

(5) CAPs 曝露がキニジン投与モルモットの心電図変化に与える影響に関する研究

要旨

本研究では、ヒトやモルモットにおいて心筋細胞の脱分極過程と再分極過程（高用量）を抑制する作用のあるキニジンを用いて心電図変化を実験的に誘導し、不整脈の原因となる心電図変化が CAPs 曝露で現れやすいかどうかについて検討した。心筋細胞の再分極過程に関与するカリウムチャネルの性状が比較的ヒトに類似しているモルモットを実験動物として選択し、CAPs 曝露実験を 6 回にわたって実施した。各回の CAPs 曝露直後にキニジンを投与して詳細な心電図波形解析を行ったが、CAPs 曝露直後のキニジン投与（静脈内投与）に対する反応性を観察するため、全身麻酔下で行った。麻酔条件下での実験は、無麻酔条件下に比べて自律神経活動に起因する心機能変化が修飾ないし減弱される可能性があるが、反面、CAPs 曝露による心筋細胞への直接効果の有無を見極めるにはむしろ有利な点があり、また、心電図波形（電気軸）はテレメトリー記録の無麻酔条件下に比べて安定しているため、より正確な評価が可能である。

第 1 回曝露実験では、急性的な心電図変化を起こすために高用量（20mg/kg i.v.）のキニジンを投与した。この実験では、4 時間曝露群も 4 日間曝露群も CAPs 曝露群に比べて、除粒子対照群の方で心機能抑制が強く現れる傾向がみられた。

第 2～6 回曝露実験では、少量のキニジンを 3 回に分けて投与する方法で心電図変化を調べて比較した。このうち、第 2～4 回の曝露実験では、心室性不整脈基質の重要な指標になりうる心拍数（Heart Rate, HR）、QRS 持続時間（QRS duration）、QT 間隔（QT interval）、QTc のキニジンに対する反応性にほぼ同じ傾向の変化が認められた。すなわち、CAPs 曝露群では心拍数の軽度の減少、QRS 持続時間の軽度の延長、QT 間隔の軽度の延長、QTc の軽度の増大が認められた。しかしながら、これらの変化は統計解析では有意ではなかった。一方、CAPs 濃度と各指標との相関性では、心拍数が 3～4 日間曝露群で濃度依存性の増加傾向（CAPs 濃度に伴う心拍数上昇）、QTc が 4 時間曝露群で増加（CAPs 濃度に伴う QTc の増大）傾向が一部の時間帯で認められた。しかし、データ数が少なく、4 時間曝露群と 3～4 日間曝露群との間で共通して観察されたわけではないので、現時点での評価は難しい。各実験回のうち第 4 回曝露実験は、他の実験回と比較すると、CAPs 曝露群の心拍数が除粒子対照群に比べて高くなっており、上記の心電図変化が比較的明瞭であった。また、曝露直後のキニジン投与前の心拍数のレベルがキニジンに対する反応性に影響を与える可能性が示唆された。

(5. 1) 背景・目的

ヒトの不整脈死の多くは、心筋梗塞や完全房室ブロックなどの心疾患、腎疾患、肝疾患などの基礎疾患が存在する場合や、心筋細胞イオンチャネル構成蛋白の先天性異常、薬物感受性に影響する心筋細胞イオンチャネルの遺伝子多型などが基本的な素因として存在し、その上に薬物や大気汚染、心因性・運動性ストレスなどが作用して発現するものと考えられている。したがって、大気汚染物質の不整脈誘発作用を実験的に評価する場合には、対象動物の選択が問題になる。

本研究では、疾患動物を用いることができなかったが、ヒトの先天性及び後天性 QT 延長症候群でもっとも重要な役割を果たす心筋イオンチャネルである急速活性化遅延整流カリウムチャネル（IKr）及び緩徐活性化遅延整流カリウムチャネル（IKs）のいずれも有しているモルモットを被検動物として用いた。また、これらのイオンチャネルの抑制を通じて心筋細胞の脱分極過程及び再分極過程を延長させ、心電図の QT 延長を起こす薬物として知られているキニジン（Quinidine）の一定量を投与することで、心電図変化を起こしやすくした。

(5. 2) 方法

(5. 2. 1) 曝露実験

1. 曝露計画、キニジン投与量

曝露実験は4時間曝露実験を計5回、3日間もしくは4日間曝露実験を計6回行った。各日の曝露時間は概ね10:00～14:00の約4時間とした。

実験回	曝露時期	曝露時間	キニジン投与量
第1回	(2004.1/24、1/26～29)	4時間曝露,4日間曝露	20mg/kg i.v.
第2回	(2004.11/2、11/3～5)	4時間曝露,3日間曝露	2mg+2mg+3mg/kg i.v.
第3回	(2004.12/14、12/15～17)	4時間曝露,3日間曝露	3mg+3mg+5mg/kg i.v.
第4回	(2005.11/21、11/22～24)	4時間曝露,3日間曝露	3mg+3mg+5mg/kg i.v.
第5回	(2006.5/22、5/23～25)	4時間曝露,3日間曝露	3mg+3mg+5mg/kg i.v.
第6回	(2006.11/14～16)	3日間曝露	3mg+3mg+5mg/kg i.v.

2. 供試動物

成熟 Hartley 系モルモット (雄) を無作為に CAPs 曝露群及び CAPs を含まない除粒子対照群に分け、CAPs 曝露群をさらに4時間曝露群と3日間曝露群又は4日間曝露群 (第1回曝露実験のみ) とに分けた。

実験回	解析動物数/曝露動物数 4時間曝露		解析動物数/曝露動物数 3日間・4日間曝露	
	除粒子対照群	CAPs 曝露群	除粒子対照群	CAPs 曝露群
第1回	4/8 ¹⁾	8/8	8/8	7/8 ²⁾
第2回	4/6 ³⁾	6/6	6/6	5/6 ⁴⁾
第3回	6/6	6/6	7/7	5/7 ⁵⁾
第4回	5/5	5/5	5/5	5/5
第5回	4/5 ⁶⁾	5/5	5/5	4/5 ⁶⁾
第6回	—	—	5/5	5/5

1) キニジン投与後に4匹が死亡、2) キニジン投与後に1匹が死亡、3) 麻酔状態悪化のため2匹を除外、
4) 曝露期間中に1匹が死亡、5) 麻酔状態悪化のため1匹を除外、静脈カニューレ脱落のため1匹を除外、
6) 麻酔状態悪化のため1匹を除外

3. 麻酔、手術、曝露手順

4時間曝露群及び3日間又は4日間曝露群のいずれも、第2～6回曝露実験では、心電図観察当日は曝露に先立って、ウレタン (1g/kg) の腹腔内投与により全身麻酔を施した後、キニジン投与のための静脈カテーテルを外頸静脈内に留置した。規定の曝露終了後、曝露チャンバーからモルモットを搬出し、直ちに心電図記録を行った。心電図記録は、キニジン投与前の2分間及び最初のキニジン投与後20分間にわたって連続記録を行った。第1回曝露実験では、覚醒下で曝露を行なった後、心電図記録前に麻酔を施し静脈カニューレーションを行い、キニジンの投与を行った。

4. キニジン投与方法、心電図記録法

キニジンは第3～6回曝露実験では、3mg/kg、3mg/kg、5mg/kg、また第2回曝露実験では2mg/kg、2mg/kg、3mg/kgの3回に分けて5分間隔で静脈内投与し、最後の投与の後は10分間の記録を行った。それぞれの投与は1回につき20秒間で行った。なお、第1回曝露実験はキニジン20mg/kgの静脈内投与を1回のみ行い、その後20分間の心電図観察を行った。

心電図に関連した分析項目としては、心拍数、P波・R波・S波・T波の振幅、P波・QRS群の持続時間、PR間隔、QT間隔、QTc (Bazett式) とした。

(5. 2. 2) 統計解析

心室性不整脈の発現性を反映しやすい心電図指標として、心拍数、QRS持続時間、QT間隔及びQTcを選び、これらの指標別に、CAPs曝露群と除粒子対照群間の心電図指標差に着目し、各実験回ごとの解析及び全実験回をプールした解析 (共分散解析) を行い、心電図観察期間中の各時点におけるCAPs曝露有無又はCAPs曝露濃度 (あるいは成分濃度) と各心電図指標との関連性について検討した。

主な解析項目として挙げた心電図指標（心拍数、QRS 持続時間、QT 間隔及び QTc）の意義の概要は以下のとおりである。

1. 心拍数

生理的には心拍数の増加は交感神経活動の上昇、心拍数の減少は交感神経活動の低下及び副交感神経活動の上昇が生じていると解釈される。しかしながら、薬物などの生体影響物質が血液中に存在する場合や血液の電解質異常では、上記の自律神経活動とは関係なく、心臓のペースメーカー細胞や固有心筋細胞の興奮性そのものが変化することによって心拍数が増減することがある。心拍数が持続的に正常範囲を超えて増減する場合、何らかの心機能影響が存在する可能性を疑う。キニジンは心筋細胞のナトリウムチャンネルを抑制するため心拍数に影響を与える。

2. QRS 持続時間

左右心室筋の電氣的興奮時間を意味する。不整脈の一因である心筋傷害が存在する場合、心室筋層での興奮持続時間の延長やずれが生じるために、心電図上は QRS 持続時間の延長となって現れる。キニジンは大量投与によって QRS 持続時間を延長させ、不整脈を誘発しやすくなる。

3. QT 間隔

左右心室筋の電氣的興奮の開始から終了までの時間を意味する。ヒトの致死性不整脈（心室細動、TdP）の発現では発作の発現前に心電図上で QT 間隔の延長が観察されることが多いことから、臨床的に重要な指標になっている。とりわけ心室筋の再分極過程の遅延は QT 間隔の延長に反映されやすく、再分極時に働くカリウムチャンネルとしては頻脈時には IKs チャンネルの異常が、徐脈時には IKr チャンネルの異常が影響を与えやすいとされている。実験動物では、どの範囲まで QT 間隔が延長した場合に致死性不整脈の誘発につながるのか明確なデータはないが、QT 間隔の延長は不整脈の発現性の背景要因の変化を探る上で意義があるものと思われる。

4. QTc

QT 間隔は一般に心拍数（R-R 間隔）の増減によって影響を受けるため、QT 間隔を R-R 間隔で補正（=QTc）することが広く行われている。その補正式は動物種毎にもっとも適合する計算式が検討されているが、モルモットではヒトと同じ Bazzet の補正式が比較的良く適合するのでこれを用いた。QTc の値が大きくなる場合は、心拍数に関係なく実質的に QT 間隔が延長したことを意味する。

（5. 3）結果

（5. 3. 1）CAPs 曝露濃度

本 CAPs 曝露実験時の CAPs 質量濃度及び主要成分濃度は表 3.5.3-1 に示すとおりである。

本調査の CAPs 曝露濃度は 313~4,103 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ であり、各曝露実験時の CAPs 質量濃度は平成 15 年度から 17 年度にかけて増加傾向であったが、平成 18 年度は低下した。

（5. 3. 2）CAPs 曝露時の運転状況

本 CAPs 曝露実験時の CAPs 曝露時間等の運転状況は表 3.5.3-2 に示すとおりである。

本調査では 10 時前後より 4 時間連続曝露を基本としているが、CAPs 曝露システムのトラブル等はほとんどなく、ほぼ連続曝露が行えた。

なお、CAPs 曝露実験時は CAPs 曝露チャンバー及び除粒子対照群チャンバーを設置している動物曝露室は照明を使用している。また、曝露実験にあたって実験動物の明期・暗期のコントロールは行っていない。

（5. 3. 3）生体影響指標変化

1. 心拍数（図 3.5.3-1~5）

1.1 1 日曝露（4 時間曝露）の影響

キニジン投与前後の各測定時点での心拍数と CAPs 曝露有無の関連性を評価した。全 5 回の曝露実験のうち、第 1～3 回曝露実験では、CAPs 曝露群の心拍数が除粒子対照群よりもやや低い傾向があった。第 1 回曝露実験では、他の曝露実験とは異なりキニジン投与量が 20mg/kg とかなり多いが、キニジン投与直後に一過性の増加傾向が観察された。これはキニジン投与による心拍数の減少度が CAPs 曝露群では除粒子対照群に比べて大きかったことを反映していた。

一方、第 4 回曝露実験では、キニジン投与前に増加を示し、キニジンの投与後はさらに増加傾向を示したが、3 回目のキニジン投与以降は負側に転じた。この実験では、キニジン投与前の CAPs 曝露群の心拍数が除粒子対照群よりも高かったが、1～3 回目までのキニジン投与による心拍数の減少度が CAPs 曝露群で次第に大きくなったことを反映していた。第 5 回曝露実験ではキニジン投与前後を通じて傾向がみられなかった。

CAPs 濃度と心拍数との関連性では、第 1～5 回目までの曝露実験におけるキニジン投与後 3 分目 (t3) 及び 13 分目 (t13) のいずれも CAPs 濃度との間に明瞭な関連性は見出されなかった。また、元素状炭素、NO₃⁻、SO₄²⁻、NH₄⁺濃度と心拍数変化との間には一定の傾向は見出されなかった。5 回のすべてを合わせたプール解析では、心拍数は全体的に負を示したが、キニジン投与の影響は両群間で有意差がみられなかった。

1.2 3 日間 (4 時間×3 日) 曝露又は 4 日間 (4 時間×4 日) 曝露の影響

全 6 回の曝露実験のうち、キニジン投与前の心拍数は第 2～6 回で心拍数が正側を示した。これは CAPs 曝露群が除粒子対照群に比べて曝露直後の心拍数がやや高いことを意味する。第 1 回曝露実験では、キニジン投与前の心拍数にほとんど差がみられなかった。

キニジンに対する反応は第 1 回曝露実験で心拍数が増加する傾向を示し、10 分目 (t10) 以降は有意に増加した。しかし、第 2 回と第 4 回曝露実験ではキニジン投与によって減少する傾向を示した。

第 3 回及び第 5 回曝露実験はほとんど変化が示されなかった。第 1 回曝露実験は第 2～6 回曝露実験とは異なり、キニジン濃度が 20mg/kg と高く、投与回数も 1 回のみである。第 2～6 回曝露実験の、CAPs 濃度と心拍数の関係を見ると、t3 では CAPs 濃度の増加に伴って心拍数が正の方向に強まる傾向が示された。t13 では CAPs 濃度との関係は認められなかった。

キニジン投与濃度が同じである第 2～6 回曝露実験のすべてを合わせたプール解析では、心拍数はキニジン投与前 (t0) 及びキニジン投与後 1～8 分目で有意に正の値を示した。すなわち、これらの時間では CAPs 曝露群の心拍数が除粒子対照群よりも高いことがわかった。心拍数と大気分析結果との関係では、t3 で CAPs 濃度の上昇に伴い増加 (CAPs 曝露群で心拍数がより多くなる) する傾向が示された。しかしながら、t13 ではむしろ、軽微ではあるが反対方向の減少が示された。また、t13 では心拍数が SO₄²⁻濃度の増加に伴い軽微に減少する傾向が示された。

2. QRS 持続時間 (図 3.5.3-6～9)

2.1 1 日曝露 (4 時間曝露) の影響

t0 の QRS 持続時間は第 1～3 回、第 5 回曝露実験で正側を示し、第 4 回では有意に負の値を示した。第 4 回曝露実験では、キニジン投与後 0～5 分目、8～10 分目の期間は負を示した。キニジンの第 2 回目投与後及び第 3 回目投与直後は、明瞭に正方向 (QRS 持続時間が CAPs 曝露群で延長する変化を示した) に変化したが、有意差はなかった。プール解析では、キニジン投与前後の全経過を通じて有意な変化は認められなかったが、傾向としてはキニジン投与により QRS 持続時間が増加 (正の方向の) 変化を示した。CAPs 濃度及び元素状炭素、NO₃⁻、SO₄²⁻、NH₄⁺濃度との関係は t3、t13 のいずれも認められなかった。

2.2 3 日間 (4 時間×3 日) 曝露又は 4 日間 (4 時間×4 日) 曝露の影響

第 4 回曝露実験では、t0 から第 3 回目のキニジン投与直前 (t10) まで QRS 持続時間は有意に負を示した。すなわち QRS 持続時間は CAPs 曝露群で除粒子対照群よりも短かったが、キニジン投与により明瞭に増加 (QRS 持続時間が CAPs 曝露群で延長した) した。他の曝露実験では持続時間に特筆すべき変化は認められなかった。

プール解析では、キニジン投与前後の全経過を通じて有意な変化は認められなかったが、2 回目、3 回目のキニジン投与でわずかな増加 (正の方向への変化) がみられた。CAPs 濃度及び元素状炭

素、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 濃度との関連性は t3、t13 のいずれにも認められなかった。

3. QT 間隔 (図 3.5.3-10~14)

3.3 1 日曝露 (4 時間曝露) の影響

t0 の QT 間隔は、第 2 回、第 3 回曝露実験で正側を、第 4 回、第 5 回曝露実験で負側を示した。第 4 回曝露実験ではキニジン投与により軽微な増加が 2 回目及び 3 回目のキニジン投与後に認められたが有意ではなかった。第 2~5 回曝露実験のプール解析では、全時間経過にわたってやや正の値を示し、キニジン投与では、その後に軽微な増加 (正方向の変化) が示された。CAPs 濃度及び元素状炭素、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ の濃度との関係は t3、t13 のいずれも認められなかった。

3.3 3 日間 (4 時間×3 日) 曝露又は 4 日間 (4 時間×4 日) 曝露の影響

t0 の QT 間隔は第 1 回、第 5 回を除いて、他の曝露実験では負側を示した。第 1 回曝露実験では、4 時間曝露の結果と同様にキニジン投与後 8 分目以降から、やや負の方向の変化が現れたが有意差ではなかった。第 2~4 回、第 6 回曝露実験では、キニジン投与の直後にわずかな増加がみられたが有意ではなかった。第 2~6 回のプール解析では、全経過を通じて負側を維持し、キニジン投与後 0~10 分目で有意差を示した。キニジン投与の影響は全体としては正側の反応を示したが有意な変化ではなかった。

CAPs 濃度及び元素状炭素、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 濃度との関係は t3、t13 のいずれも認められなかった。第 2~6 回の 4 時間曝露と 3 日間曝露を合わせた全プール解析では、キニジン投与により、軽微な正の方向の変化が示されたが有意ではなかった。

4. QTc (図 3.5.3-15~19)

4.1 1 日曝露 (4 時間曝露) の影響

QT 間隔を R-R 間隔 (心拍数) で補正した QTc は、第 2 回、第 3 回曝露実験においてキニジン投与前の値が正側に、第 1 回、第 4 回、第 5 回曝露実験では負側を示した。第 4 回曝露実験では、キニジン投与によって正側の反応が示された。第 2~5 回のプール解析では、傾向が認められなかった。第 2~5 回曝露実験における CAPs 濃度及び元素状炭素、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 濃度との関係は、t13 での元素状炭素、 NO_3^- 濃度の増加に伴い、正方向 (QTc 増大) に大きくなる傾向が示された。

4.2 3 日間 (4 時間×3 日) 曝露又は 4 日間 (4 時間×4 日) 曝露の影響

第 1 回曝露実験では、キニジン投与後 15 分目以降でやや負方向の変化がみられたが、全体的に 4 時間群に比べて差が小さかった。第 2~4 回曝露実験ではキニジン投与により正の方向の変化が示されたが、3 回目のキニジン投与以降にやや強い傾向がみられた。第 2~5 回曝露実験を合わせたプール解析では、キニジン投与後 0~10 分目は負の値を示し、3 回目のキニジン投与 (t11) 以降は正の方向への変化がみられた。濃度分析結果との関係では、元素状炭素、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 濃度との明瞭な関係は認められなかった。CAPs 濃度との関連性では、軽微ではあるが t3 で減少 (CAPs 曝露群で QTc が短縮) する傾向が示された。

(5.4) 考察

(5.4.1) 心拍数

第 1 回曝露実験 (キニジン 20mg/kg 単回投与) では、4 時間曝露及び 4 日間曝露も心拍数はキニジン投与直後に一時的な減少を示し、その後は時間経過とともに増加傾向となる。4 時間曝露では、除粒子対照群及び CAPs 曝露群の心拍数 (投与前、最低心拍数、20 分後の心拍数) がそれぞれ 278→205→225、272→194→212 を示し、4 日間曝露では、253→198→212、247→197→246 を示している。心拍数の回復率の観点からみると、4 時間曝露の除粒子対照群では 80.9%、CAPs 曝露群では 77.9%であり、4 日間曝露の除粒子対照群では 83.8%、CAPs 曝露群では 96.6%である。4 日間曝露実験では、CAPs 曝露群の心拍数回復率が除粒子対照群にくらべて高いため、生体影響指標の差 (CAPs 曝露群-除粒子対照群) は正の方向に現れた。

第 2~6 回の曝露実験の 3 日間曝露では、t3 及び t13 における生体影響指標の差 (CAPs 曝露群

－除粒子対照群）はほとんどが正側に分布したことから、CAPs 曝露群の心拍数は除粒子対照群に比べて多いことがわかる。t3 における心拍数と CAPs 濃度との関係では、濃度増加に伴って心拍数が増加する傾向が示された。この傾向にはキニジン投与による影響のほかに、曝露直後のキニジン投与前の心拍数レベルが影響している可能性があるものと推測される。一方、t13 では正側を維持しているものの、CAPs 濃度の増加に伴ってやや減少することから、t13 では、心拍数の減少度が CAPs 曝露群でやや大きくなることが示唆される。キニジン投与量が少ない t3 (3mg/kg) と、キニジン投与量が多くなっている t13 (3mg/kg+3mg/kg+5mg/kg) とでは、キニジンによる心機能の抑制度が異なることが考えられる。前者では CAPs 曝露群は除粒子対照群にくらべて心拍数促進性に働き、後者では心拍数抑制性に働いていることが推測される。

(5. 4. 2) QRS 持続時間

第 4 回曝露実験を除いて、QRS 持続時間に対する CAPs 曝露の影響は認められなかった。第 4 回曝露実験では、4 時間曝露及び 3 日間曝露のいずれもキニジン投与後 0～10 分目で生体影響指標の差 (CAPs 曝露群－除粒子対照群) が負を示したことから、これらの期間では、CAPs 曝露群の QRS 持続時間が非 CAPs 群にくらべて短いことが示される。また、CAPs 曝露群の心拍数が除粒子対照群の心拍数に比べて多かったため、QRS 持続時間もそれに伴い CAPs 曝露群で短縮していたものと思われる。4 時間曝露及び 3 日間曝露のいずれもキニジンの 2 回目、3 回目の投与によって、CAPs 曝露群では QRS 持続時間がより延長する傾向が示されたものの、有意差ではなかった。なお、この第 4 回曝露実験における統計解析以外の通常の時系列解析では、キニジン投与前後の QRS 持続時間の延長度 (%) は CAPs 曝露群が除粒子対照群にくらべて大きい傾向が 4 時間曝露及び 3 日間曝露のいずれにおいても観察されたことから、第 4 回目の曝露実験では、CAPs 曝露に伴う何らかの心機能影響があった可能性が推測される。しかしながら、第 2～6 回曝露実験を通しての CAPs 濃度及び他の成分濃度との間に何ら一定した傾向が見られなかったことから、CAPs 曝露が QRS 持続時間に与える影響の有無に関しては明瞭でない。

(5. 4. 3) QT 間隔

第 4 回曝露実験では、4 時間曝露、3 日間曝露のいずれもキニジンの投与によって CAPs 曝露群が除粒子対照群にくらべてやや QT 間隔が延長する傾向を示した。この統計解析以外の通常の時系列解析では、キニジン投与前に対する QT 間隔の延長度 (%) が CAPs 曝露群では除粒子対照群にくらべて高いことが示されている。3 日間曝露のプール解析では、3 回目のキニジン投与の直前まで生体影響指標の差 (CAPs 曝露群－除粒子対照群) が負を示したが、これは CAPs 曝露群が除粒子対照群にくらべて全体的に心拍数が多いことと関連していると思われる。第 2～6 回曝露実験は、全体として QT 間隔と CAPs 濃度及び他の成分との間に明瞭な関係はみられないが、強いて述べるならば 3 日間曝露の t3 の QT 間隔が CAPs 濃度の増加に伴い、CAPs 曝露群で軽微に短縮する傾向があること、また t13 で SO_4^{2-} の増加に伴って、同様に CAPs 曝露群で短縮する傾向がみられた。

(5. 4. 4) QTc

3 日間曝露実験の QTc は 3 回目キニジン投与後 (キニジン投与後 0～10 分目) で CAPs 曝露群が除粒子対照群にくらべて短いことを示している。モルモットの QTc 算出法は今回用いた Bazett の補正式が比較的感度よく、QT 間隔の変化を反映していることが過去の実験で明らかになっている。したがって、3 日間曝露におけるキニジン投与後 0～10 分目の CAPs 曝露群の QT 間隔は、単に心拍数の多さだけを反映しているものではない可能性もある。3 日間曝露実験では、キニジン投与によって QTc が正方向に変化することから、CAPs 曝露群が CAPs 除粒子対照群にくらべて、より QT 間隔をやや延長させる傾向があるものと思われる。しかしながら、この延長傾向は CAPs 濃度及び他の成分濃度との相関性が認められていないことから、CAPs 曝露による影響か否かは不明である。

(5. 4. 5) 麻酔の影響に関する考察

今回、薬物投与による心電図波形変化を詳細に観察する目的のため、観察は全身麻酔下で行った。

麻酔薬は自律神経系への影響がもっとも小さいとされるウレタンを用いて行った。ウレタン麻酔はほとんどの動物種において循環調節反射や気道反射などに深刻な影響をもたらさないことが知られており、我々もこれまでこの麻酔薬の使用下で自律神経系の電氣的活動や圧反射などの生理的現象などを数多く記録、観察してきたが、特に問題を感じたことはなかった。もし、CAPs に本質的な心機能影響が存在するならば、おそらくウレタン麻酔下においても何らかの変化が観察されるはずと考えられる。

(5. 4. 6) キニジンによる不整脈誘発の持続性

キニジンの薬物学的半減期はヒトでは経口投与で約7時間とされる。モルモットの静脈内投与による半減期は不明であるが、我々が過去にミニブタやウサギで行った実験では約半日にわたってQT 間隔に影響を及ぼしたことから、今回の実験においても心電図観察時間(20分)の血中濃度は高いままに維持されていると思われる。心電図変化はいずれもキニジンの投与直後にもっとも明瞭であったことから、心筋細胞の反応性としてはキニジン投与直後がもっとも高いものと思われる。今回の研究では、CAPs 曝露の後にキニジンを投与して心電図変化の程度を比較したものであり、キニジンの血中濃度の時間的推移はほとんど問題にならないと思われる。

(5. 4. 7) 全体考察

疫学的研究によって、ヒトの心室性不整脈及び上室性不整脈の誘発性が発作前の数日間の大気汚染状況と深い関連性があることが明らかになっている[1,2]。我々の過去の研究では、DEP は酸化反応によってラット心筋細胞の生存性を低下させることがわかっており[3]、CAPs においても高濃度の場合は心筋細胞に対してこのような直接的な酸化ストレスを与える可能性も否定できない。実験的心筋梗塞ラットでは、PM_{2.5} の気管内投与によって、対照ラットに比べてより明瞭な心拍数の減少と心室性不整脈が誘発されることが知られている[4]。第1期に実施した気管内投与実験(【2】(5)参照)においては、ドキシソルピシン及びイソプロテレノールによる心不全ラットではPM_{2.5} の気管内投与による特異的な心電図変化は認められなかったが、上記の冠動脈閉塞による心筋梗塞モデルでは、虚血による傷害領域と正常心筋領域との間で興奮性のアンバランスが生じており、このことが気道刺激時の自律神経系興奮などが引き金となって心室性不整脈をもたらすことが推測される。今後、不整脈を対象にした実験を行う際は、心筋の不均一性を多く持った動物を使用することが望まれる。

(5. 5) 結論

第2回、3回、4回及び6回の曝露実験でみるかぎり、キニジン投与による影響は、CAPs 曝露群が除粒子対照群に比べて、わずかではあるが心臓の興奮性と再分極過程を抑制する傾向があるように見える。また、CAPs 曝露自体は曝露直後の麻酔下の多くの個体(モルモット)で心拍数を上げる方向に作用する可能性が考えられる。

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

引用文献

- 1 Sarnat SE, Suh HH, Coull BA, Schwartz J, Stone PH, Gold DR. Ambient particulate air pollution and cardiac arrhythmia in a panel of older adults in Steubenville, Ohio. *Occup Environ Med.* 2006; 63:700-706.
- 2 Berger A, Zareba W, Schneider A, Ruckerl R, Ibalid-Mullia A, Cyrus J, Wichmann HE, Peters A. Runs of ventricular and supraventricular tachycardia triggered by air pollution in patients with coronary heart disease. *J Occup Environ Med* 2006; 48:1149-1158.

- 3 Okayama Y, Kuwahara M, Suzuki AK, Tsubone H. Role of reactive oxygen species on diesel exhaust particle-induced cytotoxicity in rat cardiac myocytes. *J Toxicol Environ Health Part A*. 2006; 69:1699-1710.
- 4 Kang YJ, Li Y, Zhou Z, Roberts AM, Cai L, Myers SR, Wang L, Schuchke DA. Elevation of serum endothelins and cardiotoxicity induced by particulate matter (PM_{2.5}) in rats with acute myocardial infarction. *Cardiovasc Toxicol*. 2002; 2:253-261.

表 3.5.3-1 CAPs 曝露濃度 (質量濃度及び主要成分濃度)

単位: $\mu\text{g}/\text{m}^3$

年度	月日	質量濃度		炭素濃度		主要イオン成分		
		PM2.5	CAPs	有機炭素	元素状炭素	NO_3^-	SO_4^{2-}	NH_4^+
15	1月24日	34	633	/				
	1月26日	37	524					
	1月27日	60	986					
	1月28日	24	313					
	1月29日	33	569					
	平均	38	605					
16	11月2日	55	2,343	240	210	430	340	220
	11月3日	30	1,733	180	110	140	420	160
	11月4日	27	1,567	190	170	180	280	120
	11月5日	40	1,979	230	230	290	420	190
	12月14日	11	600	170	90	98	110	44
	12月15日	48	2,269	470	260	580	140	170
	12月16日	23	905	200	150	250	170	98
	12月17日	9	574	180	99	35	44	13
	平均	30	1,496	233	165	250	241	127
17	11月21日	25	1,038	180	110	240	150	120
	11月22日	37	2,117	320	160	730	220	280
	11月23日	9	1,790	230	91	560	260	250
	11月24日	64	4,103	500	240	1600	430	650
	平均	34	2,262	308	150	783	265	325
18	5月22日	31	802	180	68	22	190	70
	5月23日	25	645	130	56	40	120	41
	5月24日	31	1,808	280	120	380	350	230
	5月25日	18	855	190	81	200	140	110
	11月13日	15	384	(63)	67	60	56	32
	11月14日	14	652	(86)	27	19	170	51
	11月15日	6	—	—	—	—	—	—
	11月16日	16	614	(63)	48	120	130	75
	平均	20	823	195	67	120	165	87
4年間平均		29	1,242	239	123	305	215	151

※: 定量下限値未満は()表示、検出下限値未満は<表示。なお、これらの数値は平均値算出に含めない。
—: 欠測

表 3.5.3-2 CAPs 曝露実験時の運転状況

年度	月日	CAPs曝露時間		運転状況
平成15年度	1月24日	10:30~14:30	4:00	連続
	1月26日	10:00~14:00	4:00	流量調整2回
	1月27日	10:00~14:00	4:00	流量調整5回
	1月28日	10:00~14:00	4:00	流量調整6回
	1月29日	10:00~14:00	4:00	流量調整7回
平成16年度	11月2日	11:05~15:30	2:11	メンテ2回
	11月3日	10:30~13:30	4:25	メンテ1回
	11月4日	10:30~15:30	5:00	連続
	11月5日	10:55~15:00	4:05	連続
	12月14日	11:15~15:15	4:00	連続
	12月15日	10:30~14:30	4:00	連続
	12月16日	10:30~14:30	4:00	連続
	12月17日	11:10~15:10	4:00	連続
平成17年度	11月21日	11:05~15:05	4:00	流量調整3回
	11月22日	9:05~13:05	4:00	流量調整1回
	11月23日	9:20~13:20	4:00	流量調整1回
	11月24日	10:37~15:05	4:00	メンテ1回、流量調整3回
平成18年度	5月22日	11:15~15:15	4:00	連続
	5月23日	9:00~13:00	4:00	連続
	5月24日	9:00~13:00	4:00	流量調整1回
	5月25日	9:00~13:00	4:00	流量調整1回
	11月13日	11:00~15:00	4:00	連続
	11月14日	10:00~14:00	4:00	連続、測定データ管理用PC故障
	11月15日	10:00~14:00	4:00	連続
	11月16日	11:10~15:10	4:00	連続