

(7) PM_{2.5}抽出物が高血圧ラットの呼吸・循環機能に及ぼす影響に関する研究

要旨

大気環境中の浮遊粒子状物質の吸入により、呼吸器系のみならず心臓血管系に対するリスクが高まることが指摘されているが十分に明らかにされていない。そこで、心臓血管系の病態モデルとして自然発症高血圧ラット (SHR : Spontaneous Hypertensive Rat) を用いて、PM_{2.5}抽出物及び DEP 抽出物の影響について気管内投与を行い検討した。対照群として Wistar Kyoto ラット (WKY) を用い、いずれの群も無麻酔、無拘束下で呼吸パターンならびに肺抵抗 (Penh) と心電図を測定し、R-R 間隔から心拍変動 (HRV : Heart Rate Variability) 解析を行い、自律神経活動について、PM_{2.5}抽出物と DEP 抽出物の影響を投与前、投与後 3 時間、投与後 24 時間で比較した。Penh は SHR で PM_{2.5}抽出物、DEP 抽出物ともに投与後は投与前比べ、明らかな増加を示したが、24 時間後には回復した。また、PM_{2.5}抽出物の投与により R-R 間隔の延長、副交感神経活動の指標である High Frequency (HF) 成分の増加を認めた。いずれも SHR に明らかな影響が認められた。

(7. 1) 背景・目的

ヒトの自律神経活動と虚血性心疾患及び心臓突然死のリスクは密接な関係があるとされており、虚血性心疾患の発症には自律神経が大きく関与し、かつ突然死をもたらす重要な誘因が自律神経のバランスにあると考えられている。SHR は言うまでもなく成長とともに高血圧を呈する疾患動物である。生後しばらくは正常ラットと同程度の血圧値を示すが、生後 8 週以後より明らかな血圧上昇を認めるようになる。したがって、正常血圧ラットの WKY と比較して心臓血管系への影響が鋭敏に現れる可能性があり、今回の検討に適切な動物であると考えられた。

今回は、呼吸・循環器系への麻酔の影響を除くため、無麻酔、無拘束を条件に SHR と対照群である WKY に対する PM_{2.5}抽出物と DEP 抽出物の急性効果について気管内投与を行い、呼吸パターン、Penh、心拍変動解析から自律神経活動の変化について検討を行うことを目的とした。

(7. 2) 方法

動物は雄性の SHR と対照群である WKY をそれぞれ 10 週齢で購入し、少なくとも 1 週間の観察を行った後、ネンプタル麻酔 (45mg/kg ip) 下で第 II 誘導が行えるように心電図測定用の電線を皮下に埋め込んだ。1 週間後、動物が手術の侵襲から完全に回復した後、PM_{2.5}抽出物及び DEP 抽出物を 0.5mg/μl Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 溶液で希釈し、PM_{2.5}抽出物を 3mg/kg、DEP 抽出物を 3mg/kg、対照群として DMSO-Phosphate Buffer(PBS)をそれぞれ同量、ハロタン麻酔下で気管内投与を行った (図 2.7.2-1)。測定は、投与前、投与後 3 時間、24 時間後に呼吸測定システム (Baxco 社製) で呼吸パターンと Penh の測定を行った (図 2.7.2-2)。測定は原則として 10 分間の呼吸を連続測定し解析を行った。呼吸測定終了後、直ちに心電図を測定し、HRV の解析を行った。HRV は測定した心電図の R-R 間隔から周波数解析を行い、0.27~0.7Hz 成分を Low Frequency (LF)、0.75~3Hz 成分を HF とし、HF 成分を副交感神経活動、LF/HF を交感神経活動の指標とした (フラクレット Jr2 大日本製薬社) (図 2.7.2-3)。

(7. 3) 結果

Penh は、SHR、WKY のいずれも PM_{2.5}抽出物の投与後 3 時間で投与前に比べ明らかな増加を示した。DEP 抽出物も同様に増加したが、増加の程度は PM_{2.5}抽出物が顕著であった。SHR、WKY ともに PM_{2.5}抽出物、DEP 抽出物投与後 24 時間で投与前の値に回復した (図 2.7.3-1)。

心電図 R-R 間隔は、SHR の PM_{2.5}抽出物の投与後 3 時間で投与前に比べ明らかな延長を示したが、DEP 抽出物の投与で変化は認められなかった。対照群である WKY は PM_{2.5}抽出物、DEP 抽出物投与による変化を示さなかった (図 2.7.3-2)。

自律神経活動の指標である HRV について、副交感神経活動の指標である HF は SHR の PM_{2.5}

抽出物の投与 3 時間後で明らかな増加を示したが、DEP 抽出物の投与では変化がなかった。WKY は PM_{2.5} 抽出物の投与後 3 時間で HF が増加傾向を示したが、DEP 抽出物には変化を認めなかった。SHR、WKY とも 24 時間後には投与前と同様の値に回復した (図 2.7.3-3)。

交感神経活動の指標である LF/HF は、SHR、WKY ともに PM_{2.5} 抽出物、DEP 抽出物の投与による変化を示さなかった。

また、高血圧病態モデルである SHR は、抽出物の投与前から正常血圧の WKY に比較して日状的に交感神経活動が高い状態で維持されていることが確認できた (図 2.7.3-4)。

(7. 4) 考察

今回の研究では、高血圧ラットである SHR と正常血圧群である WKY の 2 群を用いて PM_{2.5} 抽出物と DEP 抽出物が呼吸器及び循環器系に及ぼす影響について検討した。PM_{2.5} 抽出物の影響については、気管内投与後 3 時間で Penh に明らかな増加が認められ、24 時間後には投与前と同様の値に回復した。このことから、PM_{2.5} 抽出物が気道あるいは肺に一過性的な変化をもたらしたことは明らかである。また、同量の DEP 抽出物の投与の影響は PM_{2.5} 抽出物に比べて軽度であり、PM_{2.5} 抽出物のほうがその影響が強く現れた。これまで DEP 抽出物の投与による Penh の増加については報告されているが、PM_{2.5} 抽出物の効果が強く現れたことは興味深い。

一般的に気道内の異物は、気道粘膜下の irritant receptor を介して迷走神経を刺激し、その結果、呼吸数が増加し換気量に変化をもたらすものと考えられている。しかし、これまでのわれわれの検討から呼吸数に著しい変化は認められず、PM_{2.5} の影響は必ずしも気道からの迷走神経反射による変化だけでないことも予測される。

また、SHR において PM_{2.5} 抽出物の影響が R-R 間隔の延長、すなわち心拍数の減少をもたらし、副交感神経活動の指標である HF 成分が有意に増加した。対照群である WKY は PM_{2.5} 抽出物の気管内投与後に HF 成分は増加傾向を示したものの、SHR の増加に比べて変化は緩やかであった。

PM_{2.5} の影響がどのような経路を介して生じているかは今回の結果からは明らかでないが、肺毛細血管から血液中に取り込まれた粒子が血流を介して心臓あるいは神経活動に影響を与えている可能性が考えられる。

一方、交感神経活動の指標である LF/HF には PM_{2.5} 抽出物、DEP 抽出物の投与による変化を示さなかった。

(7. 5) 結論

循環器疾患モデルとして SHR を用いて、PM_{2.5} 抽出物、DEP 抽出物を気管内投与し、呼吸・循環器系にもたらす影響について検討した。SHR において PM_{2.5} 抽出物の投与後、明らかな肺抵抗の増加、心電図 R-R 間隔に延長すなわち心拍数の減少と副交感神経活動の増加を認めた。

Protocol

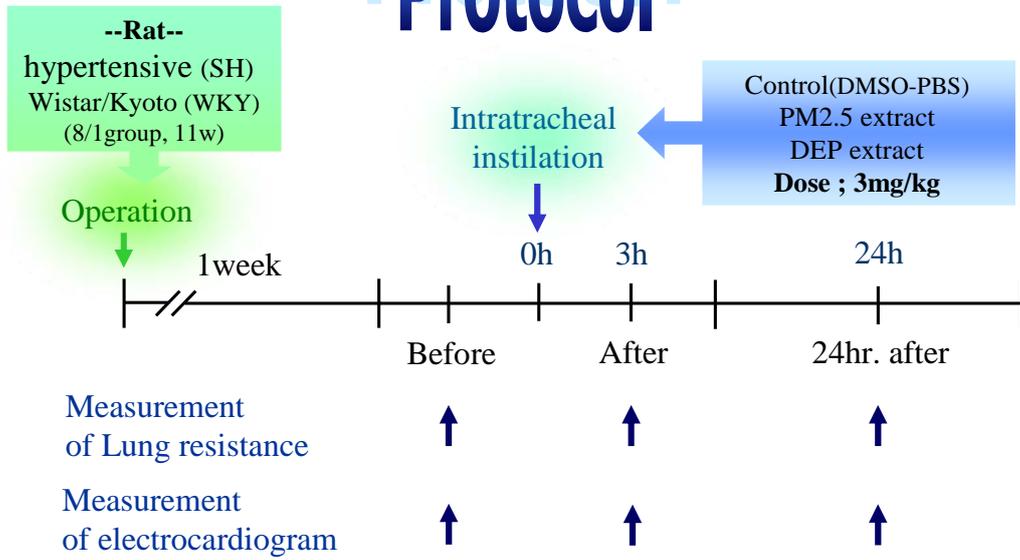
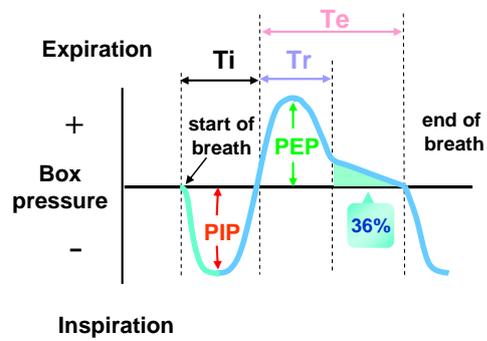
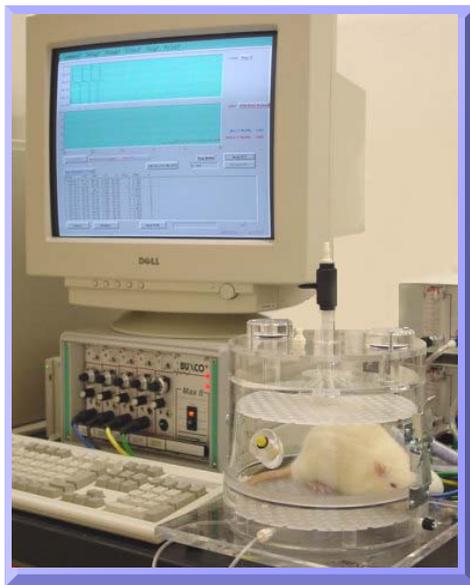


図 2.7.2-1 実験プロトコール



$$\text{Penh (Enhanced Pause)} = \text{Pause} \times \left(\frac{\text{PEP}}{\text{PIP}} \right)$$

$$\text{Pause} = \frac{\text{Te} - \text{Tr}}{\text{Ti}}$$

図 2.7.2-2 肺抵抗 (Penh) の測定方法

Operation

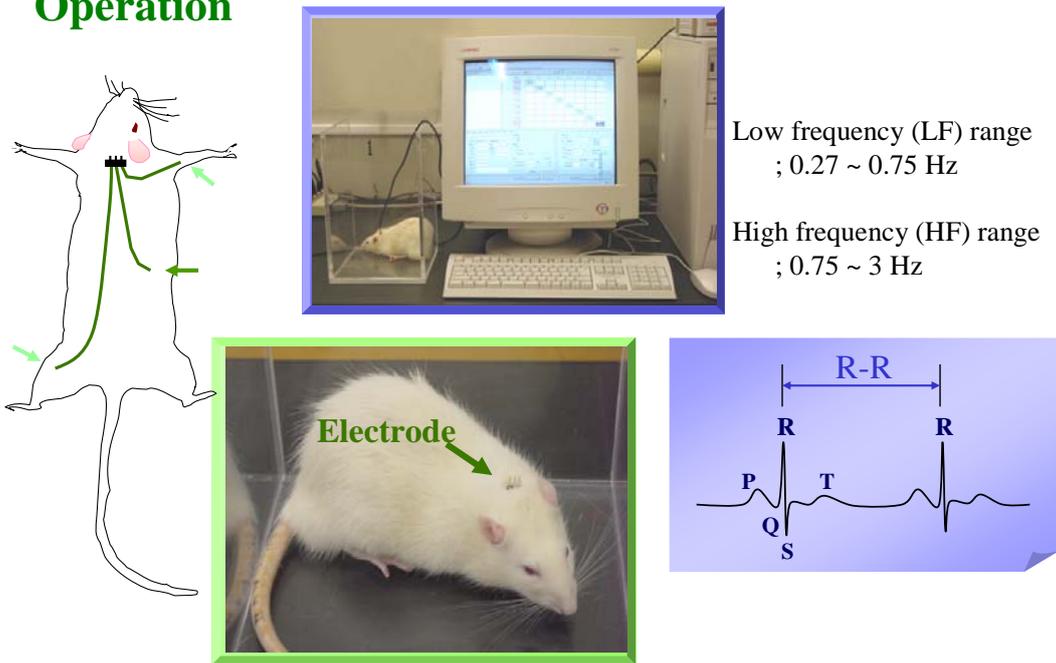


図 2.7.2.-3 心電図測定方法

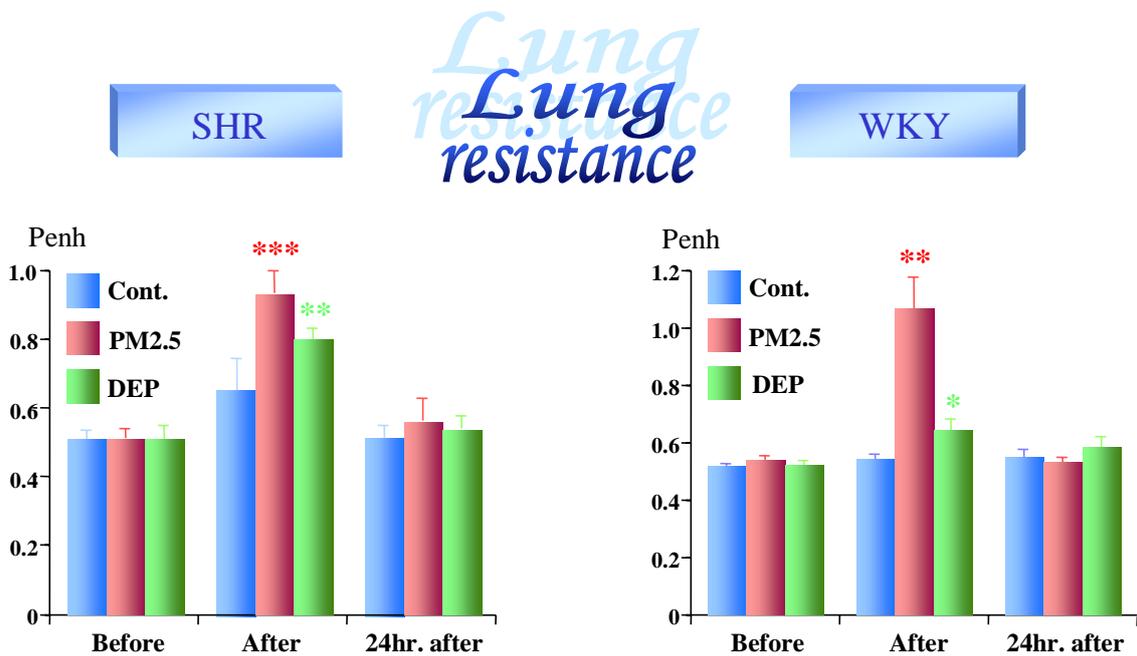


図 2.7.3-1 PM_{2.5}抽出物及びDEP抽出物気管内投与による肺抵抗の影響

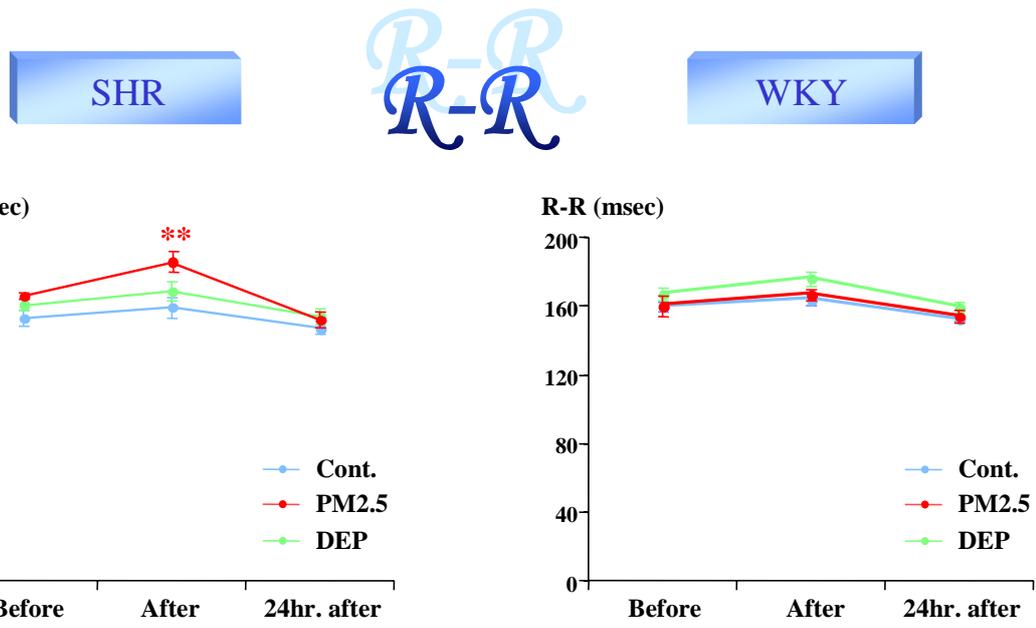


図 2. 7. 3-2 PM_{2.5} 抽出物及び DEP 抽出物気管内投与による R-R 間隔の影響

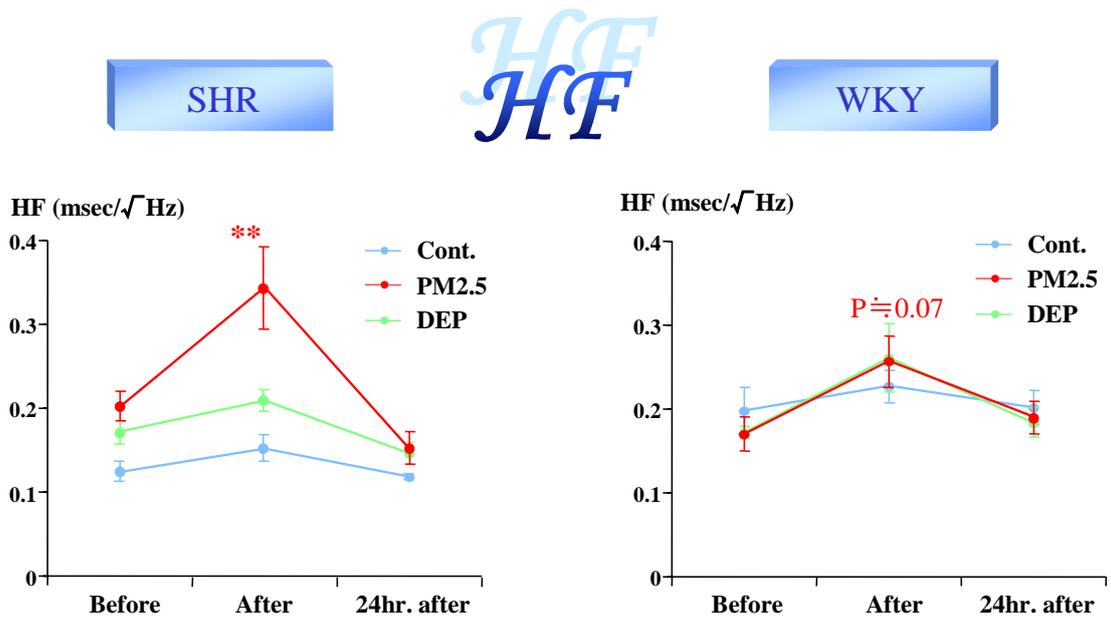


図 2. 7. 3-3 PM_{2.5} 抽出物及び DEP 抽出物気管内投与による HF 成分の影響

SHR

LF/HF

WKY

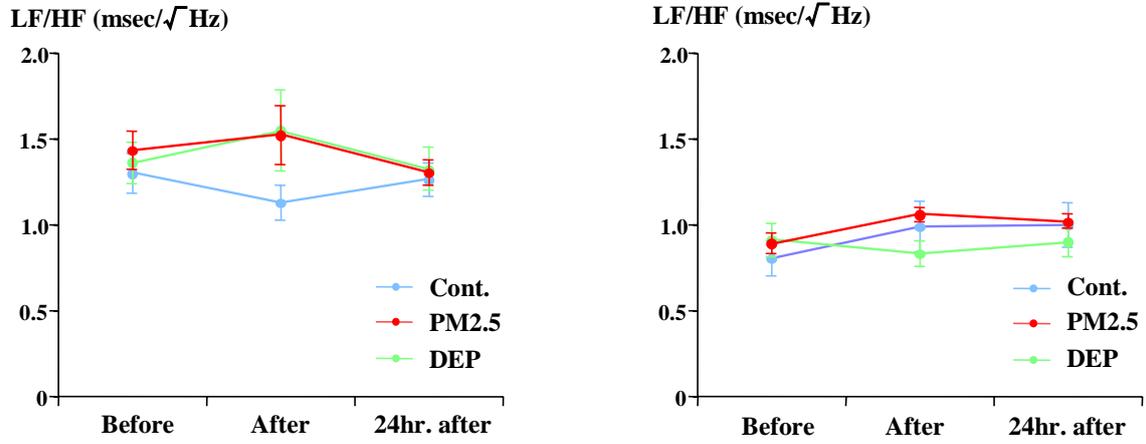


図 2.7.3-4 PM2.5 抽出物及び DEP 抽出物気管内投与による LF/HF の影響