を RR 間隔で補正した QTc は、ドキソルビシン投与群で明らかに大きな値を示した。しかしながら、両群とも DE 曝露の影響は認められなかった。

13. 収縮期圧 (図 2.5.3-12)

曝露開始後 1 日目のドキソルビシン投与群は、ドキソルビシン非投与群に比べて有意に低かった。しかしながら、いずれも DE 曝露の影響は認められなかった。

14. 弛緩期圧 (図 2.5.3-13)

ドキソルビシン投与群では、ドキソルビシン非投与群に比べて低い傾向が示され、曝露開始後 1 日目の 14D 群は SD 群に比べて有意に低かった。

15. 平均血圧 (図 2.5.3-14)

同様にドキソルビシン投与群では、ドキソルビシン非投与群に比べて低い傾向が示され、曝露開始後 1 日目の 14D 群は SD 群に比べて有意に低かった。

(5.4) 考察

(5.4.1) 実験 I

高濃度のドキソルビシンあるいはイソプロテレノールの投与によって予め心筋障害を誘発した心機能障害 (心不全) モデルラットを用いて、PM_{2.5} 抽出物又は DEP 抽出物気管内投与の影響を

観察した。心不全は心拍出量の低下によって定義される。今回は心拍出量を測定していないが、心電図波形の異常性や心拍数変化から、少なくともかなり重篤な心機能障害が生じているものと推測される。過去の研究では、ラットにおいて今回用いた投与量とほぼ同じレベルの投与量もしくはそれよりも少ない投与量で心筋障害を示すクレアチンホスホキナーゼ (CPK) や乳酸脱水素酵素 (LDH) の上昇が認められ[1]、また病理組織学的に心筋細胞のアポトーシス像が観察され、最終的に心不全に陥ることが知られている[2]。β作用薬であるイソプロテレノールは、心筋細胞のcAMP (環状アデノシン三リン酸) を増大させ心筋収縮力を増大させる一方で、心筋細胞のエネルギー消費を著しく高めるために、この薬物の大量投与は心筋代謝を疲弊させる。また、同時に心筋活動電位の再分極過程に影響を及ぼし早期後脱分極 (EAD) や遅延後脱分極 (DAD) を誘発するために激発活動による不整脈を起しやすくなることが知られている。ドキシソルビシンは、心筋のNa⁺, K⁺-ATPase (アデノシン三リン酸) の抑制、心筋細胞内の小胞体からのCa放出促進によるCa overloadにより、心周期を早めるとともに、弛緩期の不完全な弛緩をもたらすことで結果的に強い心毒性を誘発する。ドキシソルビシンを投与された個体は、徐脈、心電図 QRS 群の延長、ST-segment の延長、T 波の平低化、房室ブロックなどを生じることが明らかになっている。本研究においてもドキシソルビシンの投与によって心拍数の低下、QRS 持続時間の延長、PR 間隔の延長、QT 間隔の延長、T 波の増高が観察され、また、一部のラットでは陰性 P 波、心室興奮抑制、R 波の分裂などが観察された。

実験 I では、実験 1 の結果から、PM_{2.5} 抽出物の気管内投与により統計的な有意差はないものの QRS 持続時間及び QT 間隔の軽微な延長傾向が認められた。仮にこれらの心電図指標が明瞭に延長する場合には、それが PM_{2.5} の心臓への直接作用によるものなのか、あるいは PM_{2.5} の気道や肺の刺激による自律神経作用、特に副交感神経緊張亢進によるものかどうかについて問題になる。ドキシソルビシン処置ラットでは、PM_{2.5} 抽出物投与群と対照群との間で心拍数には明瞭な差が認められなかったことから持続性の副交感神経緊張度は両群の間でほとんど差がないものと思われる。しかしながら、フェニレフリンに対する反射性の心拍数減少 (圧反射) は PM_{2.5} 抽出物投与群で強く起こり、イソプロテレノールに対する初期の心拍数増加は PM_{2.5} 抽出物投与群で弱かったことから、PM_{2.5} 抽出物投与群では副交感神経刺激による心拍抑制が通常よりも強く起こる状態が形成されている可能性が考えられる。QRS 持続時間や QT 間隔の延長は、心室の脱分極及び再分極過程の遅延を意味するが、ヒト、イヌ、ウサギでは心室頻拍あるいは Torsade de Pointes (TdP) と呼ばれる重篤な不整脈を誘発しやすくなり、心臓突然死にも至ることが知られている。ドキシソルビシンによって作出された心不全モデルラットでは、心筋細胞内の Ca overload などによって心筋の再分極過程が遅延するために QRS 持続時間や QT 間隔の延長を本来的に招きやすい条件が形成されていることが推測される。

実験 1 では、ドキシソルビシンの前投与による死亡個体も出現し、PM_{2.5} 抽出物の気管内投与による影響を評価する上での個体数が少なかったため、再度、実験 1 と同じ条件でのドキシソルビシン投与の PM_{2.5} 抽出物ないし DMSO 希釈液 (対照液) の投与実験を実験 2 として行った。実験 2 では、使用したラットの系統、性及び年齢は同じあるにもかかわらず、ドキシソルビシンの投与による体重の減少は小さく、また死亡個体もみられなかった。実験 2 では無処置のラットの心拍数がやや高く、このこととの関連性は明らかではないが、ドキシソルビシンによる影響が実験 1 に比べて弱かったことは明らかであり、このため PM_{2.5} 抽出物の投与による心電図変化が誘発されにくかった可能性が考えられる。

PM_{2.5} 抽出物に関する実験 1 と実験 2 の観察結果を全体的に評価した場合、今回の心不全モデル作出の実験条件では、PM_{2.5} 抽出物の気管内投与による心電図影響を明らかにすることはできなかった。今後は心拍数が減少する条件下で PM_{2.5} の影響が存在するかどうか詳細な検討が必要と思われる。

DEP 抽出物 1mg/kg を 1 週間おきに 3 回気管内投与した群と溶媒である DMSO 溶液を同様に 3 回気管内投与した群とでは、心電図の各計測値に差が認められなかったことから、少なくともラットにおいてはこの投与量では、DEP に起因する心機能変化をもたらさないとと思われる。イソプロテレノール投与ラットでは心筋代謝への負荷及び膜電位の不安定化のために、心臓に対する軽度の刺激によっても不整脈を生じる環境が存在すると思われるが、今回の実験成績ではとくに不整脈

を誘発することはなかった。すべてのラットで、DMSO 及び DEP 抽出物の投与によっていずれも、2 峰性 T 波を含む QT 間隔の異常な延長が示された。前述の PM_{2.5} 抽出物実験ではこのような変化がみられなかったことから、麻酔薬の相違による影響も考えられる。気管内投与では、気管支や肺の感覚受容器に対する刺激効果が強いことが推測されるため、そのような刺激による心臓影響の可能性も否定できない。今回 DEP 抽出物に特徴的な変化を識別することができなかったが、気管内投与試験では、投与試料の非特異的な呼吸器刺激による影響を考慮する必要がある。

(5. 4. 2) 実験Ⅱ

1. 心臓の洞調律に及ぼす影響

実験 2 では、今回観察した期間内（曝露開始後 5 日間）では、曝露初期の段階（曝露開始後 2 日目）において、DX12-DE 及び DX14-DE のいずれにおいても、清浄空気曝露群に比べて心拍数が多かった。このことから、DE 曝露はその初期において、交感神経系の興奮促進あるいは洞房結節のペースメーカー細胞の刺激受容性を高める作用が存在することが推測される。なお、実験 1 では生理食塩水投与群では、平均 787.4bpm (NDX-AIR, 曝露開始前) または平均 753.8bpm (NDX-DE, 曝露開始前) であり、実験 2 の DX12 群及び DX14 群の心拍数はこれよりも少なかった。マウスの週齢は実験 1 も実験 2 も同じであるため、この心拍数の減少は年齢の影響ではなく、ドキシソルビシンの投与を受けていたかどうかの差異によるものと考えられる。すなわち、ドキシソルビシンは、他の研究報告からも伺えるようにそれ自身の心臓作用によって心拍数を減少させるものと思われる。実際、投与量が 20mg/kg と多かった実験 1 では、曝露前日の心拍数が DX20-AIR 群 577.7bpm、DX20-DE 群 621.5bpm とかなり減少したことからも裏付けられる。

2. 心臓の脱分極・再分極過程に及ぼす影響

心電図を構成する波形成分のうち、各波形成分の間隔や持続時間は、心房筋や心室筋の興奮の時間的経過や心房-心室間の興奮伝導時間を表すものとみなされる。また、P 波、R 波 (R 棘)、S 波、T 波の大きさ (振幅) は、脱分極過程や再分極過程における心筋細胞の同期性や心臓内での電気的分極状態の大きさを表すとみなされる。したがって、心電図構成成分を詳しく調べることで、心臓の状態を客観的に評価することが可能である。

2.1 P 波

DX 群の P 波の振幅は、DX12 群、DX14 群、DX16 群では、NDX 群との間に差が認められなかったが、DX20 群では、AIR 群、DE 曝露群のいずれも P 波の振幅が減少した。このことから、ドキシソルビシンの大量投与では、心房筋の電気的興奮性を低下させることが示唆される。一方、DX20 群では P 波の持続時間が延長したことから心房筋の興奮性低下に加えて興奮伝播速度の低下も示唆された。しかしながら、P 波の振幅及び持続時間に関して、DE 曝露群に特徴的な変化が認められなかったことから、DE による心房筋への影響は小さいものと推測される。

2.2 PR 間隔

DX12 群及び DX14 群では PR 間隔は平均約 30msec を示し、正常レベルが維持されていた。しかしながら DX20 群では、PR 間隔は 40msec 近くまで延長した。このことから、ドキシソルビシンは投与量が多い場合には房室間伝導を遅延させることがわかった。一方、DE 曝露群と清浄空気群との間には差が見られなかったことから、房室間伝導に及ぼす DE の影響は不明瞭であった。

2.3 R 波及び QRS 群

R 波の振幅は P 波と同様に DX12 群、DX14 群、DX16 群では、NDX 群との間に差が認められなかったが、DX20 群では、AIR 群、DE 曝露群のいずれも R 波の振幅が位著しく減少した。また、DX16 群、DX20 群では QRS 群の持続時間が延長したことからドキシソルビシンの大量投与では心室筋の興奮性の低下や興奮伝導性の低下が生じることが示唆された。

一方、DX12-DE 群では、DX12-AIR 群に比べて曝露前の QRS 持続時間が減少したが、この原因については明らかでない。

2.4 S 波、T 波、ST 時間

心室筋の再分極過程を表すこれらの指標を検討した結果、DX14-DE 群の DE 曝露開始前及び DX20-DE の曝露開始前で S 波の陰性の振幅が平均的に減少した。また、ST 時間 (ST_i) が DX14-DE

群の DE 曝露開始前で短縮した。これらの変化から ST 部分の軽度の上昇が生じていることが示唆されるが、とくに DX16 群及び DX20 群では、NDX 群に比べて T 波の振幅が著しく大きくなっていることから、これらの群では ST 部分が上昇していることが明らかである。ST 部分の上昇は、心筋の虚血性変化、高 K 血症、心筋の器質的傷害などで生じることが知られているが、ドキシソルビシンの投与で作出した今回の心不全モデルでは、心筋の炎症による器質的傷害が T 波の増高や ST 部分の上昇にもっとも関連しているものと思われる。しかしながら、DE 曝露群と清浄空気曝露群との間にはとくに差異が認められなかったことから、DE による影響は明らかではなかった。

2.5 QT 間隔

DX12 群及び DX14 群では QT 間隔の短縮が、DX16 群及び DX20 群では延長が認められた。QT 間隔の変化は心拍数の増減 (RR 間隔) によっても影響を受けることから、一般的には QT 補正值 (QTc) を指標とすることが多いが、マウスやラットの場合、QT 間隔と RR 間隔とが逆比例することが知られているために、通常の QTc の概念を適用することが困難である。QT 間隔の延長は心筋細胞やプルキンエ線維において、EAD や DAD をもたらし、ヒトでは心室頻拍あるいは TdP などの不整脈を発現する誘引になりうることから注目されている。今回 DE 曝露による特異的な変化は見出されなかったことから、DE がこのような催不整脈性を有すかどうかについては今回の観察では明らかにできなかった。

2.6 血圧

DX20-DE 群の平均血圧及び弛緩期圧は、DX20-AIR 群に比べて低下した。しかしながら、DX12-DE 群、DX16-DE 群は DX12-AIR 群、DX16-AIR 群に比べて、弛緩期圧、収縮期圧、平均血圧の上昇が示された。これらの結果から、DE はドキシソルビシンの大量投与による心臓抑制が強い場合には、血圧を低下させる方向に作用し、反対にドキシソルビシンの比較的少量の投与下で心臓機能の抑制が強くない場合には血圧を上昇させる方向に作用することが推測される。

上記の実験成績及び考察から、DE は軽度の心機能不全状態で心臓が代償機能を十分に働かせる余力がある場合には、心機能を亢進させ、また血圧を上昇させる方向に作用するが、重度の心機能不全状態では心臓の収縮力を弱め血圧を低下させる方向に作用することが考えられた。前者は心臓の酸素需要を高めるために心臓に対する負担が増大するという意味でリスクがあり、また後者は心臓の血液駆出力を低下させるという意味でリスクが生じるものと思われる。

(5.4.3) 実験Ⅲ

ドキシソルビシン 14mg/kg の投与による心不全マウスの心電図変化及び死亡率は、実験Ⅱで行った 16mg/kg、20mg/kg の結果に比べて軽度であったが、依然強い心臓毒性が発現しているものと思われた。DE 曝露による心電図への影響は実験Ⅱの結果とほぼ同様であり、すべての波形成分において DE 曝露による特異的な変化は認められなかった。実験Ⅱで行ったドキシソルビシン同量投与した結果では、DE 群は AIR 群に比べて血圧が上昇する傾向が示されたが、本実験では DE 群の血圧が AIR 群と同程度に出現していた。この相違は、本実験において実験Ⅱに比べてドキシソルビシン投与の影響がやや強く現れた可能性を示唆していると考えられる。

(5.5) 結論

ドキシソルビシン又はイソプロテレノールの投与によって作製された心不全ラットに対して、PM2.5 抽出物及び DEP 抽出物の気管内投与を行ったが、心電図の波形成分及び心拍数に特異的な変化は認められなかった。低用量 (12mg, 14mg/kg) ドキシソルビシンによる心不全マウスと高用量 (16mg, 20mg/kg) ドキシソルビシンによる心不全マウスとでは、DE 吸入曝露に対する心電図及び血圧の反応性が異なる可能性が示唆された。すなわち前者では DE 吸入曝露が心機能保護的に働く傾向、後者では心機能抑制的に働く傾向が認められた。

引用文献

- 1 Sayed-Ahmed MM, Khattab MM, Gad MZ, Osman AM. Increased plasma endothelin-1 and cardiac nitric oxide during doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Pharmacol. Toxicol.* 2001;89:140-144.
- 2 Zhang J, Clark JR Jr, Herman EH, Ferrans VJ. Doxorubicin-induced apoptosis in spontaneously hypertensive rats: differential effects in heart, kidney and intestine, and inhibition by ICRF-187. *J Mol & Cell Cardiol.* 1996; 28:1931-1943.

表 2.5.2-1 供試マウス数、心電図・血圧記録マウス数及び生存マウス数（実験Ⅱ・実験1）

	供試動物数	曝露前日	曝露開始後1日目	曝露開始後3日目
NDX-AIR	6	5 (4) [6]	5 (6) [6]	6 (6) [6]
NDX-DE	6	5 (5) [6]	6 (5) [6]	6 (4) [6]
DX16-AIR	8	8 (7) [8]	6 (7) [7]	3 (1) [3]
DX16-DE	8	8 (7) [8]	8 (6) [8]	4 (4) [4]
DX20-AIR	8	7 (2) [7]	2 (3) [3]	0 (0) [0]
DX20-DE	8	6 (2) [6]	4 (0) [4]	1 (0) [1]

() 外は心電図を記録したマウス数、() 内は血圧を記録したマウス数、[] 内は記録時の生存マウス数を示す。

NDX-AIR：ドキシソルビシン非投与・清浄空気曝露群

NDX-DE：ドキシソルビシン非投与・DE曝露群

DX16-AIR：ドキシソルビシン 16mg/kg 投与・清浄空気曝露群

DX16-DE：ドキシソルビシン 16mg/kg 投与・DE曝露群

DX20-AIR：ドキシソルビシン 20mg/kg 投与・清浄空気曝露群

DX20-DE：ドキシソルビシン 20mg/kg 投与・DE曝露群

表 2.5.2-2 供試マウス数、心電図・血圧記録マウス数及び生存マウス数（実験Ⅱ・実験2）

	供試動物数	曝露前日	曝露開始後2日目	曝露開始後5日目
DX12-AIR	10	10 (10) [10]	10 (10) [10]	9 (9) [9] *
DX12-DE	10	10 (10) [10]	10 (10) [10]	10 (10) [10]
DX14-AIR	10	9 (8) [9] *	6 (5) [6]	4 (4) [4]
DX14-DE	10	10 (10) [10]	9 (9) [9]	7 (7) [7]

() 外は心電図を記録したマウス数、() 内は血圧を記録したマウス数、[] 内は記録時の生存マウス数を示す。

DX12-AIR：ドキシソルビシン 12mg/kg 投与・清浄空気曝露群

DX12-DE：ドキシソルビシン 12mg/kg 投与・DE曝露群

DX14-AIR：ドキシソルビシン 14mg/kg 投与・清浄空気曝露群

DX14-DE：ドキシソルビシン 14mg/kg 投与・DE曝露群

*：事故による死亡個体が1匹ずつ含まれる。

表 2.5.2-3 各群の生存マウス数（実験Ⅲ）

	曝露2日前	曝露開始後1日	曝露開始後3日
SA群	10	10	10
SD群	10	10	10
14A群	10	5	2
14D群	11*	7	4

SA群：ドキシソルビシン非投与・清浄空気曝露群

SD群：ドキシソルビシン非投与・DE曝露群

14A群：ドキシソルビシン 14mg/kg 投与・清浄空気曝露群

14D群：ドキシソルビシン 14mg/kg 投与・DE曝露群

*：予備の1匹を追加。

表 2.5.3-1 Wistar ラットの心電図（標準肢Ⅱ誘導）におけるドキシソルビシン
 (2.5mg/kg s.c. ×6) の効果（実験Ⅰ：予備実験）

	No. 1		No. 2	
	Intact	Doxo.	Intact	Doxo.
Heart Rate (bpm)	296	432	375	417
RR interval (msec)	203	139	160	144
P-duration (msec)	23	14	20	13
PR interval (msec)	48	46	52	54
QT interval (msec)	57	78	60	81
QRS-duration (msec)	18	20	14	19
P amplitude (1/100mV)	3	25	7	7
R amplitude (1/100mV)	53	195	57	159
S amplitude (1/100mV)	-23	-37	-49	-110
T amplitude (1/100mV)	5	60	12	63
QRS axis (degree)	89	117	54	30

表 2.5.3-2 Wistar ラットの心電図（標準肢Ⅱ誘導）におけるイソプロテレノール
 (80mg/kg s.c. ×2) の効果（実験Ⅰ：予備実験）

	No. 1		No. 2		No. 3	
	Intact	Isopro.	Intact	Isopro.	Intact	Isopro.
Heart Rate (bpm)	400	385	400	355	375	392
RR interval (msec)	150	156	150	169	160	153
P-duration (msec)	23	21	19	21	23	19
PR interval (msec)	46	53	46	61	54	58
QT interval (msec)	63	64	68	72	64	74
QRS-duration (msec)	15	21	13	18	17	22
P amplitude (1/100mV)	36	30	31	28	34	22
R amplitude (1/100mV)	151	54	171	124	106	65
S amplitude (1/100mV)	-35	-30	-19	-40	-105	-104
T amplitude (1/100mV)	26	39	31	47	10	25
QRS axis (degree)	89	117	54	30	-45	-85

表 2.5.3-3 ドキソルビシン心不全ラットにおける PM_{2.5} 抽出物及び対照液の気管内投与の結果
(実験 I : 本実験)

(PM_{2.5} 抽出物投与群)

	before doxorub.		after doxorub.		+ PM _{2.5}	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
Heart Rate (bpm)	495.6	21.9	423.1	18.06	448.7	21.25
QRS (msec)	11.43	1.51	14.14	1.77	12.29	1.11
PR (msec)	41.14	1.77	45.00	1.29	44.29	2.14
QT (msec)	69.86	1.35	81.00	3.87	78.71	4.89
P-amplitude (×0.01mV)	0.171	0.023	0.097	0.026	0.081	0.020
R-amplitude (×0.01mV)	0.990	0.115	0.724	0.093	0.761	0.0119
S-amplitude (×0.01mV)	-0.260	0.121	-0.210	0.094	-0.190	0.104
T-amplitude (×0.01mV)	0.227	0.051	0.134	0.035	0.176	0.038

(対照液投与群)

	before doxorub.		after doxorub.		+ DMSO	
	Mean	S. D.	Mean	S. D.	Mean	S. D.
Heart Rate (bpm)	470.8	30.64	450.5	38.76	453.8	33.86
QRS (msec)	10.00	1.10	13.83	1.72	12.00	1.10
PR (msec)	42.50	1.23	44.83	2.32	43.83	1.84
QT (msec)	73.67	4.23	77.83	4.22	79.00	6.54
P-amplitude (×0.01mV)	0.167	0.018	0.098	0.012	0.088	0.032
R-amplitude (×0.01mV)	0.897	0.107	0.730	0.141	0.797	0.062
S-amplitude (×0.01mV)	-0.250	0.148	-0.190	0.129	-0.170	0.100
T-amplitude (×0.01mV)	0.242	0.035	0.143	0.032	0.210	0.026

表 2.5.3-4 イソプロテレノール心不全ラット及び正常ラットにおける DEP 気管内投与の結果①
(実験 I : 本実験…表 2.5.3-5 も同じ)

RR 間隔(msec)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	123.3±9.0	183.0±24.0
正常ラット+vehicle	139.0±22.6	174.0±12.7
isopro 心不全+DEP	129.6±12.7	171.4±9.4
isopro 心不全+vehicle	124.0±11.3	191.0±26.9

PR 間隔(msec)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	42.3±1.71	57.8±5.44
正常ラット+vehicle	40.5±0.71	49.5±0.71
isopro 心不全+DEP	42.2±2.39	55.2±3.11
isopro 心不全+vehicle	43.0±0	55.5±3.54

QT 間隔(msec)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	69.0±6.58	109.8±17.7
正常ラット+vehicle	74.5±4.95	108.0±14.1
isopro 心不全+DEP	74.0±5.29	102.0±9.27
isopro 心不全+vehicle	73.5±4.95	117.0±15.6

QRS 持続時間(msec)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	12.5±0.58	14.3±2.22
正常ラット+vehicle	11.5±0.71	15.5±0.71
isopro 心不全+DEP	11.6±1.14	14.2±1.92
isopro 心不全+vehicle	10.5±2.12	15.0±0

※Mean±SD

表 2.5.3-5 イソプロテレノール心不全ラット及び正常ラットにおける DEP 気管内投与の結果②

P 波振幅(1/100 mV)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	14.0±2.94	13.3±4.86
正常ラット+vehicle	15.5±2.12	11.5±2.12
isopro 心不全+DEP	14.8±1.3	12.8±2.39
isopro 心不全+vehicle	16.0±1.41	12.0±0

R 波振幅(1/100 mV)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	70.3±24.6	52.0±11.4
正常ラット+vehicle	84.0±12.7	54.5±6.36
isopro 心不全+DEP	74.4±9.42	49.0±7.52
isopro 心不全+vehicle	99.5±0.71	56.0±7.07

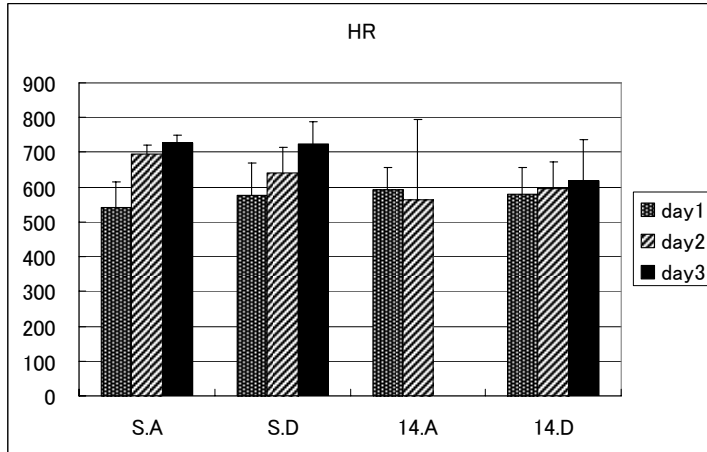
S 波振幅(1/100 mV)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	-20.0±7.44	-20.8±17.6
正常ラット+vehicle	-20.0±0	-20.0±8.49
isopro 心不全+DEP	-24.0±12.4	-25.4±15.2
isopro 心不全+vehicle	-13.5±6.36	-2.0±2.83

T 波振幅(1/100 mV)

	Before DEP or vehicle	After DEP or vehicle
正常ラット+DEP	20.8±5.44	28.5±8.74
正常ラット+vehicle	24.0±4.24	29.0±2.83
isopro 心不全+DEP	19.8±4.09	28.2±3.11
isopro 心不全+vehicle	23.0±5.66	21.0±2.83

※Mean±SD



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

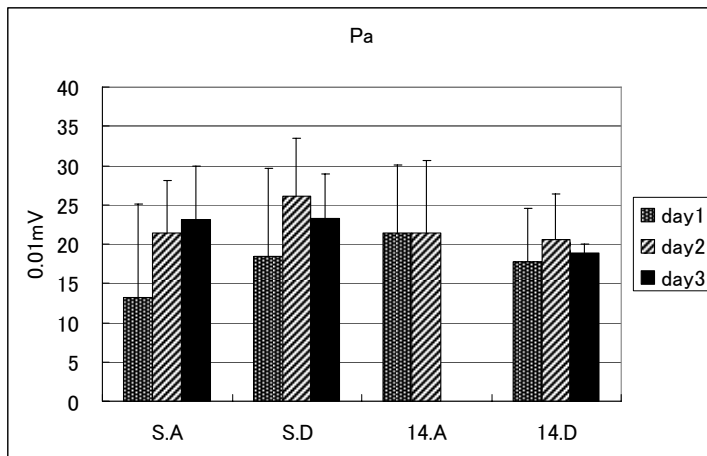
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

心拍数の数値は回/分(bpm)で表示。

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-1 心拍数 (HR) の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

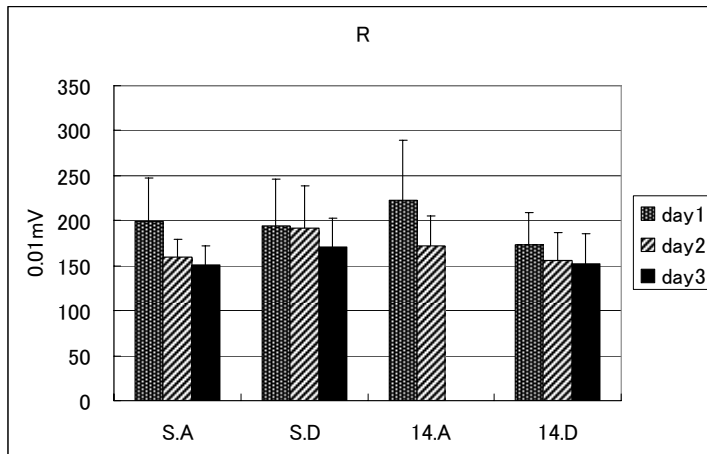
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14D vs SD) (non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-2 P 波の振幅の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

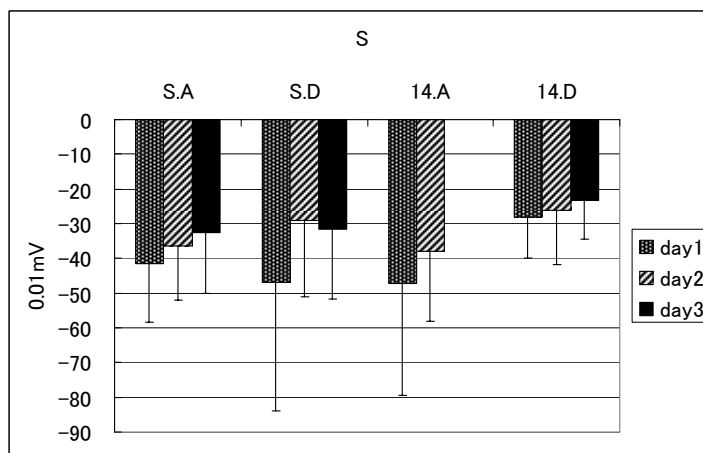
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

* : $P < 0.05$ (14D vs 14A) (non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-3 R 波の振幅の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

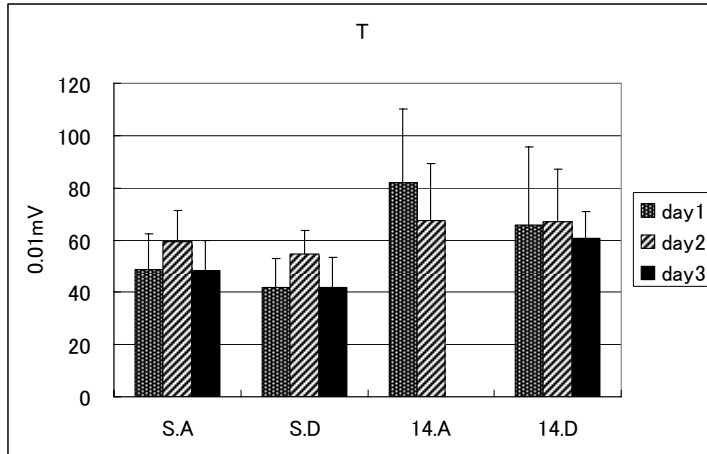
SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-4 S 波の振幅の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

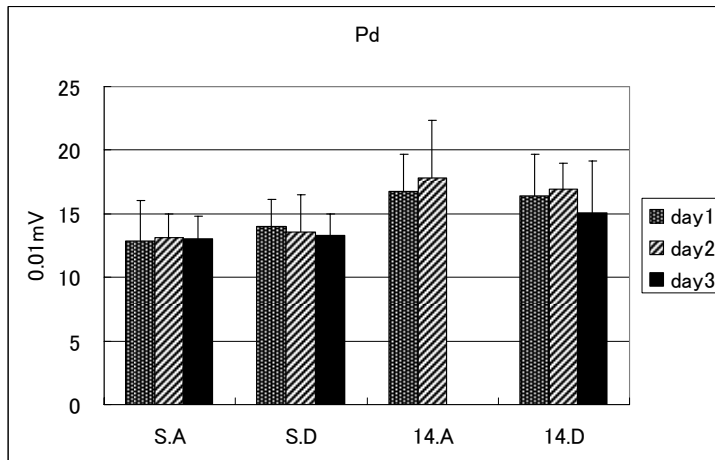
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14A vs SA; 14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-5 T 波の振幅の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

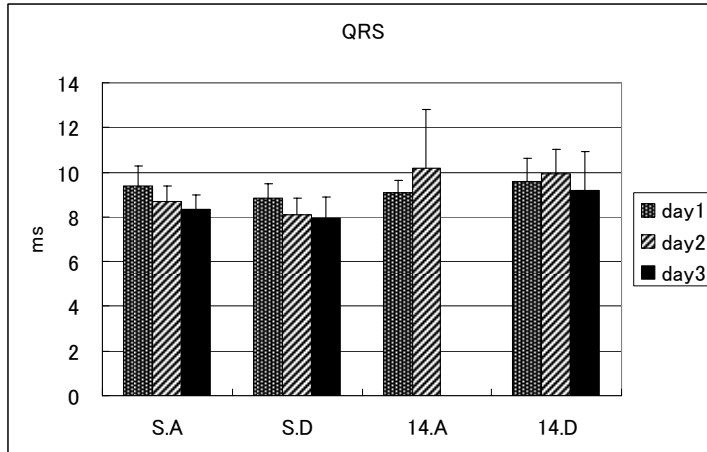
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14A vs SA; 14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-6 P 波持続時間の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

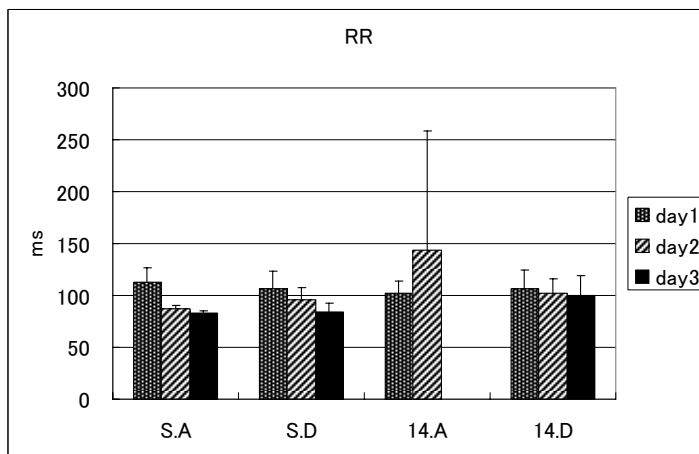
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: P<0.05(14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-7 QRS 持続時間の变化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

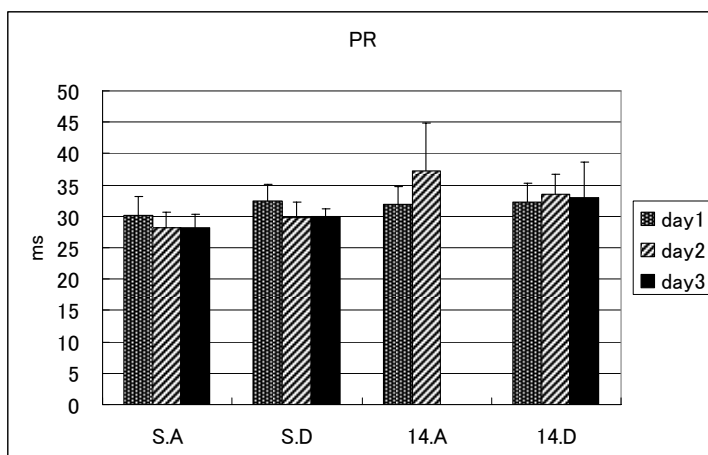
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: P<0.05(14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-8 RR 間隔の变化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

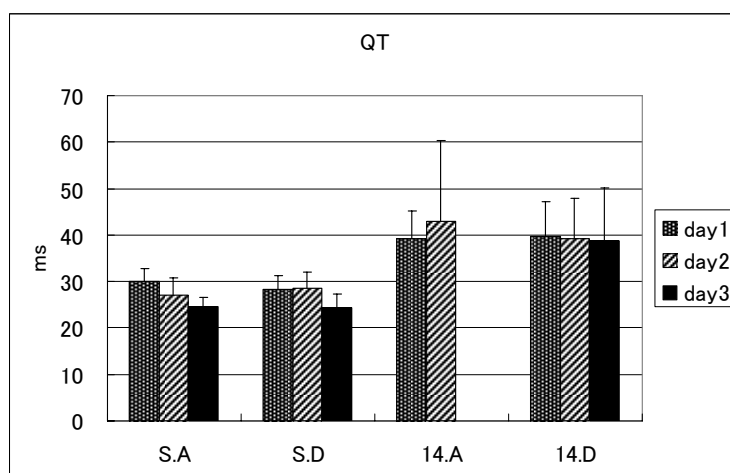
14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14D vs SD) (non-paired)

* : $P < 0.05$ (SD vs SA)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-9 PR 間隔の変化



day1 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

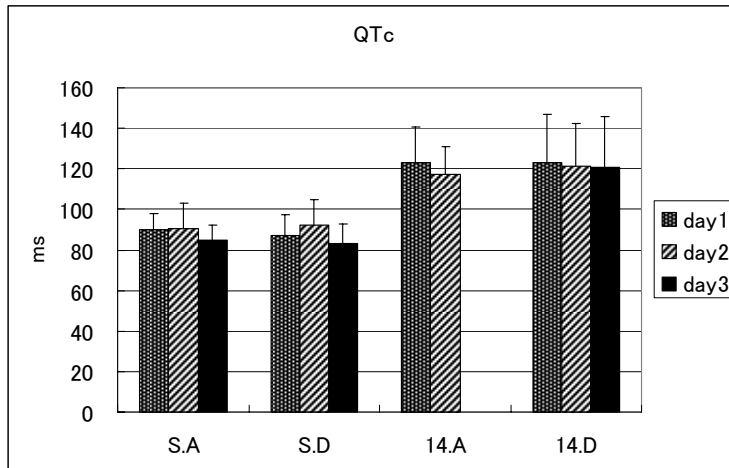
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14A vs SA; 14D vs SD) (non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差。解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-10 QT 間隔の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

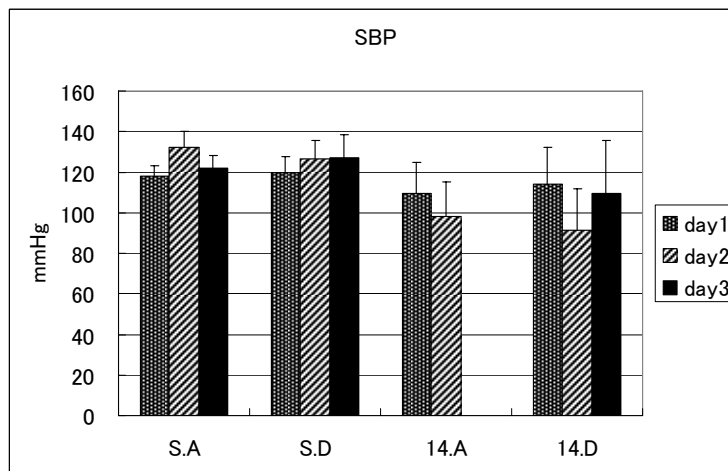
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14A vs SA; 14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差。解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-11 QTc の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

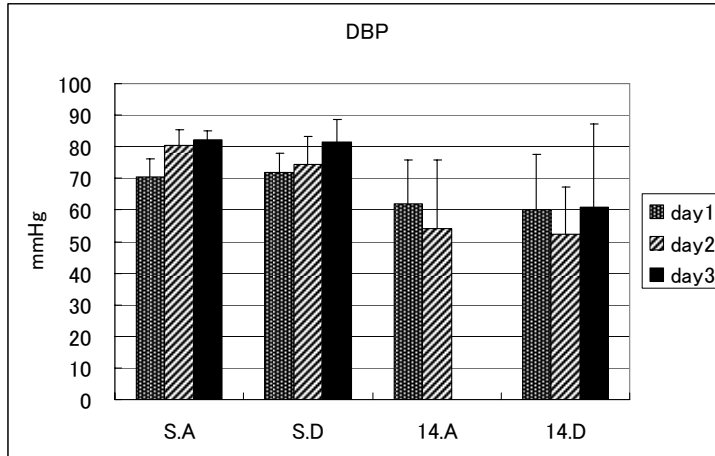
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: $P < 0.05$ (14A vs SA; 14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差。解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-12 収縮期圧 (SBP) の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

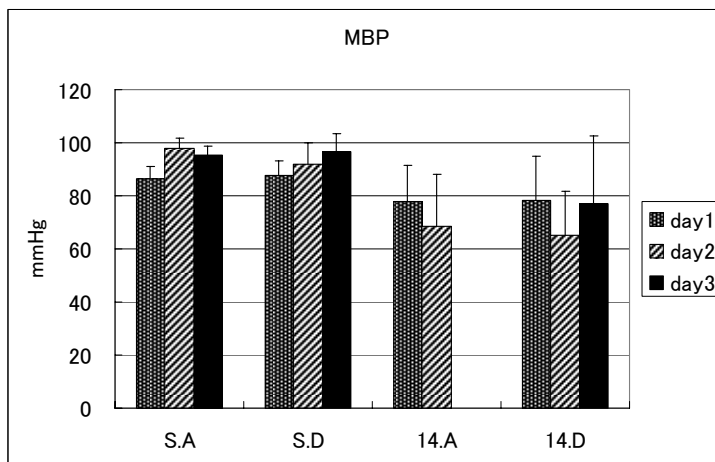
14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: P<0.05(14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-13 弛緩期圧 (DBP) の変化



day1 : 曝露 2 日前、day2 : 曝露開始後 1 日目、day3 : 曝露開始後 3 日目

SA : 生理食塩水 (S)+清浄空気曝露 (A)

SD : 生理食塩水 (S)+ディーゼル排気曝露 (D)

14A : ドキソルビシン 14mg/kg+清浄空気曝露

14D : ドキソルビシン 14mg/kg+ディーゼル排気曝露

: P<0.05(14D vs SD)(non-paired)

棒グラフは平均値±標準偏差、解析は標本数 (N) 4 以上のみを対象とした。

図 2.5.3-14 平均期圧 (MBP) の変化