

光化学オキシダントの短期曝露による循環器系への影響、代謝系への影響、  
神経系への影響、遺伝子障害性に関する定量評価に資する信頼できる  
人志願者実験知見の抄録集（案）

1. 循環器系への影響

Superko *et al.* (1984) は冠動脈性心疾患患者に対する O<sub>3</sub> 曝露の影響について調査を行った。被験者は 46～64 歳の、症状が限定された冠動脈性心疾患の男性患者 6 人であり、呼吸機能からは運動に制限はなく、3 ヶ月以上、定期的にリハビリに参加していた。被験者のうち 4 人は過去喫煙者だが実験までの 2～10 年間は喫煙していなかった。曝露時間は 40 分であり、3 日以上の間隔を空けて、ろ過空気、0.20 ppm O<sub>3</sub>、0.30 ppm O<sub>3</sub> の曝露を二重盲検クロスオーバーで無作為な順に実施した。曝露中、被験者のリハビリにおける通常の運動処方を模擬したトレッドミルによる運動を行った。最初の 10～15 分は徐々に負荷が増加するウォームアップとし、その後、症候限界よりわずかに低い負荷で 25～30 分の運動を行った。曝露前後に呼吸機能（RV、FVC、FEV<sub>1.0</sub>、FEF<sub>25-75%</sub>）の測定を行い、曝露中に分時換気量、呼吸数、 $\dot{V}O_2$ 、心拍数、収縮期血圧、心電図を記録した。また、運動中の RPE、運動時呼吸困難、狭心痛についても記録した。比較のため、平均年齢 48.0（SD：3.2）歳の健常者 6 人（喫煙状況、性別について記載なし）に、分時換気量 35 L/min の自転車エルゴメーターによる運動下でろ過空気、0.20 ppm O<sub>3</sub>、0.30 ppm O<sub>3</sub> を各 1 時間、曝露した。

呼吸機能については、O<sub>3</sub> 曝露による反応は顕著ではなく、健常者と患者との間に差はなかった。患者の分時換気量、呼吸数、 $\dot{V}O_2$ 、心拍数、収縮期血圧、心拍数と収縮期血圧の積である二重積のいずれも顕著な反応はなかった。症状についても狭心痛の出現や心電図に現れる虚血性変化に、O<sub>3</sub> 濃度依存性はみられなかった。したがって、冠動脈性心疾患患者において O<sub>3</sub> 曝露による心血管系の異常、呼吸機能低下や運動による呼吸パターンの変化はみられなかった。これは O<sub>3</sub> の急性毒性が吸入総量と関連しており、患者においては長時間の運動に耐えられず O<sub>3</sub> 吸入総量が少なかったため影響が現れなかった可能性がある。

Vender *et al.* (1994) は、O<sub>3</sub> 曝露は、赤血球膜機能を変化させ、酸化物質－抗酸化物質の恒常性を乱すことから、赤血球抗酸化能が、O<sub>3</sub> 曝露によって起こる呼吸器障害の範囲と重症度の機能的マーカーとなり得るとの仮説を検討した。健康な成人の男性 7 人を対象として、清浄空気又は O<sub>3</sub> を 2 週間の間隔を空け曝露した。曝露時間は 7.5 時間であり、O<sub>3</sub> の曝露濃度は 0.16 ppm とした。曝露中に 25 分の自転車エルゴメーターを使用した運動（平均 45W の強度）と、25 分のトレッドミルを使用した運動（平均 2.8mph、1%grade）で構成された 50 分間の運動を 7 回行った。曝露の前後に赤血球抗酸化能の指標であるグルタチオン（GSH）濃度、赤血球カタラーゼ（CAT）活性を測定した。2 週間間隔で行った清浄空気曝露及び O<sub>3</sub>

曝露の曝露前のベースラインの変動の平均 (SEM) は、GSH で 8.2 (2.0) %、CAT で 14.3 (3.9) %であり、各被験者で差はなかった。清浄空気曝露及び O<sub>3</sub> 曝露の両方において、曝露前後で GSH、CAT の平均値に違いはみられなかった。

Drechsler-Parks (1995a) は、56~85 歳の健康な非喫煙者 8 人 (男性 6 人、女性 2 人) を対象として、ろ過空気、NO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub> に 2 時間の曝露を行った。ろ過空気曝露、NO<sub>2</sub> 0.60ppm 曝露、O<sub>3</sub> 0.45ppm 曝露、NO<sub>2</sub> 0.60ppm+O<sub>3</sub> 0.45ppm 曝露の 4 種類の曝露を設定し、クロスオーバー試験により 1 週間以上の間隔を空け、無作為な順に曝露を行ったが、対象者中、4 種の曝露を完了できた者は 6 人、3 種を完了できた者は 1 人、2 種を完了できた者は 1 人であった。曝露中、20 分間の運動と 20 分間の休憩を繰り返す間欠運動を行った。各被験者の運動は、年齢を考慮し、各自が自転車エルゴメーターあるいはトレッドミルのいずれかを選択し、分時換気量が 25 L/min になるレベルに統一した。目標分時換気量が達成されているかを運動中最後の 5 分間に確認し、分時換気量の平均は 26.4~29.4 L/min であった。曝露中、心電図、心拍数を記録した。曝露前の安静時、また各運動の最後 2 分間に、心拍出量、1 回拍出量、心収縮時間 (STI) を測定した。 $\dot{V}_E$  (分時換気量)、心拍数、呼吸数、心拍出量、1 回拍出量から影響を検討した。運動時の NO<sub>2</sub> 曝露とろ過空気曝露間の比較では、 $\dot{V}_E$  に差がみられたが、生理学的に意味のある差ではなかった。また、心拍数と呼吸数あるいは  $\dot{V}O_2$  も、各曝露間で差はなかった。曝露前の安静時の心拍出量は 4 群で差異がなかったが、運動時では、運動に伴って起こる心拍出量の増加の程度が、NO<sub>2</sub> + O<sub>3</sub> 曝露がろ過空気曝露、O<sub>3</sub> 曝露と比較して低かった。

Gong *et al.* (1998b) は、42~78 歳の本態性高血圧患者 10 人と 40~49 歳の健康者 6 人の男性で、2 年以上の禁煙者を対象として曝露濃度を制御した人志願者実験を実施した。被験者には、右心と橈骨動脈にカテーテルを挿入した。高血圧群と、対照群 (健康者) に対して、1 日目にろ過空気を曝露し、2 日目に O<sub>3</sub> を曝露した。O<sub>3</sub> 濃度は 0.3 ppm であり、曝露時間を 3 時間とした。曝露中に自転車エルゴメーターを用いて間欠運動 (運動 15 分間、休憩 15 分間) を行い、目標とする分時換気量を 30~40 L/min とした。曝露前、曝露中最初と最後の運動・休憩時と、曝露後 30~60 分以内に、収縮期血圧、拡張期血圧、動脈圧、肺動脈圧、肺動脈楔入圧、心拍数、心係数、二重積 (心拍数と収縮期血圧の積) を測定した。また、曝露直前と直後、O<sub>3</sub> 曝露翌日に血液を採取し、血清中の心筋酵素 (LDH、クレアチンキナーゼ、トロポニン T)、ホルモン (ノルアドレナリン、アドレナリン、心房性ナトリウム利尿ペプチド) を測定した。呼吸機能については、FVC、FEV<sub>1</sub>、を曝露前、曝露中 1 時間毎、曝露終了後、O<sub>3</sub> 曝露翌日に測定した。また、 $\dot{V}_E$  を曝露中、SaO<sub>2</sub>、肺泡気動脈血酸素分圧較差を曝露前、曝露終了後に測定した。さらに、呼吸器及び循環器に関する自覚症状を曝露前、曝露中 30 分毎、曝露終了後、O<sub>3</sub> 曝露翌日に観察した。実験の結果、ろ過空気曝露に対し、O<sub>3</sub> 曝露では、心係数、心室機能、肺動脈圧、肺・全身血管抵抗、心電図、心筋酵素、ノルア

ドレナリン、アドレナリン、心房性ナトリウム利尿ペプチド、 $\text{SaO}_2$  に変化はみられなかった。高血圧群や対照群で、 $\text{O}_3$  曝露による心血管系に対する急性影響は示唆されなかった。しかし、曝露前と比較して  $\text{O}_3$  曝露後に心拍数や二重積の増加がみられ、かつ高血圧群と対照群で、どちらも同様の反応を示した。曝露による心筋障害を評価できる心筋酵素に変化はなかった。アドレナリンは、 $\text{O}_3$  曝露により減少し、心拍数との一貫した反応を示さなかったが、これはカテーテル挿入によるベースライン値の増加が一要因となっている可能性があった。呼吸状態の変化に関しては、 $\text{O}_3$  曝露により、FVC 及び  $\text{FEV}_1$  の減少だけでなく、肺胞気動脈血酸素分圧較差の増加も観察された。この反応も、高血圧患者と健康者による違いはみられなかった。 $\text{O}_3$  曝露により呼吸に関する自覚症状が現れたが、循環器に関するものはほとんどみられなかった。

Brook *et al.* (2009)は、 $\text{PM}_{2.5}$  と  $\text{O}_3$  への複合曝露が血管機能の低下、拡張期血圧上昇を引き起こすメカニズムとその原因汚染物質を特定するため、カナダのオンタリオ州 Toronto 及び米国のミシガン州 Ann Arbor の 2 地点で計 2 つの実験を行った。

Toronto の被験者は 31 人（男性 16 人、女性 15 人）、Ann Arbor の被験者は 50 人（男性 19 人、女性 31 人）であり、いずれも 18～50 歳の健康な非喫煙者を対象とした。Toronto の実験では、二重盲検クロスオーバー試験により、被験者全員が CAPs ( $\text{PM}_{2.5}$   $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) +  $\text{O}_3$  (0.120 ppm)、CAPs ( $\text{PM}_{2.5}$   $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) 単独、 $\text{O}_3$  (0.120 ppm) 単独、及びろ過空気の曝露を 2 時間受けた。曝露の間は 2 週間以上の間隔を空けた。CAPs は 2-stage Harvard virtual impactor system により  $\text{PM}_{2.5}$  を濃縮したもので、いずれも曝露は着席安静の上、フェイスマスクにより実施した。曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①ろ過空気曝露  $\text{PM}_{2.5}$ : 1.3 (8.0)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.0109 (0.0072) ppm、②CAPs 曝露  $\text{PM}_{2.5}$ : 148.5 (54.4)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.0097 (0.0061) ppm、③ $\text{O}_3$  曝露  $\text{PM}_{2.5}$ : 2.8 (11.7)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.1113 (0.0065) ppm、④CAPs+ $\text{O}_3$  曝露  $\text{PM}_{2.5}$ : 132.4 (38.7)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.1090 (0.0056) ppm であった。

Ann Arbor の実験では、二重盲検クロスオーバー試験により、被験者全員がエンドセリン拮抗薬（ボセンタン 250 mg）、抗酸化剤（ビタミン C 2000 mg）、又はプラセボを事前に服用した後、CAPs ( $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) +  $\text{O}_3$  (0.120 ppm) の複合曝露を 2 時間受けた。曝露の間は 2～4 週間の間隔を空けた。CAPs は 3-stage Harvard virtual impactor system により  $\text{PM}_{2.5}$  を濃縮した。いずれも曝露は着席安静の上、フェイスマスクにより実施した。曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①プラセボ投与  $\text{PM}_{2.5}$ : 126.9 (55.0)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.1220 (0.0028) ppm、②ボセンタン投与  $\text{PM}_{2.5}$ : 142.6 (51.6)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.1223 (0.0023) ppm、③ビタミン C 投与  $\text{PM}_{2.5}$ : 133.2 (48.7)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、 $\text{O}_3$ : 0.1225 (0.0055) ppm であった。

Toronto、Ann Arbor とも、曝露前、曝露中（30 分間隔）、曝露終了直後に血圧、心拍数を測定し、曝露前、曝露終了直後、曝露翌日（24 時間後）に、上腕動脈血管径（BAD）、血流依存性血管拡張反応（FMD）、ニトログリセリン誘発性血管拡張反応（NMD）、血液中バイオマーカー（エンドセリン-1、サイトカイン、血液細胞数、高感度 CRP）を測定した。また、

Toronto では、曝露前、曝露終了直後に HRV (LF、HF、LF/HF、SDNN、rMSSD、心拍数) を、Ann Arbor では、曝露前、曝露終了直後、曝露翌日 (24 時間後) に、動脈コンプライアンスをそれぞれ測定した。

Toronto では、CAPs、CAPs+O<sub>3</sub> でのみ、拡張期血圧が曝露時間に対し線形に上昇した (2 時間曝露後の血圧上昇は、開始時に対し+2.9 mm Hg 及び+3.6 mm Hg)。線形混合モデルによる解析の結果、拡張期血圧の上昇の傾きは、いくつかの HRV 指標の低下、実験中の PM<sub>2.5</sub> 積算曝露量と関連を示した。ろ過空気曝露、O<sub>3</sub> 曝露では拡張期血圧の曝露中の変化の傾きは 0 から統計的に有意ではなかった。O<sub>3</sub> 曝露は血圧の変化とも HRV の変動とも関連がみられなかった。その他、内皮機能の指標として用いた FMD が CAPs、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の 24 時間後でのみ減少し (-2.0% 及び -2.9%)、曝露 PM<sub>2.5</sub> 濃度及び TNF- $\alpha$  の増加と関連がみられた。血液中バイオマーカーについては、白血球数、好中球数のみが CAPs、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の直後で増加し、他のバイオマーカーについては曝露前後で差はほぼみられなかった。

Ann Arbor では、事前投与薬の種類によらず、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露で拡張期血圧が上昇した (2.5 ~ 4.0 mm Hg)。一方、BAD、動脈コンプライアンス、FMD、NMD はいずれの曝露においても変化がみられなかった。

2 つの実験の結果、大気汚染による血圧上昇を引き起こす原因物質は、O<sub>3</sub> ではなく PM<sub>2.5</sub> であり、その影響時間も曝露中のみの一過性のものであることが示された。また、O<sub>3</sub> は PM<sub>2.5</sub> によって誘発された影響を増大させなかった。

Fakhri *et al.* (2009) は、19~48 歳の健康者と喘息患者計 50 人 (男性 24 人、女性 26 人、そのうち軽症喘息患者 10 人) を対象に O<sub>3</sub> と PM<sub>2.5</sub> を曝露する実験を行った。被験者は全員が非喫煙者である。喘息の有無は医師により診断され、メサコリン負荷試験により確認した。喘息患者は、午前 0 時以降、いかなる短時間作用性気管支拡張薬も使用せず、すべての試験の 1 ヶ月以上前からコルチコステロイド薬による治療を中止していた。すべての被験者が、ろ過空気、CAPs、O<sub>3</sub>、CAPs+O<sub>3</sub> の 4 種類の曝露を単盲検クロスオーバー試験により、無作為な順に受けた。曝露の間隔は 2 週間以上空けた。時刻による生理的な変化の影響を避けるため、4 回の曝露を同一時刻に実施した。曝露は着席安静の上、フェイスマスクにより実施した。CAPs は Harvard virtual impactor により、カナダのオンタリオ州 Toronto の実験室外部の PM<sub>2.5</sub> を濃縮した。曝露濃度は PM<sub>2.5</sub> 150  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (実測値の平均 (SD) 121.6 (48.0)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )、O<sub>3</sub> 0.120 ppm (実測値の平均 (SD) 0.1139 (0.0066) ppm) であった。HRV を実験期間中に継続的に測定した。曝露開始前と終了時、終了後 25~30 分、55~60 分、85~90 分、115~120 分に収縮期血圧と拡張期血圧を測定した。曝露開始時から終了時の HRV の変化 ( $\Delta$ 5 分平均心拍数、 $\Delta$ SDNN、 $\Delta$ rMSSD、 $\Delta$ pNN50、 $\Delta$ LF、 $\Delta$ HF、 $\Delta$ LF/HF) と血圧の変化 ( $\Delta$  収縮期血圧、 $\Delta$  拡張期血圧、 $\Delta$  平均血圧 (拡張期血圧と収縮期血圧の 2:1 の加重平均)) を観察し影響を評価した。CAPs や O<sub>3</sub> への曝露は HRV に対して一貫性のある影響を示さなかった。PM<sub>2.5</sub> 濃度と HRV 指標との間の量反応関係は、O<sub>3</sub> の有無により異なるようであり、O<sub>3</sub> の無

い曝露では量反応関係がみられなかったが、O<sub>3</sub>を含む曝露ではPM<sub>2.5</sub>濃度と一部のHRV指標との間に負の関係が示唆された(HF、SDNN、rMSSDについては傾向がみられ、LFとは関連がみられた(p=0.02))。CAPs+O<sub>3</sub>曝露は、曝露前後で拡張期血圧を1.97(1.21;SE)mmHg上昇させた。収縮期血圧、平均血圧については明確な傾向はみられなかった。喘息の有無はHRVや血圧に対する影響を修飾しなかった。CAPs曝露が拡張期血圧に与える影響のO<sub>3</sub>による増強効果及びHRVに与える影響にO<sub>3</sub>が与える増強効果は、若い成人に対しては小さいものであった。

Sivagangabalan *et al.* (2011)は、CAPs曝露、O<sub>3</sub>曝露、CAPs+O<sub>3</sub>曝露が心室再分極相のばらつきを促進する可能性について調査した。被験者は、18~50歳の健康な非喫煙者25人(男性11人、女性14人)であり、心血管疾病歴及びリスクファクターがなく、薬物の処方もない者で、高コレステロール(>240mg/dl)、高血糖(>126mg/dl)、低血圧(安静時<100/50mmHg)、高血圧(安静時>140/90mmHg)、気道疾患(COPDや喘息)、妊娠中や授乳中の者は除いた。①ろ過空気曝露、②CAPs曝露、③O<sub>3</sub>曝露、④CAPs+O<sub>3</sub>曝露の4つの試験を、クロスオーバー法により、順番は無作為に最低2週間の間隔を空けて行った。CAPsはhigh flow(1,100L/min) 2-stage virtual impactor systemを用い、カナダのオンタリオ州Torontoにある実験室外部のPM<sub>2.5</sub>を濃縮した。被験者は安静な状態で、フェイスマスクにより2時間の曝露を受けた。曝露濃度はPM<sub>2.5</sub>150µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>0.120ppmであり、曝露時の実測濃度の平均値(SD)は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>:2(7)µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>:0.011(0.008)ppm、②CAPs曝露 PM<sub>2.5</sub>:154(54)µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>:0.010(0.006)ppm、③O<sub>3</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>:4(10)µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>:0.109(0.006)ppm、④CAPs+O<sub>3</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>:147(86)µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>:0.108(0.005)ppmであった。曝露中、12誘導心電図をとり、30分間隔で血圧と分時換気量を測定した。空間的再分極相のばらつきへの影響の指標として、T波頂点から終末点までの間隔(Tp-e。心拍による補正をしたcTp-eを評価に使用)、最大QT間隔と最小QT間隔の差であるQTディスペーション(QTd)を用いた。cTp-e、QTd、HRV(HF、LF、LF/HF)について、曝露終了前5分間平均-曝露開始後5分間平均(Δ)を計算し、曝露による変化を評価した。ΔcTp-eはCAPs+O<sub>3</sub>曝露でのみ増加し(p<0.0001)、ろ過空気曝露での変動を考慮しても増加していた(p=0.013)。ΔQTdもCAPs+O<sub>3</sub>曝露でろ過空気曝露に対し増加し(p=0.0002)、また、CAPs曝露でもろ過空気曝露に対し増加していた(p=0.008)。CAPs曝露により、拡張期血圧は上昇したが、収縮期血圧は上昇しなかった。HRV及び血圧を考慮した分析の結果、CAPs+O<sub>3</sub>曝露は、心室再分極相のばらつきを変動させ、交感神経の促進と副交感神経の抑制による心拍数の調整が一部関与している可能性が示唆された。

Tank *et al.* (2011)は、O<sub>3</sub>曝露による気道炎症が筋交感神経活動に及ぼす影響を調査するため、健康者にO<sub>3</sub>を曝露する実験を行った。対象者は22~47歳の健康者14人(男性11人、女性3人)であり、FEV<sub>1</sub>>80%かつ事前のスクリーニング試験において3時間の0.250ppm

O<sub>3</sub>曝露により曝露開始から6時間後に痰中好中球が10%以上増加する人とした。被験者は、二重盲検クロスオーバー試験により、3時間、清浄空気あるいは0.250 ppm O<sub>3</sub>の曝露を受けた。曝露中、自転車エルゴメーターによる15分間の運動と15分間の休憩を繰り返し、分時換気量が20 l/min/m<sup>2</sup>となる間欠運動を行った。曝露開始から6時間後に痰、5、7、24時間後に血液をそれぞれ採取し、3、6、24時間後に呼吸機能検査を行った。また、曝露終了から19~22時間後には、安静時、深呼吸時、最大吸気息止め時、バルサルバ手技時の心電図、指血圧、上腕血圧、呼吸、心拍出量、筋交感神経活動(MSNA)を記録し、採血(ノルアドレナリン、アドレナリン濃度)を行った。O<sub>3</sub>曝露により、痰中の好中球数の増加がみられ、好中球による気道炎症が示された。FEV<sub>1</sub>及びFVCは、実験チャンバー退出直後の測定では低下したが、曝露開始24時間後には影響はみられなかった。全身性炎症の兆候についても同様に、O<sub>3</sub>曝露開始5時間後の血中好中球数の増加がみられた。一方、循環器系の指標の平均値(SEM)については、安静時心拍数(清浄空気曝露:59(2) bpm、O<sub>3</sub>曝露:60(2) bpm)、収縮期血圧(清浄空気曝露:121(3) mmHg、O<sub>3</sub>曝露:121(2) mmHg)、拡張期血圧(清浄空気曝露:71(2) mmHg、O<sub>3</sub>曝露:71(2) mmHg)、心拍出量(清浄空気曝露:7.42(0.29) L/min、O<sub>3</sub>曝露:7.98(0.60) L/min)、血漿ノルアドレナリン濃度(清浄空気曝露:213(21) pg/ml、O<sub>3</sub>曝露:202(16) pg/ml)及び血漿アドレナリン濃度(清浄空気曝露:23(3) pg/ml、O<sub>3</sub>曝露:23(3) pg/ml)は、清浄空気曝露とO<sub>3</sub>曝露で同程度であり、いずれも期間調整後もO<sub>3</sub>曝露による影響はみられなかった。安静時及び深呼吸時のHRV(TP、LF、HF、LF/HF)、血圧変動(LF-SBP)、圧受容体反射の指標についても、清浄空気曝露とO<sub>3</sub>曝露で同程度であり、いずれも期間調整後もO<sub>3</sub>曝露による影響はみられなかった。また、筋交感神経活動についてもO<sub>3</sub>曝露による影響はみられなかった。

Devlin *et al.* (2012)は、19~33歳の健康な非喫煙者23人(ただし1人は1998年にシガレットのバック半分を喫煙した経験があった)を対象にO<sub>3</sub>を曝露する実験を行った。被験者は男性20人、女性3人で、人種別の人数は白人21人、ヒスパニック1人、黒人1人で、平均年齢は28.8歳であった。全被験者は2週間以上の期間を空けて清浄空気とO<sub>3</sub>それぞれ1回ずつ、計2回の曝露を受けた。1回につき2時間、曝露濃度は0.3 ppmで曝露を行い、自転車エルゴメーターを用いて15分間の運動と15分間の休憩を繰り返して行った。体表面積あたりの換気量は25 L/min/m<sup>2</sup>であった。曝露の直前、曝露終了1時間後、曝露終了18時間後に静脈血を採取した。ホルター心電計による継続的なモニタリングは曝露直前から24時間行った。呼吸機能測定は曝露直前と曝露終了直後に行った。曝露終了18時間後にはBAL採取を伴う気管支鏡検査を行った。FVC、FEV<sub>1</sub>、BALFの好中球の割合、静脈血中の白血球数、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 、好中球の割合、CRP、血中脂質、D-ダイマー、vWF、t-PA、PAI-1、プラスミノゲン、心電図、QT間隔から影響を評価した。O<sub>3</sub>曝露により血中のIL-1 $\beta$ が55.7%(曝露終了1時間後 95%CI: -5.1, 152.9; 曝露終了24時間後は103.8%増加 95%CI: 32.5, 213.9)、IL-8が85.3%(曝露終了1時間後 95%CI: 44.1, 138.5)、CRPが65.4%(曝露終了24

時間後 95%CI: 8.1, 152.9)、TNF- $\alpha$  が 10.1% (曝露終了 1 時間後 95%CI: -0.75, 22.1)、t-PA が 44.2% (曝露終了 1 時間後 95%CI: -1.7, 63.1) 増加した。また、プラスミノゲンが-41.5% (曝露終了 24 時間後 95%CI: -67.1, -16.0)、PAI-1 が-32.8% (曝露終了 1 時間後 95%CI: -53.8, -2.4; 曝露終了 24 時間後は -42.7%減少 95%CI: -65.5, -5.1) 減少した。D-ダイマー、vWF には影響はみられなかった。また、曝露終了 1 時間後の HRV の HF (高周波成分) は-51.2%減少 (95%CI: -69.2, -23.7)、QT 間隔は 1.2%延長 (95%CI: 0.40, 2.0)、QRS 波の複雑性は-5.8%減少 (95%CI: -10.5, -1.0) した。曝露終了直後の FEV<sub>1</sub> の低下 (-10.9%; 95%CI: -6.5, -15.2) と曝露終了 24 時間後の BALF の好中球割合の増加 (7.5%; 95%CI: 3.7, 15.3) もみられた。本実験により、O<sub>3</sub> 曝露は血管の炎症マーカーを増加させること、線維素溶解系マーカー、心拍数と再分極を制御する自律神経系に影響を及ぼすマーカーを変化させることを示唆した。これらの知見は疫学研究でみられた死亡率の増加という結果に生物学的な妥当性を与える。

Kusha *et al.* (2012)は、CAPs と O<sub>3</sub>への曝露が健康な人の T 波交互脈 (T-wave alternans; TWA) に与える影響を調査する実験を行った。1 拍ごとの T 波の形態と振幅の変化を示す TWA は、心室性不整脈の高リスクとも関連する。被験者は 18~38 歳 (平均 23.7 歳) の健康者 17 人 (女性 9 人、男性 8 人) である。コレステロール >240 mg/dl、グルコース >126 mg/dl、低血圧 (安静時血圧 <100/50 mm Hg)、高血圧 (安静時血圧 >140/90 mmHg)、妊婦、授乳中の者は被験者から除外した。クロスオーバー試験により、全被験者がろ過空気曝露、CAPs 曝露、O<sub>3</sub> 曝露、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の 4 種類の曝露を各曝露の間を 2 週間以上空けランダムな順に受けた。曝露時間は各 2 時間で被験者は安静状態でフェイスマスクにより曝露を受けた。CAPs は high-flow PM<sub>2.5</sub> impactor (1,100 L/min) によりカナダのオンタリオ州 Toronto にある実験室の外部から PM<sub>2.5</sub> を濃縮した。CAPs (PM<sub>2.5</sub>) の濃度は 150  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub> の濃度は 0.120 ppm であり、曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>: 2 (7)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub>: 0.011 (0.008) ppm、②CAPs 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 154 (54)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub>: 0.010 (0.006) ppm、③O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 4 (10)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub>: 0.109 (0.006) ppm、④CAPs+O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 147 (86)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub>: 0.108 (0.005) ppm であった。心電図は曝露中に連続測定し、血圧と心拍を曝露前、曝露中は 30 分間隔で、そして曝露終了直後に測定した。安静状態で心電図を測定し TWA を算出した。曝露開始後 5 分間と終了前 5 分間において、曝露がもたらす TWAMax の変化を推定し、その差を  $\Delta\text{TWAMax}$  として算出し評価に用いた。TWAMax とは、ST 部分の開始点である J 点から T 波の終わりまでの奇数拍平均複合体と偶数拍平均複合体の大きさの差の最大値である。ろ過空気曝露、CAPs 曝露、O<sub>3</sub> 曝露、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露、それぞれの  $\Delta\text{TWAMax}$  の平均値 (SD) は、-2.1 (0.4)、-2.7 (1.1)、-1.9 (1.5)、-1.2 (1.5) であった。ろ過空気曝露と CAPs 曝露、O<sub>3</sub> 曝露、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の間に差はみられなかった。心血管疾患の既往がない 17 人の被験者を対象とした本研究では、CAPs、O<sub>3</sub>、CAPs+O<sub>3</sub> への 2 時間の安静条件下での曝露では、T 波交互脈への影響はみられなかった。

Barath *et al.* (2013a)は、O<sub>3</sub>への曝露が血管機能、線溶、及び心臓の自律的調節機能に及ぼす影響を調査する実験を行った。被験者は、21~31歳（平均26歳）の健康な男性36人であり、いずれも非喫煙者で呼吸機能が正常な者を対象とした。曝露時間は75分間であり、二重盲検クロスオーバー無作為化試験により、全員がろ過空気及び0.300 ppm O<sub>3</sub>への曝露を2週間以上の間隔を空けて受けた。曝露中は、平均換気量が20 L/min/m<sup>2</sup>となるよう、自転車エルゴメーターによる中程度の運動と休憩を15分間隔で繰り返した。曝露終了2~4時間後（n=18）、6~8時間後（n=18）に4種の血管拡張剤（アセチルコリン、ブラジキニン、ニトロプルシドナトリウム、ベラパミル）を別々に3ドース動脈に投与し、薬剤投与前並びに薬剤投与中の前腕血流量（Forearm blood flow; FBF）を静脈閉塞プレチスモグラフィにより測定した。FBFの測定中、血圧及び心拍数も測定した。曝露中から曝露終了24時間後まで、HRV解析（心拍数、SDNN、RMSSD、PNN50、Triangular Ix、HF<sub>n</sub>、LF<sub>n</sub>、HF/LF）を行った他、曝露前、曝露終了2時間後、6時間後に採血を行い、血液中の線溶マーカー（t-PA抗原、PAI-1抗原）や炎症マーカー（TNF- $\alpha$ 、IL-6、CD40 Ligand、可溶性P-セレクトリン、可溶性ICAM-1）、細胞数を調査した。結果、O<sub>3</sub>曝露はろ過空気曝露と比較して、曝露終了2時間又は6時間後の心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧、安静時FBFに影響を与えなかった。血管拡張剤はいずれも投与した腕のFBFを用量依存的に増加させた。曝露終了2~4時間後の投与では、O<sub>3</sub>曝露とろ過空気曝露とで血管拡張剤投与時のFBFに差はみられなかった。曝露終了6~8時間後の投与では、O<sub>3</sub>曝露は、むしろアセチルコリン及びニトロプルシドナトリウム投与時のFBFを増加させ、ブラジキニン、ベラパミル投与時のFBFはろ過空気曝露と差はみられなかった。O<sub>3</sub>曝露、ろ過空気曝露のいずれも、血液中の線溶マーカーや炎症マーカーに影響を与えなかった。O<sub>3</sub>曝露は、曝露中及び曝露終了2時間又は6時間後、曝露終了後24時間のHRVにも影響を与えなかった。

Langrish *et al.* (2014)は健康者と冠動脈疾患者に対するろ過空気と大気汚染物質曝露による13のランダム化二重盲検クロスオーバー研究（実施期間は2004~2013年）から心電図データを取得し、大気汚染物質と不整脈の関連を調査した。O<sub>3</sub>曝露は健康な男性15人（中央値25歳、IQR22~30歳）に対して実施された。クロスオーバー実験は少なくとも7日間隔とし、20°C、湿度50%、間欠運動により平均分時換気量を20 L/min/m<sup>2</sup>に維持し、ろ過空気及び0.300 ppmのO<sub>3</sub>を75分間曝露した。曝露中から曝露後24時間の心電図記録を解析し、不整脈自動解析アルゴリズムと訓練されたオペレータによる確認で不整脈を同定した。不整脈が発生した被験者数及び被験者あたりの不整脈回数について、ろ過空気曝露とO<sub>3</sub>曝露による差はなく、O<sub>3</sub>曝露と不整脈に関連はみられなかった。

Arjomandi *et al.* (2015)は、O<sub>3</sub>への短期曝露が、有害な急性の心血管応答を用量依存的に引き起こすか調査した。被験者は平均31.8（SD:7.6）歳の非喫煙者の健康者16人（男性9人、女性7人）及び軽症喘息患者10人（男性4人、女性6人）の合計26人であるが、本調査で



は心血管系への影響を対象としたため、健康者と軽症喘息患者の結果を合わせて解析した。軽症喘息の診断基準は、医師による喘息診断の自己申告、吸入メサコリンに対する気道過敏性（ベースラインと比較してFEV<sub>1</sub>を20%低下させるメサコリン濃度 $\leq 8.0$  mg/ml）、気管支拡張薬投与前のFEV<sub>1</sub>が正常予測値の70%以上、日常的な喘息症状はなく、夜間症状が月3～4回未満とした。すべての喘息患者は短時間作用性 $\beta_2$ 刺激薬（アルブテロール）を定量噴霧式吸入器で必要に応じ使用していた。更に喘息患者のうち3人は、吸入コルチコステロイド薬と長時間作用性 $\beta_2$ 刺激薬の配合剤（アドエア、シムビコート）を使用していた。抗コリン薬、ムスカリン受容体拮抗薬、ロイコトリエン受容体拮抗薬、全身性ステロイド薬を投与されている喘息患者はいなかった。薬は、それぞれの薬の作用時間に基づき、曝露前に順次使用を中止した（吸入コルチコステロイド薬2週間、抗ヒスタミン薬とロイコトリエン受容体拮抗薬3日、長時間作用性気管支拡張薬2日、短時間作用性気管支拡張薬8時間）。

曝露時間は4時間であり、全員が0 ppm、0.100 ppm及び0.200 ppm O<sub>3</sub>への曝露を順序無作為に3週間の間隔を空けて受けた。曝露中は、30分間の運動と休憩を交互に繰り返す間欠運動をトレッドミルあるいは自転車エルゴメーターで行った。曝露前（0時間）、曝露終了直後（曝露開始から4時間）及び曝露終了20時間後（曝露開始から24時間後）に血圧、心拍測定、HRV測定（LF、HF、LF/HF、SDNN、SDANN、SDNNI、RMSSD）、採血、呼吸機能検査を行い、曝露終了20時間後にBALを伴う気管支鏡検査を実施した。血液は、全身性の炎症系マーカー（CRP、IL-6、IL-8等）と線溶・凝固系バイオマーカー（フィブリノゲン、PAI-1、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間、血小板）、血管容量の制御機能（アンジオテンシン変換酵素）、BALFは気道の炎症マーカー（白血球、IL-6、IL-8等）を調査した。

O<sub>3</sub>曝露の結果、用量依存的な、呼吸機能の低下、気道の損傷（BALF中タンパク質の増加）及び炎症反応（BALF中好中球、好酸球の数及び割合、IL-6、IL-8の増加）がみられた。O<sub>3</sub>曝露による用量依存的な好酸球数の増加は、被験者の喘息やアトピーの有無について調整した後もみられた。また、直線回帰分析の結果、曝露終了20時間後の血清中CRPはO<sub>3</sub>曝露に対し、用量依存的に増加していた（ $p=0.01$ ）。HRVについて直線回帰分析を行った結果、O<sub>3</sub>曝露濃度と曝露終了直後、曝露終了20時間後の低周波成分と高周波成分の比率（LF/HF）との間に関係がみられ、O<sub>3</sub>濃度が高くなるにつれLF/HFは上昇した（曝露終了直後 $p=0.02$ 、曝露終了20時間 $p=0.01$ ）。また、O<sub>3</sub>曝露濃度と曝露終了20時間後の高周波成分（HF）の補正值との間にも関連がみられ、O<sub>3</sub>濃度が高くなるにつれHFは減少した。このことから、O<sub>3</sub>曝露は用量依存的に交感神経緊張を増加させることが示唆された。一方、血圧（拡張期血圧、収縮期血圧）、アンジオテンシン変換酵素及び凝固系バイオマーカーについては、O<sub>3</sub>曝露の影響はみられなかった。影響のみられた各エンドポイント間の関係を解析した結果、O<sub>3</sub>による呼吸機能低下やBALF中の炎症系マーカーの増加と血清CRPの増加、HRVの周波数領域指標の変化との間には関連はみられなかった。しかし、HRVとCRPについては、年齢とO<sub>3</sub>濃度を調整後は関連を示した。

Frampton *et al.* (2015)は、O<sub>3</sub>曝露による、肺、全身の血管機能及び心機能の変化が *GSTM1* 欠損型の遺伝子多型により強い影響が生じると仮説を立て、実験を行った。被験者は 18～40 歳の健康な非喫煙者の男女 24 人（男性 15 人、女性 9 人）であり、12 人が *GSTM1* 欠損型であった。二重盲検ランダム化ケースクロスオーバーデザインにより、ろ過空気、O<sub>3</sub> 濃度 0.100 ppm、0.200 ppm の 3 種類の曝露を体表面積当たりの分時換気量 25 L/min/m<sup>2</sup> の間欠運動条件下（運動 15 分間、休憩 15 分間）でそれぞれ 3 時間曝露した。各曝露は 2 週間以上空けて実施した。実験期間中の抗炎症薬の服薬、実験 24 時間前のカフェイン、過度の食事（脂質が多い食事）の摂取、激しい運動は制限した。呼吸機能を曝露前、曝露終了直後、曝露終了 4 時間後、血圧と心拍数を曝露前、曝露中、曝露終了直後、曝露終了 2.5 時間後、呼気 NO、動脈・静脈の血中亜硝酸塩濃度、心機能（インピーダンスカルジオグラフィ）、全身性血管内皮機能（末梢動脈トノメトリ）、肺毛細血管血液量、血小板活性化、血中マイクロパーティクルを曝露前と曝露終了 4 時間後に測定した。0.200 ppm O<sub>3</sub> 曝露では、総症状スコア ( $p<0.005$ )、胸部圧迫感 ( $p<0.005$ )、咽頭刺激感 ( $p<0.01$ ) の症状が増加した。曝露終了直後の FEV<sub>1</sub> と FVC は、O<sub>3</sub> 曝露に対し濃度依存的に低下したが、曝露終了 4 時間後にはおおむね回復した。FEV<sub>1</sub>/FVC 及び FEF<sub>25-75</sub> も O<sub>3</sub> 曝露により低下した。曝露前から曝露終了直後の収縮期血圧の変化量の平均値 (SE) は、ろ過空気曝露 16.7 (2.6) mmHg、0.100 ppm O<sub>3</sub> 曝露 14.5 (2.4) mmHg、0.200 ppm O<sub>3</sub> 曝露 8.5 (2.5) mmHg であり、曝露終了直後の血圧に関して、0.200 ppm O<sub>3</sub> 曝露では終了直前に実施していた運動による収縮期血圧の上昇が抑えられた ( $p=0.02$ )。その他の調査項目については、O<sub>3</sub> 曝露による影響はなかった。また、いずれの調査項目の結果も *GSTM1* 遺伝子型とは関連がなかった。以上から、若い健康な成人を対象とした O<sub>3</sub> 曝露による心血管系の初期急性影響に *GSTM1* 遺伝子が関与するという納得のいくエビデンスはみられないと結論した。

Kahle *et al.* (2015)は、高温条件下（熱波）での O<sub>3</sub> 曝露が呼吸機能や炎症、凝固系、線溶系マーカーに与える影響を調査した。被験者は、21～36 人の健康な男女 16 人（男性 14 人、女性 2 人）であり、全員が非喫煙者であった。曝露時間は 2 時間であり、全員が適温 (22°C)、条件下でろ過空気、0.3 ppm O<sub>3</sub> への曝露を順序無作為に受けた後、高温 (32.5°C) 条件下で同様の曝露を受けた。同じ温度条件下での曝露は 1 週間以上、高温条件下での試験は、適温条件下の曝露から 8 週間以上空けた。曝露中、15 分間の運動と休憩を繰り返す間欠運動を行い、運動中の換気量が  $\dot{V}_E = 25$  L/min/体表面積で一定となるよう自転車の W 数を調整した。曝露前、曝露終了直後、曝露開始 24 時間後（翌朝）に呼吸機能 (FVC、FEV<sub>1</sub>) を測定した。また、曝露前、曝露終了 1 時間後、曝露開始 24 時間後（翌朝）に採血を行い、凝固・線溶系マーカー (PAI-1、D-ダイマー、t-PA、vWF、プラスミノゲン)、炎症マーカー (IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 、CRP) を測定した。

実験の結果、O<sub>3</sub> 曝露が線溶系マーカーに及ぼす影響は、温度により異なった。22°Cでの

O<sub>3</sub> 曝露は、曝露前と比べて曝露翌朝の線溶系マーカーを減少させた。曝露翌朝の PAI-1 及びプラスミノゲンは曝露前と比べ、それぞれ-51.8% (95%CI: -90.8, -12.7) 及び-12.1% (95%CI: -22.3, -1.8) 減少し、D-ダイマーは 17.8% (95% CI: -2.4, 38.0) 増加した。一方、32.5°Cでの O<sub>3</sub> 曝露の反応は 22°Cでの曝露と異なり、曝露翌朝の PAI-1 及びプラスミノゲンは曝露前と比べ、それぞれ 44.9% (95% CI: 5.9, 83.9, p=0.002) 及び 27.9% (95% CI: 17.1, 38.2, p=0.001) 増加し、D-ダイマーは 12.5% (95% CI: -32.7, 7.6, p=0.042) 減少した。tPA と vWF については、いずれの温度でも変化や温度との相互作用はみられなかった。対照的に、O<sub>3</sub> 曝露による呼吸機能の低下は、22°Cと 32.5°Cで差はみられなかった (FEV<sub>1</sub> は、22°Cで-12.4% (95%CI:-17.0, -6.1)、32.5°Cで-7.5% (95%CI:-13.1, -2.3)、FVC は 22°Cで-7.5% (95%CI:-10.4, -3.5)、32.5°Cで-5.9% (95%CI:-9.3, -2.4))。また、炎症マーカーは、どの温度での O<sub>3</sub> 曝露、ろ過空気曝露によらず、曝露前と比べて変化は観察されなかった。本研究の結果は、O<sub>3</sub> は、適温では線溶経路を活性化し、高温ではそれを損なう可能性があることを示唆した。

Miller *et al.* (2016)は、メタボローム解析により人におけるオゾン誘導の代謝異常を調査し、ラットで報告されている影響との整合性を立証すると共にタンパク質以外の新規バイオマーカーを特定することを目的とした研究を行った。被験者は、現在喫煙していない健康な 19～33 歳の男性 20 人、女性 4 人 (平均 25.6 歳) である。被験者は全員運動習慣を有しており、運動習慣レベル別の人数は、軽度 (90～180 分/週) 2 人、中度 (180～360 分/週) 9 人、高度 (>360 分/週) 13 人であった。ろ過空気及び 0.3 ppm O<sub>3</sub> をいずれも午前中に、2 週間以上の間隔を空け無作為順に、盲検によるクロスオーバー曝露を実施した。曝露時間は 2 時間であり、曝露中、休憩 15 分と自転車エルゴメーターによる体表面積 1m<sup>2</sup> 当たり 25 L/min の運動 15 分を反復する間欠運動を行った。曝露終了後 1 時間以内に採血し、血清中の代謝物についてメタボローム解析を行い、インスリン、レプチン、IL-6、TNF- $\alpha$ 、コルチゾール、コルチコステロン、グルコース、トリグリセリド、コレステロール等の濃度を調べた。曝露直後の血圧、心拍数の測定も行った。なお、心機能、呼吸機能、炎症マーカー等については Devlin *et al.* (2012)にて報告した。

O<sub>3</sub> とろ過空気曝露後の血清中のグルコース、トリグリセリド、コレステロール、IL-6、TNF- $\alpha$  の濃度、血圧、心拍数に差はなかった。血清中レプチン、インスリンの濃度、インスリン抵抗性 (HOMA-IR) にも差はなかった。

ストレスホルモンであるコルチゾール、コルチコステロンの血清中濃度は O<sub>3</sub> 曝露後、ろ過空気と比較し上昇した (各々 1.31、2.00 倍)。コルチコステロン代謝物である 11-デヒドロコルチコステロンが 1.62 倍 (p=0.0003) に増加した一方、コルチゾンは大きな増加はない (1.08 倍, p=0.0157) ことから、視床下部-下垂体-副腎系が関与していることが示唆された。

被験者の BMI、運動習慣レベル、性別とストレスホルモン、脂質代謝物の O<sub>3</sub> 誘導性変化との間に相関はみられなかった。グルコース、トリグリセリド、コレステロールの O<sub>3</sub>、ろ過空気曝露後の血清中濃度との間にも相関はみられなかった。

ヒトの血清中で検出、特定されている 663 化合物のうち 85 の生化学物質はろ過空気と比較し O<sub>3</sub> 曝露後に高く、36 物質は低く、変化傾向を示した生化学物質もあった（増加 23 物質、低下 29 物質）。経路エンリッチメント解析により 7 の生化学経路（スフィンゴ脂質代謝、内因性カンナビノイド合成、脂肪酸代謝、β 酸化、ジカルボン酸代謝、ステロイドホルモン合成、リン脂質代謝）について O<sub>3</sub> の影響がみられた。これらの経路はすべて脂質代謝と関連している。

血清中の中・長鎖遊離脂肪酸、モノアシルグリセロール、脂肪分解のマーカであるグリセロールは O<sub>3</sub> 曝露後にろ過空気と比較し増加した（グリセロールは 1.34 倍, p=0.0072）。さらに血清中の様々なリゾ脂質濃度がろ過空気曝露後と比較し O<sub>3</sub> 曝露後に上昇したことから、膜リン脂質の加水分解が脂肪酸生成に寄与した可能性が考えられた。また、脂肪酸の β 酸化代謝物濃度の上昇と、脂肪酸酸化の最終産生物質であるアセチル補酵素 A の代替指標であるアセチルカルニチンの上昇傾向（p=0.079）がみられた。長鎖脂肪酸（炭素数>12）はカルニチンと結合し、ミトコンドリアのマトリックスに運ばれ、エネルギー産生のため β 酸化を受ける。カルニチン濃度の低下（0.92 倍, p=0.0102）がみられたことから、アシルカルニチン抱合の使用量増加のマーカである可能性がある。また、ジカルボン酸塩、アゼライン酸塩、2-ヒドロキシグルタル酸塩が増加したことから、β 酸化プロセスが飽和し、脂肪酸の ω 酸化に移行した可能性が考えられた。これらの結果は、2 時間の間欠運動条件下での O<sub>3</sub> 曝露後に、エネルギー産生のための脂肪酸酸化が亢進したことを裏付け、肝臓の脂肪酸 β 酸化マーカであるケトン体の 3-ヒドロキシブチル酸塩の増加（1.82 倍, p=0.0451）からも示された。

ろ過空気と比較し O<sub>3</sub> 曝露後には血清中の n-3 系及び n-6 系の多価不飽和脂肪酸が増加しており、これらは炎症メディエーターの産生に寄与した可能性が考えられた。

O<sub>3</sub> の急性曝露は人においても、げっ歯類と同様にストレスホルモンの上昇と末梢における脂質代謝の全体的変化を生じさせた。この影響は、神経ホルモンを介したストレス反応経路の活性化による可能性が示唆された。O<sub>3</sub> 曝露による代謝への影響について、げっ歯類で報告された影響と人への影響との整合性が立証された。また、メタボローム解析から O<sub>3</sub> 曝露の新たなバイオマーカ（コルチゾール、遊離脂肪酸、モノアシルグリセロール、リゾ脂質）が示された。

Ramanathan *et al.* (2016)は、粒子状物質、O<sub>3</sub> の単独又は複合曝露が人の高密度リポタンパク質（HDL）機能に悪影響を生じさせ得るか否か、悪影響を生じさせるのであれば、それは相加的なのか相乗的なのかを定めることを目的として研究を実施した。

被験者はカナダのオンタリオ州 Toronto で Clean Air Research Center プロジェクトに参加した循環器疾患リスクの無い健康な成人非喫煙者（Brook *et al.* (2009)参照）で、空腹時の総コレステロール >240 mg/dl、糖 >126 mg/dl の者を除外した 18~50 歳の 30 人（男性 13 人、女性 17 人）とした。曝露時間は 2 時間とし、150 µg/m<sup>3</sup> の PM<sub>2.5</sub>、0.120 ppm の O<sub>3</sub>、PM<sub>2.5</sub>+O<sub>3</sub>、

ろ過空気の4種類をクロスオーバー試験により、それぞれ2週間以上の間隔を空けて無作為に被験者全員を曝露した。PM<sub>2.5</sub>は実験を行ったTorontoで2-stage Harvard virtual impactor systemにより濃縮した。曝露時の実測濃度の平均値(SD)は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>: 1.3 (8.0) μg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 20.8 (14.6) μg/m<sup>3</sup>、②PM<sub>2.5</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>: 148.5 (54.4) μg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 18.9 (11.9) μg/m<sup>3</sup>、③O<sub>3</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>: 2.8 (11.7) μg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 221.1 (14.1) μg/m<sup>3</sup>、④PM<sub>2.5</sub>+O<sub>3</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>: 132.4 (38.7) μg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 216.4 (11.9) μg/m<sup>3</sup>であった。曝露前及び曝露の1、20時間後に採血し、血漿中の抗酸化/抗炎症能としてHDL酸化指数を評価し、曝露前後の変化ΔHOI(HDL Oxidant Index)を求めた。また、HDLと関連する抗酸化酵素であり、既報において大気中超微小粒子やディーゼル排ガス曝露により高脂血症マウスで影響がみられたパラオキシナーゼ(PON-1)の活性についても調べた。曝露中、30分毎に収縮期血圧及び拡張期血圧の測定を実施した。

曝露1時間後のΔHOIはろ過空気曝露よりPM<sub>2.5</sub>曝露の方が大きい傾向(p=0.18)があったが、曝露20時間後にはそのような傾向はみられず、O<sub>3</sub>、PM<sub>2.5</sub>+O<sub>3</sub>の曝露では1、20時間後ともに影響はみられなかった。PON-1活性については、いずれの曝露によっても変化はみられなかった。Brook *et al.* (2009)では、PM<sub>2.5</sub>曝露による収縮期血圧と拡張期血圧の上昇がみられたことから、ΔHOIと血圧との関係を調査した結果、ΔHOIと曝露中の収縮期血圧勾配との間には強い正の関連があったが、拡張期血圧勾配との間には関連はみられなかった。

以上の結果から、PM<sub>2.5</sub>曝露はHDL抗酸化/抗炎症能に影響するが、O<sub>3</sub>は単独曝露でもPM<sub>2.5</sub>との複合曝露でも影響しないと結論した。

Frampton *et al.* (2017)は、複数の拠点でのO<sub>3</sub>のヒト制御曝露研究であるMOSES(Multicenter Ozone Study in oldEr Subjects)として、健康な高齢者に対するO<sub>3</sub>短期曝露の呼吸器及び心血管系への影響を調査した。被験者は、55~70歳の健康な非喫煙者の男性35人、女性52人であり、正常な呼吸機能と心電図(ECG)を示した。また、運動療法を完了し、各曝露セッション前の1週間、指定された薬剤を控えた。被験者の57%がGSTM1欠損型であった。曝露時間は3時間であり、0 ppm、0.070 ppm、0.120 ppmの3濃度のO<sub>3</sub>曝露を無作為に2週間以上の間隔を空けて曝露した。被験者は、換気量が15~17 L/min/m<sup>2</sup>となるよう、曝露中、エアロバイク又はトレッドミルでの中度運動15分間と休憩15分間を反復した。HRV(HF、LF、LF/HF、HF、SDNN、RMSSD)、再分極(T波の振幅、QTc間隔)、ST部分の変化、不整脈、全身性炎症及び酸化ストレスマーカー(血漿中CRP、IL-6、8-イソプロスタニン、ニトロチロシン、及びP-セレクチン)、血管機能(上腕動脈の血圧、血流依存性血管拡張反応[FMD]、及び血漿中エンドセリン-1[ET-1])、血中の単球-血小板抱合体数と血小板活性化マーカー、血漿中の血栓症マーカー(vWF、フィブリノゲン、及びマイクロパーティクル関連組織因子活性[MP-TFA])、呼吸機能(FEV<sub>1</sub>、FVC、FEV<sub>1</sub>/FVC、FEF<sub>25-75%</sub>)、気道上皮細胞損傷マーカー(血漿中CC16及び喀痰総タンパク質の増加)、喀痰中の肺炎症マーカー(PMN、IL-6、IL-8、及びTNF-α)の観察を行った。

心血管系及び呼吸器のエンドポイントは、各曝露について前日、当日、曝露後 22 時間の時点まで測定を行った。喀痰は曝露後 22 時間の時点で採取した。

O<sub>3</sub> 曝露は、HRV 等の自律神経機能、T-波の振幅等の再分極、ST 部分の変化、不整脈のいずれのエンドポイントにも影響を引き起こさなかった。また、O<sub>3</sub> 曝露は全身性炎症の主要エンドポイント (CRP) 及び血管機能の主要エンドポイント (収縮期血圧及び FMD) 又は全身性炎症及び酸化ストレスの副次的エンドポイント (IL-6、P-セレクチン、及び 8-イソプロスタニン) に変化を引き起こさなかった。0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露は血漿中 ET-1 の増加 (p=0.028) とニトロチロシンの減少 (p=0.005) を引き起こした。また、O<sub>3</sub> 曝露は血栓形成促進の主要エンドポイントである MP-TFA 及び単球-血小板抱合体数や、血栓形成促進の副次的エンドポイントである血小板活性化マーカー、循環マイクロパーティクル、vWF、フィブリノゲンに影響を及ぼさなかった。

FEV<sub>1</sub> と FVC は、0 ppm 曝露 15 分後に増加し (FEV<sub>1</sub> 85 mL, 95%CI: 64, 106, p<0.001; FVC 73 mL, 95%CI: 45, 101, p<0.001)、曝露終了 22 時間後も増加したままだった (FEV<sub>1</sub> 45 mL, 95%CI: 26, 64, p<0.001; FVC 25 mL, 95%CI: 4, 47, p=0.023)。FEV<sub>1</sub> 及び FVC の増加は、0.070 及び 0.120 ppm の O<sub>3</sub> への曝露では用量依存的に減衰した (FEV<sub>1</sub> p=0.003; FVC p=0.011)。0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露により、曝露終了 22 時間後の喀痰中 PMN の割合が 0 ppm と比較して増加した (p=0.003)。血漿中 CC16 も 0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露後に増加した (p<0.001)。喀痰中 IL-6、IL-8、及び TNF- $\alpha$  濃度に変化はみられなかった。被験者の性別、年齢、GSTM1 遺伝子型は、O<sub>3</sub> 曝露に対する呼吸機能、喀痰中 PMN 割合、血漿中 CC16 の反応に影響を与えなかった。

健康な高齢者を被験者とした本研究では、O<sub>3</sub> 曝露により呼吸機能の濃度依存的な低下が生じ、気道の炎症と損傷の証拠が示されたが、心血管機能への影響に関する説得力のある証拠は得られなかった。強力な血管収縮作用を示す ET-1 の血漿濃度は、0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露により上昇したが、血圧や FMD、その他の血管機能マーカーには影響がみられなかった。酸化ストレスマーカーであるニトロチロシンの血中濃度は、0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露により減少した。これらの結果は、本研究が対象とした健康な高齢者においては、低濃度の O<sub>3</sub> 曝露が急性心血管系影響を誘発するとした仮説を支持しなかった。健康な高齢者のみを対象としたことはこの研究デザインの限界である。より高い O<sub>3</sub> 曝露濃度又はより長期の曝露によっては影響が生じる可能性、又は高血圧や糖尿病などの心血管系の基礎疾患のある被験者がこれらの条件下で影響を受ける可能性は排除できない。

Stiegel *et al.* (2017) は、O<sub>3</sub> と DE 曝露が炎症反応、呼吸機能の変化、血圧の変化に与える影響とその関係性を調査した。実験データは、Madden *et al.* (2014)、Stiegel *et al.* (2016) と同じである。被験者は健康な非喫煙者の男性 11 人、女性 4 人の計 15 人であり、男性は平均年齢 27.3 歳 (24.4~30.5 歳)、女性は平均年齢 26.2 歳 (22.9~29.9 歳) であった。被験者は、曝露研究の前に、非ステロイド性抗炎症薬、ビタミン C、及びビタミン E の使用を中止した。また、GSTM1 遺伝子を解析したところ、GSTM1 非欠損型は 15 人中 9 人であった。O<sub>3</sub> と DE

について曝露調査を実施した。曝露は、ろ過空気、 $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$  DE、 $0.3 \text{ ppm O}_3$ 、 $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$  DE+ $0.3 \text{ ppm O}_3$  の4つであった。曝露時間は2時間/回であり、それぞれ2週間の間隔を空けて無作為順に4種類の曝露を行った。被験者は、リカンベントバイクで2時間の間に4回、15分/回の運動を行った。FEV<sub>1</sub>、FVC、収縮期血圧 (SBP)、拡張期血圧 (DBP)、及び血中炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ 、2、4、5、8、10、12p70 及び 13、IFN- $\gamma$ 、及び TNF- $\alpha$ ) を調査した。曝露前、曝露直後に呼吸機能、心拍、血圧、血中炎症性サイトカインを観察した。各エンドポイント間の関係については、曝露前後の比を用いて評価した。

呼吸機能への影響については、Madden *et al.* (2014)で報告のとおり、ろ過空気曝露と DE 曝露では、呼吸機能測定値に変化はなかったが、O<sub>3</sub> 及び O<sub>3</sub>+DE 曝露について、FEV<sub>1</sub> と FVC の低下がみとめられた。また、GSTM1 遺伝子型による呼吸機能の反応の違いはみられなかった。

血圧への影響については、ろ過空気曝露、DE 曝露、O<sub>3</sub> 曝露では SBP、DBP 共に影響がみられず、O<sub>3</sub>+DE 曝露では、SBP が低下した (平均 (SD) として曝露前 118 (2.23) mmHg、曝露後 111 (2.47) mmHg)。また、GSTM1 遺伝子型による反応の違いはみられなかった。

血中炎症性サイトカインへの影響については、Stiegel *et al.* (2016)で報告のとおり、O<sub>3</sub>+DE 曝露では、IL-4、IL-5、IL-12p70、IFN- $\gamma$ 、及び TNF- $\alpha$  が曝露後に減少し、IL-2、IL-8 は増加した。IL-5 は、ろ過空気曝露後も減少した。IFN- $\gamma$  は、ろ過空気、DE 曝露、O<sub>3</sub>+DE 曝露で減少したが、曝露間で差はなかった。TNF- $\alpha$  は、DE 曝露及び O<sub>3</sub>+DE 曝露後に平均で -11.9% 及び 16.7% の減少を示した。IL-12p70 は、O<sub>3</sub>+DE 曝露後に平均-14.4% の減少を示した。

DE、O<sub>3</sub>、及び O<sub>3</sub>+DE 曝露時の SBP と DBP の間、又は呼吸機能測定値と血圧測定値との間に相関関係はなかった。DE 曝露は DBP と IL-12p70 の間に負の相関を示し、O<sub>3</sub>+DE 曝露は SBP と IL-8 及び IFN- $\gamma$  の両方の間に負の相関を示した。3つの Th1 サイトカイン (IL-8、IL-12p70、及び IFN- $\gamma$ ) は、血圧測定値と負の相関がみられた。Th1 サイトカインと血圧測定値の間に顕著な相関は O<sub>3</sub> 曝露中にみられなかったが、Th2 サイトカイン (IL-5) と DBP の間に負の関連が検出された。O<sub>3</sub> 曝露は、呼吸機能測定値と IFN- $\gamma$  の両方とも正の相関を示した。

O<sub>3</sub> 曝露後の血漿 IFN- $\gamma$  の発現が FEV<sub>1</sub> 及び FVC の呼吸機能測定値との間に正の相関を示し、O<sub>3</sub> による FEV<sub>1</sub> 及び FVC の低下が IFN- $\gamma$  の発現と関連している可能性が示唆された。O<sub>3</sub>+DE 曝露が SBP と呼吸機能の変化を誘発したが、これらの反応は互いに独立していた。O<sub>3</sub>+DE 曝露後の血漿中炎症性サイトカイン反応と呼吸機能反応との間に相関はみられなかったが、SBP の変化とは関連がみられた。

今回の調査は O<sub>3</sub>+DE 曝露後の血中炎症と SBP の間に負の相関関係があることを示した。これらの結果は、2つの Th1 由来サイトカイン (IL-8 及び IFN- $\gamma$ ) が血圧の変化を促進している可能性があることを示唆しているが、この関係についてはさらに調査する必要がある。O<sub>3</sub>+DE 曝露後の SBP の低下がみられたが、その反応は、個人により異なった。GSTM1 遺

伝子型は、反応に影響を及ぼさなかったがより大きなデータセットでの検証が必要である。

Rich *et al.* (2018)は、複数の拠点での O<sub>3</sub> のヒト制御曝露研究である MOSES (Multicenter Ozone Study in oldEr Subjects) の一環として、環境レベルの O<sub>3</sub> への短期曝露が HRV の変化などの自律神経失調、再分極異常、不整脈及び血管障害を生じさせるという仮説を確かめることを目的とした研究を実施した。

被験者は 55~70 歳 (平均値 (SD) : 59.9 (4.5) 歳)、BMI が 18~35 の健康な非喫煙者 87 人 (男性 35 人、女性 52 人) とした。曝露時間は 3 時間とし、0 ppm、0.070 ppm、0.120 ppm O<sub>3</sub> の曝露セッション 3 回をそれぞれ 2 週間以上の間隔を空けて無作為順、二重盲検で被験者全員にクロスオーバーで実施した。曝露中は、15~17 L/min/m<sup>2</sup> の運動 15 分と休憩 15 分を反復した。曝露前、曝露 15 分後、4 時間後、22 時間後に血圧測定、曝露前日、曝露 4 時間後に上腕動脈超音波測定を実施した。また、曝露当日朝から 24 時間心電図を測定し、各種指標 (HF、LF、RMSSD、SDNN、心拍数、T 波振幅、QTc、ST 部分等) の曝露前、曝露 15 分後、4、22 時間後の 5 分間平均値、曝露前から曝露後までの 24 時間平均値、曝露中 3 時間平均値を調べた。

これらの結果、O<sub>3</sub> 曝露による自律機能、再分極、ST 部分、不整脈、血管機能 (収縮期血圧、拡張期血圧、血流依存性血管拡張反応) への影響は全体としてはみられなかった。また、O<sub>3</sub> 曝露による呼吸器影響と循環器影響との間の関連もみられなかった。

自律機能に関しては、RMSSD は曝露 15 分後に上昇が 0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露で最も大きくみられたが、曝露 4、22 時間後にはこの上昇は減少あるいはみられなくなった。LF、HF もあまり明確ではないが類似した傾向がみられた。心拍数は曝露 15 分後、4 時間後に濃度依存性のわずかな低下を示した。女性において濃度に依存しない 5 分間平均心拍数の上昇 (3.1 拍/分; 95% CI: 1.1, 5.1; p=0.003)、24 時間平均 ln (LF) の低減 (-0.403 ln ms<sup>2</sup>; 95% CI: -0.732, -0.074; p=0.017) がみられた。再分極に関しては、24 時間平均 V2 測定 ST 波について、ろ過空気と比較し 0.120 ppm の O<sub>3</sub> の曝露ではわずかな上昇がみられたが (4.7 μV; 95% CI: 1.0, 8.5; p=0.013)、0.070 ppm では変化はなかった。女性において 5 分間平均心拍数調整 QT 間隔 (QTc) の延長 (5.6 ms; 95% CI: 2.0, 9.2; p=0.003)、24 時間平均 T 波振幅の低減がみられた (-238.0 μV; 95% CI: -351.0, -125.0; p<0.001)。不整脈に関し、2 回、3 回以上の心室性期外収縮 (VE couplet、VE run) のオッズはろ過空気と比較すると 0.070 ppm O<sub>3</sub> の曝露により上昇を示した (OR=2.51; 95% CI: 1.03, 6.07; p=0.042) が、0.120 ppm O<sub>3</sub> 曝露ではそのような関連はみられなかった。

複数拠点で健康な高齢の男女を対象とした本研究では、3 時間の比較的低レベルの O<sub>3</sub> 曝露の心血管機能に対する急性影響について説得力のある証拠は得られなかった。しかし、より高い O<sub>3</sub> 濃度や長期曝露での影響や、心血管疾患患者への影響については、その可能性を排除できない。また、実験的曝露の前の数日間の大気中 O<sub>3</sub> 及び他汚染物質への曝露が、制御された O<sub>3</sub> 曝露に対する心血管バイオマーカーの反応を覆い隠したり鈍らせたりした可能



性も排除できない。

## 2. 循環器系への複合曝露影響

Drechsler-Parks (1995a)は、56~85歳の健康な非喫煙者8人(男性6人、女性2人)を対象として、ろ過空気、NO<sub>2</sub>、O<sub>3</sub>に2時間の曝露を行った。ろ過空気曝露、NO<sub>2</sub> 0.60ppm 曝露、O<sub>3</sub> 0.45ppm 曝露、NO<sub>2</sub> 0.60ppm+O<sub>3</sub> 0.45ppm 曝露の4種類の曝露を設定し、クロスオーバー試験により1週間以上の間隔を空け、無作為な順に曝露を行ったが、対象者中、4種の曝露を完了できた者は6人、3種を完了できた者は1人、2種を完了できた者は1人であった。曝露中、20分間の運動と20分間の休憩を繰り返す間欠運動を行った。各被験者の運動は、年齢を考慮し、各自が自転車エルゴメーターあるいはトレッドミルのいずれかを選択し、分時換気量が25 L/minになるレベルに統一した。目標分時換気量が達成されているかを運動中最後の5分間に確認し、分時換気量の平均は26.4~29.4 L/minであった。曝露中、心電図、心拍数を記録した。曝露前の安静時、また各運動の最後2分間に、心拍出量、1回拍出量、心収縮時間(STI)を測定した。 $\dot{V}_E$ (分時換気量)、心拍数、呼吸数、心拍出量、1回拍出量から影響を検討した。運動時のNO<sub>2</sub>曝露とろ過空気曝露間の比較では、 $\dot{V}_E$ に差がみられたが、生理学的に意味のある差ではなかった。また、心拍数と呼吸数あるいは $\dot{V}O_2$ も、各曝露間で差はなかった。曝露前の安静時の心拍出量は4群で差異がなかったが、運動時では、運動に伴って起こる心拍出量の増加の程度が、NO<sub>2</sub> + O<sub>3</sub>曝露がろ過空気曝露、O<sub>3</sub>曝露と比較して低かった。

Brook *et al.* (2002)は、PM<sub>2.5</sub>とO<sub>3</sub>への複合曝露が血管機能に与える影響を調査した。被験者は、健康者の成人で平均34.9(SD:10)歳、男性15人、女性10人の非喫煙者であり、心臓血管系の疾患やそのリスクファクターはなかった。空腹時血糖値が126 mg/dL以上、総コレステロール値が240 mg/dL以上の者は被験者から除外した。また被験者は、高血圧や脂質代謝異常に対する薬剤、抗酸化物質、葉酸、ステロイド、魚油、アスピリンを服用していない者であった。ろ過空気とCAPs+O<sub>3</sub>への曝露を二重盲検クロスオーバー試験により実施した。1回の曝露時間は、2時間/日とした。ただしCAPs+O<sub>3</sub>を2.5時間吸入した被験者が2人、ろ過空気の曝露を1時間吸入した被験者が1人いた。曝露の間隔は少なくとも2日以上空けた。CAPsはカナダのオンタリオ州のTorontoにて実験室外部のPM<sub>2.5</sub>をhigh-flow multistage virtual impactor systemにより濃縮した。CAPs(PM<sub>2.5</sub>)の曝露濃度の平均(SD)は153.0(34.8) μg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>の曝露濃度の平均(SD)は0.1203(0.0028) ppmであった。ろ過空気の曝露では、ろ過空気に含まれるPM<sub>2.5</sub>濃度の平均(SD)は1.6(1.7) μg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>濃度の平均は0.0085(0.0053) ppmであった。曝露前、曝露終了後10分以内に、上腕動脈血管径(BAD)、血流依存性血管拡張反応(FMD)、ニトログリセリン誘発性血管拡張反応(NMD)、収縮期血圧、拡張期血圧を測定した。CAPs+O<sub>3</sub>曝露では、ろ過空気曝露と比較して、BADが曝露前後で縮小した(CAPs+O<sub>3</sub>曝露の平均(SD):-0.09(0.15) mm、ろ過空気曝露の平均

(SD) : +0.01 (0.18) mm、 $p=0.03$ )。一方、FMD、NMD、収縮期血圧、拡張期血圧は、曝露間で差はなかった。CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の短時間の吸入は、急激な動脈の血管収縮を引き起こした。

Urch *et al.* (2005)は、CAPsとO<sub>3</sub>の混合気体の短時間曝露による血圧、心拍数への影響を調べるため、19～50歳の健康な非喫煙者23人（男性13人、女性10人）を被験者としてクロスオーバー試験を実施した。被験者の内21人はBrook *et al.* (2002)の実験データである。被験者は心血管疾患又は糖尿病に罹患しておらず、血圧が正常であり、高脂血症治療薬や吸入又は経口コルチコステロイドを服用しておらず、曝露の3週間以上前から上気道感染症に罹患していない者とした。ろ過空気とCAPs+O<sub>3</sub>を1日以上の間隔（中央値1週間）を空けて、それぞれ2時間、安静条件下でフェイスマスクにより曝露した。CAPsはカナダのオンタリオ州のTorontoでhigh-flow virtual impactor systemにより実験室外部のPM<sub>2.5</sub>を濃縮したもので、PM<sub>2.5</sub>の曝露濃度は平均 (SD) =147 (27)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub>の曝露濃度は平均 (SD) =0.121 (0.003) ppmであった。ろ過空気に含まれたPM<sub>2.5</sub>の曝露濃度は平均 (SD) =2 (2)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、O<sub>3</sub>の曝露濃度は平均 (SD) =0.008 (0.005) ppmであった。曝露開始時点から曝露終了直前まで30分毎に拡張期血圧、収縮期血圧、平均血圧 (=2/3拡張期血圧 + 1/3収縮期血圧)、心拍数を測定した。また、曝露中の自覚症状について報告を受けた。

CAPs+O<sub>3</sub>の曝露中、拡張期血圧は時間と共に上昇し、曝露開始時点（ベースライン）に対し、曝露終了時は中央値 6 mm Hg (95%CI: 0, 11;  $p=0.017$ ) 又は 9.3%の上昇で、ろ過空気曝露における変化（中央値 1 mm Hg; 95%CI: -2, 4;  $p=0.24$ ）とは差があった ( $p=0.017$ ; 血圧ベースライン値の調整無し)。収縮期血圧、平均血圧、心拍数に関しては、ろ過空気曝露、CAPs+O<sub>3</sub>曝露ともに変化はみられなかった。

PM<sub>2.5</sub>総質量に対する平均炭素量（有機炭素と元素炭素の合計）は  $28.4\pm 13.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$  であり、その大半である  $25.0\pm 11.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$  は有機炭素であった。血圧の変化とPM<sub>2.5</sub>成分との関係を調査したところ、PM<sub>2.5</sub>の有機炭素の推定濃度と曝露前後（開始時と終了直前）の拡張期血圧の変化との関連は非線形で、有機炭素濃度の自然対数との関連が最も強く ( $r = 0.53$ 、 $p=0.009$ )、PM<sub>2.5</sub>総質量との関連 ( $r=0.25$ 、 $p=0.27$ ) よりも強かった。平均血圧の変化についても有機炭素との関連が ( $r=0.56$ 、 $p=0.006$ )、PM<sub>2.5</sub>総質量との関連 ( $r=0.21$ 、 $p=0.35$ ) よりも強かった。収縮期血圧の変化については、有機炭素との関連は拡張期血圧、平均血圧よりも弱く、PM<sub>2.5</sub>総質量とは関連がみられなかった。

曝露中の症状の報告数は少なく、CAPs+O<sub>3</sub>では平均 (SD) =1.0 (1.9) 件、ろ過空気では0.5 (1.2) 件だった。

以上の、環境濃度のPM<sub>2.5</sub>、O<sub>3</sub>への曝露が拡張期血圧を迅速に上昇させ、血圧変化の大きさはPM<sub>2.5</sub>炭素成分と関連するという結果は、大気汚染が心血管リスクを上昇させるメカニズムを説明する支援となる可能性があるが、原因となる汚染物質や生物学的機構、反応の持続性などについては更なる調査を要する。

Power *et al.* (2008)は、大気中の粒子状物質の主成分である炭素と硝酸アンモニウムだけの曝露に比べ、気道炎症を誘発する O<sub>3</sub>を同時に曝露することで潜在的に喘息リスクのある成人の HRV が顕著に減少するとの仮説を検証する実験を行った。被験者は、28～51 歳（平均 37 歳）の軽症～中等症のアレルギー性喘息患者 5 人（男性 1 人、女性 4 人、非喫煙者）であり、実験時アレルギー性鼻炎や喘息以外の症状はなかった。最初に被験者の特性評価のため、病歴質問票調査、プリックテスト、メサコリン負荷試験を行い、アレルギー性鼻炎は症状歴とプリックテストの結果、喘息は National Asthma Education Program のガイドラインに基づき判定した。アセトアミノフェンと経口避妊薬を除く全ての薬物と、抗炎症作用、抗ヒスタミン作用、循環器や呼吸器への作用があるとされるビタミン剤の摂取を曝露試験期間と被験者の特性評価の一定期間以前より控えた。吸入又は経口ステロイド薬は各調査の 2 週間前、抗ヒスタミン薬及び非ステロイド性抗炎症薬は 3 日前（クラリチンは 5 日前）、β 刺激気管支拡張薬は 8 時間前、カフェインは 4 時間前から使用を中止した。

全員に対し、ろ過空気曝露、炭素+硝酸アンモニウム粒子曝露（以下 P 曝露）、炭素+硝酸アンモニウム粒子+O<sub>3</sub> 曝露（以下 PO<sub>3</sub> 曝露）をクロスオーバーで 3 週間以上の間隔を置いて任意の順に曝露した。被験物質の炭素粒子及び硝酸アンモニウム粒子については、それぞれを 2%の比率で含有する懸濁液をネブライザーを介して曝露チャンバーに送った。粒子状物質の曝露濃度の平均 (SD) は P 曝露が 313 (19.5) µg/m<sup>3</sup>、PO<sub>3</sub> 曝露が 255 (38.6) µg/m<sup>3</sup>、であり、O<sub>3</sub>の曝露濃度は 0.2 ppm に設定した。曝露時間は各回 4 時間であり、曝露中は、トレッドミルにより体表面積あたりの分時換気量を 25 L/min/m<sup>2</sup> とする運動 30 分と休憩 30 分を 4 回繰り返した。曝露前 20 分間、曝露最後の 20 分間に心電図測定を行い、HRV の時間領域解析 (SDNN、SDANN、SDNN-I、r-MSSD) と周波数領域解析 (Total、VLF、LF、LF-n、HF、HF-n、LF/HF) を行った。各被験者について曝露後心電図の時間領域解析 (SDNN、SDANN、SDNN-I、r-MSSD) の結果では、曝露の前後を比較すると、ろ過空気曝露、P 曝露、PO<sub>3</sub> 曝露の各群ともに指標値が減少する傾向がみられた。ろ過空気曝露における変化を考慮すると P 曝露では指標値は必ずしも減少していないが、PO<sub>3</sub> 曝露では一貫して 4 つの指標値が低下していた。HRV の全体的な指標となる SDNN は PO<sub>3</sub> 曝露がろ過空気曝露と比べ減少していた (p=0.01)。類似した傾向が SDNN-I (p=0.04) と r-MSSD (p=0.02) でもみられた。周波数領域では標準化した低周波成分 (normalized LF; LF-n) が PO<sub>3</sub> 曝露で増加する傾向がみられ (p=0.02)、ろ過空気曝露による変動を考慮しても増加を示した (p=0.01)。標準化した高周波成分 (normalized HF; HF-n) は PO<sub>3</sub> 曝露で減少する傾向がみられ (p=0.02)、ろ過空気による変動を考慮しても減少を示した (p=0.01)。ろ過空気曝露と P 曝露では、時間領域、周波数領域の指標について全体としての増減の傾向や差はみられなかった。喘息患者において粒子と O<sub>3</sub> の同時曝露が HRV を減少させる可能性が示唆されたが、今回は例数が少ないため、さらなる検討が必要である。

Brook *et al.* (2009)は、PM<sub>2.5</sub> と O<sub>3</sub> への複合曝露が血管機能の低下、拡張期血圧上昇を引き起こすメカニズムとその原因汚染物質を特定するため、カナダのオンタリオ州 Toronto 及び米国のミシガン州 Ann Arbor の 2 地点で計 2 つの実験を行った。

Toronto の被験者は 31 人（男性 16 人、女性 15 人）、Ann Arbor の被験者は 50 人（男性 19 人、女性 31 人）であり、いずれも 18～50 歳の健康な非喫煙者を対象とした。Toronto の実験では、二重盲検クロスオーバー試験により、被験者全員が CAPs (PM<sub>2.5</sub> 150 µg/m<sup>3</sup>) + O<sub>3</sub> (0.120 ppm)、CAPs (PM<sub>2.5</sub> 150 µg/m<sup>3</sup>) 単独、O<sub>3</sub> (0.120 ppm) 単独、及びろ過空気の曝露を 2 時間受けた。曝露の間は 2 週間以上の間隔を空けた。CAPs は 2-stage Harvard virtual impactor system により PM<sub>2.5</sub> を濃縮したもので、いずれも曝露は着席安静の上、フェイスマスクにより実施した。曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>: 1.3 (8.0) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.0109 (0.0072) ppm、②CAPs 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 148.5 (54.4) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.0097 (0.0061) ppm、③O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 2.8 (11.7) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.1113 (0.0065) ppm、④CAPs+O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 132.4 (38.7) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.1090 (0.0056) ppm であった。

Ann Arbor の実験では、二重盲検クロスオーバー試験により、被験者全員がエンドセリン拮抗薬（ボセンタン 250 mg）、抗酸化剤（ビタミン C 2000 mg）、又はプラセボを事前に服用した後、CAPs (150 µg/m<sup>3</sup>) + O<sub>3</sub> (0.120 ppm) の複合曝露を 2 時間受けた。曝露の間は 2～4 週間の間隔を空けた。CAPs は 3-stage Harvard virtual impactor system により PM<sub>2.5</sub> を濃縮した。いずれも曝露は着席安静の上、フェイスマスクにより実施した。曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①プラセボ投与 PM<sub>2.5</sub>: 126.9 (55.0) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.1220 (0.0028) ppm、②ボセンタン投与 PM<sub>2.5</sub>: 142.6 (51.6) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.1223 (0.0023) ppm、③ビタミン C 投与 PM<sub>2.5</sub>: 133.2 (48.7) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.1225 (0.0055) ppm であった。

Toronto、Ann Arbor とも、曝露前、曝露中（30 分間隔）、曝露終了直後に血圧、心拍数を測定し、曝露前、曝露終了直後、曝露翌日（24 時間後）に、上腕動脈血管径（BAD）、血流依存性血管拡張反応（FMD）、ニトログリセリン誘発性血管拡張反応（NMD）、血液中バイオマーカー（エンドセリン-1、サイトカイン、血液細胞数、高感度 CRP）を測定した。また、Toronto では、曝露前、曝露終了直後に HRV（LF、HF、LF/HF、SDNN、rMSSD、心拍数）を、Ann Arbor では、曝露前、曝露終了直後、曝露翌日（24 時間後）に、動脈コンプライアンスをそれぞれ測定した。

Toronto では、CAPs、CAPs+O<sub>3</sub> でのみ、拡張期血圧が曝露時間に対し線形に上昇した（2 時間曝露後の血圧上昇は、開始時に対し+2.9 mm Hg 及び+3.6 mm Hg）。線形混合モデルによる解析の結果、拡張期血圧の上昇の傾きは、いくつかの HRV 指標の低下、実験中の PM<sub>2.5</sub> 積算曝露量と関連を示した。ろ過空気曝露、O<sub>3</sub> 曝露では拡張期血圧の曝露中の変化の傾きは 0 から統計的に有意ではなかった。O<sub>3</sub> 曝露は血圧の変化とも HRV の変動とも関連がみられなかった。その他、内皮機能の指標として用いた FMD が CAPs、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の 24 時間後でのみ減少し（-2.0% 及び -2.9%）、曝露 PM<sub>2.5</sub> 濃度及び TNF-α の増加と関連がみられた。血液中バイオマーカーについては、白血球数、好中球数のみが CAPs、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の直後

で増加し、他のバイオマーカーについては曝露前後で差はほぼみられなかった。

Ann Arbor では、事前投与薬の種類によらず、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露で拡張期血圧が上昇した (2.5 ~4.0 mm Hg)。一方、BAD、動脈コンプライアンス、FMD、NMD はいずれの曝露においても変化がみられなかった。

2つの実験の結果、大気汚染による血圧上昇を引き起こす原因物質は、O<sub>3</sub> ではなく PM<sub>2.5</sub> であり、その影響時間も曝露中のみの一過性のものであることが示された。また、O<sub>3</sub> は PM<sub>2.5</sub> によって誘発された影響を増大させなかった。

Fakhri *et al.* (2009)は、19~48 歳の健康者と喘息患者計 50 人 (男性 24 人、女性 26 人、そのうち軽症喘息患者 10 人) を対象に O<sub>3</sub> と PM<sub>2.5</sub> を曝露する実験を行った。被験者は全員が非喫煙者である。喘息の有無は医師により診断され、メサコリン負荷試験により確認した。喘息患者は、午前 0 時以降、いかなる短時間作用性気管支拡張薬も使用せず、すべての試験の 1 ヶ月以上前からコルチコステロイド薬による治療を中止していた。すべての被験者が、ろ過空気、CAPs、O<sub>3</sub>、CAPs+O<sub>3</sub> の 4 種類の曝露を単盲検クロスオーバー試験により、無作為に受けた。曝露の間隔は 2 週間以上空けた。時刻による生理的な変化の影響を避けるため、4 回の曝露を同一時刻に実施した。曝露は着席安静の上、フェイスマスクにより実施した。CAPs は Harvard virtual impactor により、カナダのオンタリオ州 Toronto の実験室外部の PM<sub>2.5</sub> を濃縮した。曝露濃度は PM<sub>2.5</sub> 150 µg/m<sup>3</sup> (実測値の平均 (SD) 121.6 (48.0) µg/m<sup>3</sup>)、O<sub>3</sub> 0.120 ppm (実測値の平均 (SD) 0.1139 (0.0066) ppm) であった。HRV を実験期間中に継続的に測定した。曝露開始前と終了時、終了後 25~30 分、55~60 分、85~90 分、115~120 分に収縮期血圧と拡張期血圧を測定した。曝露開始時から終了時の HRV の変化 (Δ5 分平均心拍数、ΔSDNN、ΔrMSSD、ΔpNN50、ΔLF、ΔHF、ΔLF/HF) と血圧の変化 (Δ 収縮期血圧、Δ 拡張期血圧、Δ 平均血圧 (拡張期血圧と収縮期血圧の 2:1 の加重平均)) を観察し影響を評価した。CAPs や O<sub>3</sub> への曝露は HRV に対して一貫性のある影響を示さなかった。PM<sub>2.5</sub> 濃度と HRV 指標との間の量反応関係は、O<sub>3</sub> の有無により異なるようであり、O<sub>3</sub> の無い曝露では量反応関係がみられなかったが、O<sub>3</sub> を含む曝露では PM<sub>2.5</sub> 濃度と一部の HRV 指標との間に負の関係が示唆された (HF、SDNN、rMSSD については傾向がみられ、LF とは関連がみられた (p=0.02))。CAPs+O<sub>3</sub> 曝露は、曝露前後で拡張期血圧を 1.97 (1.21; SE) mm Hg 上昇させた。収縮期血圧、平均血圧については明確な傾向はみられなかった。喘息の有無は HRV や血圧に対する影響を修飾しなかった。CAPs 曝露が拡張期血圧に与える影響の O<sub>3</sub> による増強効果及び HRV に与える影響に O<sub>3</sub> が与える増強効果は、若い成人に対しては小さいものであった。

Sivagangabalan *et al.* (2011)は、CAPs 曝露、O<sub>3</sub> 曝露、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露が心室再分極相のばらつきを促進する可能性について調査した。被験者は、18~50 歳の健康な非喫煙者 25 人 (男性 11 人、女性 14 人) であり、心血管疾病歴及びリスクファクターがなく、薬物の処方もな

い者で、高コレステロール (>240 mg/dl)、高血糖 (>126mg/dl)、低血圧 (安静時 <100/50mm Hg)、高血圧 (安静時 >140/90 mm Hg)、気道疾患 (COPD や喘息)、妊娠中や授乳中の者は除いた。①ろ過空気曝露、②CAPs 曝露、③O<sub>3</sub> 曝露、④CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の 4 つの試験を、クロスオーバー法により、順番は無作為に最低 2 週間の間隔を空けて行った。CAPs は high flow (1,100 L/min) 2-stage virtual impactor system を用い、カナダのオンタリオ州 Toronto にある実験室外部の PM<sub>2.5</sub> を濃縮した。被験者は安静な状態で、フェイスマスクにより 2 時間の曝露を受けた。曝露濃度は PM<sub>2.5</sub> 150 µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub> 0.120 ppm であり、曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>: 2 (7) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.011 (0.008) ppm、②CAPs 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 154 (54) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.010 (0.006) ppm、③O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 4 (10) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.109 (0.006) ppm、④CAPs+O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 147 (86) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.108 (0.005) ppm であった。曝露中、12 誘導心電図をとり、30 分間隔で血圧と分時換気量を測定した。空間的再分極相のばらつきへの影響の指標として、T 波頂点から終末点までの間隔 (Tp-e。心拍による補正をした cTp-e を評価に使用)、最大 QT 間隔と最小 QT 間隔の差である QT ディスパージョン (QTd) を用いた。cTp-e、QTd、HRV (HF、LF、LF/HF) について、曝露終了前 5 分間平均-曝露開始後 5 分間平均 (Δ) を計算し、曝露による変化を評価した。ΔcTp-e は CAPs + O<sub>3</sub> 曝露でのみ増加し (p<0.0001)、ろ過空気曝露での変動を考慮しても増加していた (p=0.013)。ΔQTd も CAPs + O<sub>3</sub> 曝露でろ過空気曝露に対し増加し (p=0.0002)、また、CAPs 曝露でもろ過空気曝露に対し増加していた (p=0.008)。CAPs 曝露により、拡張期血圧は上昇したが、収縮期血圧は上昇しなかった。HRV 及び血圧を考慮した分析の結果、CAPs + O<sub>3</sub> 曝露は、心室再分極相のばらつきを変動させ、交感神経の促進と副交感神経の抑制による心拍数の調整が一部関与している可能性が示唆された。

Kusha *et al.* (2012)は、CAPs と O<sub>3</sub> への曝露が健康な人の T 波交互脈 (T-wave alternans; TWA) に与える影響を調査する実験を行った。1 拍ごとの T 波の形態と振幅の変化を示す TWA は、心室性不整脈の高リスクとも関連する。被験者は 18~38 歳 (平均 23.7 歳) の健康者 17 人 (女性 9 人、男性 8 人) である。コレステロール >240 mg/dl、グルコース >126 mg/dl、低血圧 (安静時血圧 <100/50 mm Hg)、高血圧 (安静時血圧 >140/90 mgHg)、妊婦、授乳中の者は被験者から除外した。クロスオーバー試験により、全被験者がろ過空気曝露、CAPs 曝露、O<sub>3</sub> 曝露、CAPs+O<sub>3</sub> 曝露の 4 種類の曝露を各曝露の間を 2 週間以上空けランダムな順に受けた。曝露時間は各 2 時間で被験者は安静状態でフェイスマスクにより曝露を受けた。CAPs は high-flow PM<sub>2.5</sub> impactor (1,100 L/min) によりカナダのオンタリオ州 Toronto にある実験室の外部から PM<sub>2.5</sub> を濃縮した。CAPs (PM<sub>2.5</sub>) の濃度は 150 µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub> の濃度は 0.120 ppm であり、曝露時の実測濃度の平均値 (SD) は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>: 2 (7) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.011 (0.008) ppm、②CAPs 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 154 (54) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.010 (0.006) ppm、③O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 4 (10) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.109 (0.006) ppm、④CAPs+O<sub>3</sub> 曝露 PM<sub>2.5</sub>: 147 (86) µg/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 0.108 (0.005) ppm であった。心電図は曝露中に連続測定し、血圧と心拍を曝露

前、曝露中は30分間隔で、そして曝露終了直後に測定した。安静状態で心電図を測定しTWAを算出した。曝露開始後5分間と終了前5分間において、曝露がもたらすTWAMaxの変化を推定し、その差を $\Delta$ TWAMaxとして算出し評価に用いた。TWAMaxとは、ST部分の開始点であるJ点からT波の終わりまでの奇数拍平均複合体と偶数拍平均複合体の大きさの差の最大値である。ろ過空気曝露、CAPs曝露、O<sub>3</sub>曝露、CAPs+O<sub>3</sub>曝露、それぞれの $\Delta$ TWAMaxの平均値(SD)は、-2.1(0.4)、-2.7(1.1)、-1.9(1.5)、-1.2(1.5)であった。ろ過空気曝露とCAPs曝露、O<sub>3</sub>曝露、CAPs+O<sub>3</sub>曝露の間に差はみられなかった。心血管疾患の既往がない17人の被験者を対象とした本研究では、CAPs、O<sub>3</sub>、CAPs+O<sub>3</sub>への2時間の安静条件下での曝露では、T波交互脈への影響はみられなかった。

Ramanathan *et al.* (2016)は、粒子状物質、O<sub>3</sub>の単独又は複合曝露が人の高密度リポプロテイン(HDL)機能に悪影響を生じさせ得るか否か、悪影響を生じさせるのであれば、それは相加的なのか相乗的なのかを定めることを目的として研究を実施した。

被験者はカナダのオンタリオ州 Toronto で Clean Air Research Center プロジェクトに参加した循環器疾患リスクの無い健康な成人非喫煙者(Brook *et al.* (2009)参照)で、空腹時の総コレステロール >240 mg/dl、糖 >126 mg/dl の者を除外した18~50歳の30人(男性13人、女性17人)とした。曝露時間は2時間とし、150  $\mu$ g/m<sup>3</sup>のPM<sub>2.5</sub>、0.120 ppmのO<sub>3</sub>、PM<sub>2.5</sub>+O<sub>3</sub>、ろ過空気の4種類をクロスオーバー試験により、それぞれ2週間以上の間隔を空けて無作為な順で被験者全員を曝露した。PM<sub>2.5</sub>は実験を行った Toronto で 2-stage Harvard virtual impactor system により濃縮した。曝露時の実測濃度の平均値(SD)は、①ろ過空気曝露 PM<sub>2.5</sub>: 1.3 (8.0)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 20.8 (14.6)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、②PM<sub>2.5</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>: 148.5 (54.4)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 18.9 (11.9)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、③O<sub>3</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>: 2.8 (11.7)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 221.1 (14.1)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、④PM<sub>2.5</sub>+O<sub>3</sub>曝露 PM<sub>2.5</sub>: 132.4 (38.7)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>、O<sub>3</sub>: 216.4 (11.9)  $\mu$ g/m<sup>3</sup>であった。曝露前及び曝露の1、20時間後に採血し、血漿中の抗酸化/抗炎症能としてHDL酸化指数を評価し、曝露前後の変化 $\Delta$ HOI(HDL Oxidant Index)を求めた。また、HDLと関連する抗酸化酵素であり、既報において大気中超微小粒子やディーゼル排ガス曝露により高脂血症マウスで影響がみられたパラオキシナーゼ(PON-1)の活性についても調べた。曝露中、30分毎に収縮期血圧及び拡張期血圧の測定を実施した。

曝露1時間後の $\Delta$ HOIはろ過空気曝露よりPM<sub>2.5</sub>曝露の方が大きい傾向(p=0.18)があったが、曝露20時間後にはそのような傾向はみられず、O<sub>3</sub>、PM<sub>2.5</sub>+O<sub>3</sub>の曝露では1、20時間後ともに影響はみられなかった。PON-1活性については、いずれの曝露によっても変化はみられなかった。Brook *et al.* (2009)では、PM<sub>2.5</sub>曝露による収縮期血圧と拡張期血圧の上昇がみられたことから、 $\Delta$ HOIと血圧との関係を調査した結果、 $\Delta$ HOIと曝露中の収縮期血圧勾配との間には強い正の関連があったが、拡張期血圧勾配との間には関連はみられなかった。

以上の結果から、PM<sub>2.5</sub>曝露はHDL抗酸化/抗炎症能に影響するが、O<sub>3</sub>は単独曝露でもPM<sub>2.5</sub>との複合曝露でも影響しないと結論した。

Stiegel *et al.* (2017)は、O<sub>3</sub>とDE曝露が炎症反応、呼吸機能の変化、血圧の変化に与える影響とその関係性を調査した。実験データは、Madden *et al.* (2014)、Stiegel *et al.* (2016)と同じである。被験者は健康な非喫煙者の男性11人、女性4人の計15人であり、男性は平均年齢27.3歳(24.4~30.5歳)、女性は平均年齢26.2歳(22.9~29.9歳)であった。被験者は、曝露研究の前に、非ステロイド性抗炎症薬、ビタミンC、及びビタミンEの使用を中止した。また、GSTMI遺伝子を解析したところ、GSTMI非欠損型は15人中9人であった。O<sub>3</sub>とDEについて曝露調査を実施した。曝露は、ろ過空気、300 µg/m<sup>3</sup>DE、0.3 ppm O<sub>3</sub>、300 µg/m<sup>3</sup>DE+0.3 ppm O<sub>3</sub>の4つであった。曝露時間は2時間/回であり、それぞれ2週間の間隔を空けて無作為順に4種類の曝露を行った。被験者は、リカンベントバイクで2時間の間に4回、15分/回の運動を行った。FEV<sub>1</sub>、FVC、収縮期血圧(SBP)、拡張期血圧(DBP)、及び血中炎症性サイトカイン(IL-1β、2、4、5、8、10、12p70及び13、IFN-γ、及びTNF-α)を調査した。曝露前、曝露直後に呼吸機能、心拍、血圧、血中炎症性サイトカインを観察した。各エンドポイント間の関係については、曝露前後の比を用いて評価した。

呼吸機能への影響については、Madden *et al.* (2014)で報告のとおり、ろ過空気曝露とDE曝露では、呼吸機能測定値に変化はなかったが、O<sub>3</sub>及びO<sub>3</sub>+DE曝露について、FEV<sub>1</sub>とFVCの低下がみとめられた。また、GSTMI遺伝子型による呼吸機能の反応の違いはみられなかった。

血圧への影響については、ろ過空気曝露、DE曝露、O<sub>3</sub>曝露ではSBP、DBP共に影響がみられず、O<sub>3</sub>+DE曝露では、SBPが低下した(平均(SD)として曝露前118(2.23) mmHg、曝露後111(2.47) mmHg)。また、GSTMI遺伝子型による反応の違いはみられなかった。

血中炎症性サイトカインへの影響については、Stiegel *et al.* (2016)で報告のとおり、O<sub>3</sub>+DE曝露では、IL-4、IL-5、IL-12p70、IFN-γ、及びTNF-αが曝露後に減少し、IL-2、IL-8は増加した。IL-5は、ろ過空気曝露後も減少した。IFN-γは、ろ過空気、DE曝露、O<sub>3</sub>+DE曝露で減少したが、曝露間で差はなかった。TNF-αは、DE曝露及びO<sub>3</sub>+DE曝露後に平均で-11.9%及び16.7%の減少を示した。IL-12p70は、O<sub>3</sub>+DE曝露後に平均-14.4%の減少を示した。

DE、O<sub>3</sub>、及びO<sub>3</sub>+DE曝露時のSBPとDBPの間、又は呼吸機能測定値と血圧測定値との間に相関関係はなかった。DE曝露はDBPとIL-12p70の間に負の相関を示し、O<sub>3</sub>+DE曝露はSBPとIL-8及びIFN-γの両方の間に負の相関を示した。3つのTh1サイトカイン(IL-8、IL-12p70、及びIFN-γ)は、血圧測定値と負の相関がみられた。Th1サイトカインと血圧測定値の間に顕著な相関はO<sub>3</sub>曝露中にみられなかったが、Th2サイトカイン(IL-5)とDBPの間に負の関連が検出された。O<sub>3</sub>曝露は、呼吸機能測定値とIFN-γの両方とも正の相関を示した。

O<sub>3</sub>曝露後の血漿IFN-γの発現がFEV<sub>1</sub>及びFVCの呼吸機能測定値との間に正の相関を示し、O<sub>3</sub>によるFEV<sub>1</sub>及びFVCの低下がIFN-γの発現と関連している可能性が示唆された。



O<sub>3</sub>+DE 曝露が SBP と呼吸機能の変化を誘発したが、これらの反応は互いに独立していた。O<sub>3</sub>+DE 曝露後の血漿中炎症性サイトカイン反応と呼吸機能反応との間に相関はみられなかったが、SBP の変化とは関連がみられた。

今回の調査は O<sub>3</sub>+DE 曝露後の血中炎症と SBP の間に負の相関関係があることを示した。これらの結果は、2つの Th1 由来サイトカイン (IL-8 及び IFN- $\gamma$ ) が血圧の変化を促進している可能性があることを示唆しているが、この関係についてはさらに調査する必要がある。O<sub>3</sub>+DE 曝露後の SBP の低下がみられたが、その反応は、個人により異なった。GSTM1 遺伝子型は、反応に影響を及ぼさなかったがより大きなデータセットでの検証が必要である。

### 3. 代謝系への影響、神経系への影響、遺伝子障害性

Merz *et al.* (1975)は、呼吸上皮から離れた組織の染色体に O<sub>3</sub> がどのような影響を与えるかを調べることを目的として、末梢血リンパ球の染色体を調べた。被検者は、健康な 6 人であり、6 時間曝露は 2 人、10 時間曝露は 4 人であった。なお、これら被験者は、呼吸機能への影響を評価した研究 (Kerr *et al.*, 1975) の被検者の一部である。曝露条件は、0.5 ppm O<sub>3</sub> を 6 時間あるいは 10 時間であった。6 時間曝露群では曝露前、曝露直後、10 時間曝露群では曝露前、曝露直後、曝露 2 週間後、曝露 6 週間後に採血を行い、末梢血リンパ球の染色体異常を観察した。結果として、染色体型の異常、非対称性又は対称性の染色分体型交換はみられなかった。影響がみられた大部分は非染色性部位であり、未修復の一本鎖切断と解釈され、いくつかの例では曝露前及び曝露後にみられた染色分体欠失であった。染色分体欠失は、O<sub>3</sub> 曝露後に明らかに増加し、曝露後 2 週間でさらに顕著になった。一本鎖切断型の染色分体異常と染色分体欠失が O<sub>3</sub> に曝露された人で誘導されたことが示唆された。この結果は、呼吸器系を介した O<sub>3</sub> 曝露は、最初の曝露部位から離れた細胞において、理論上正常な生理的濃度の抗酸化剤の存在下であっても、影響を与える可能性があることを示唆した。

McKenzie *et al.* (1977)は、人を対象とした O<sub>3</sub> 曝露の細胞遺伝学的影響を調査した。被検者は、健康な非喫煙男性の大学生 26 人であり、0.4 ppm O<sub>3</sub> を 4 時間曝露した。曝露中は自転車エルゴメーターでの 2 回の 15 分間の適度な運動を除き、着座していた。曝露直前、曝露直後、3 日後、2 週間後、4 週間後に採血を行い、末梢血リンパ球の染色体異常について観察した。染色体異常は、染色体数、切断、ギャップ、欠失、断片、環、二動原体染色体、転座、逆位、三放射状染色体、四放射状染色体を観察した。曝露前と曝露後で、染色体数、切断、ギャップ、欠失、断片、二動原体染色体、転座四放射状染色体に変化はみられなかった。環、逆位、三放射状染色体は観察されなかった。染色体異常がみられた細胞数についても曝露前後で差はみられなかった。曝露 3 日後に染色体異常の増加が示唆された。切断とギャップの分布について調べた結果、これらの染色体上の分布は O<sub>3</sub> 曝露により影響されなかったが、染色体の暗いバンドよりも明るいバンドでより多く同定された (切断の 71%とギャップの 68%は明るいバンドにみられた)。人を対象とした *in vivo* の O<sub>3</sub> 曝露では、O<sub>3</sub> 曝露に起

因する細胞遺伝学的影響の証拠はみられなかった。

Gliner *et al.* (1979)は、O<sub>3</sub>曝露が視覚、聴覚注意力 (vigilance performance) に与える影響について、信号検出試験による調査を行った。被験者は19~27歳の男女15人(男性8人、女性7人)であり、全員が非喫煙者であった。曝露時間は2時間であり、1週間以上の間隔を空けて、室内空気、0.25 ppm O<sub>3</sub>、0.50 ppm O<sub>3</sub>、0.75 ppm O<sub>3</sub>を無作為な順、単盲検で曝露した。曝露中、最初の55分間に電極の取り付けと説明を行い、次の3分間に信号と非信号の比率が1:5のアラート試験、1分間の休憩の後に信号と非信号の比率がおおよそ1:30の1時間の視覚注意力試験 (vigilance test) を行い、信号検出率及び誤検出率を調べた。試験では3秒毎に1秒の光パルスが現れ、明るいパルスを信号、暗いパルスを非信号とした。また、曝露後に身体的、精神的な症状についてアンケートを用いて調査した。(実験 I)

症状については、全体的な傾向として0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露による影響は他の全ての濃度の曝露に比べ重度であった。身体的症状では性別と曝露条件の間で相互作用がみられ、女性被験者でのみ室内空気曝露による影響はO<sub>3</sub>曝露による影響よりも重症度が低かった。0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露では全ての被験者が吐き気を感じていた。心理学的症状については男性、女性の両方で全体的にO<sub>3</sub>の影響がみられ、0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露で最も影響が大きかった。信号検出試験については、アラート試験、注意力試験のいずれにおいても、信号検出率、誤検出率ともに男女間、O<sub>3</sub>濃度間で差はみられなかった。注意力試験中、時間による信号検出率の低下がみられ、曝露開始後90~105分、105~120分における信号検出率は60~75分よりも低かった。

O<sub>3</sub>曝露の注意力全般への影響と視覚システムへの影響を分離するため、男性8人、女性6人に対して強弱の発信音を用いた聴覚信号検出試験(実験 II)を行った結果、症状への影響については、視覚試験同様、0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露で最も重度であった。アラート試験では0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露における信号検出率は他の濃度の曝露に比べ低かったが、誤検出率には差はなかった。1時間の聴覚注意力試験においては全ての曝露において時間経過による検出率低下があったが、曝露濃度間、性別間では差はなく、誤検出率には時間、O<sub>3</sub>濃度による差はなかった。O<sub>3</sub>曝露の影響が低信号比ではみられないものの高信号比のアラート試験ではみられたため、信号と非信号の比率を1:6と信号の比率を上げた1時間の視覚注意力試験を男性4人、女性1人に対して、室内空気曝露、0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露下で行った(実験 III)。その結果、0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露で室内空気曝露と比べ信号検出率が低下した。また、0.75 ppm O<sub>3</sub>曝露では最初の15分間の信号検出率がそれ以降よりも高く、時間の経過とともに検出率は減少した。誤検出率はO<sub>3</sub>曝露と空気曝露間、経過時間、ともに差はみられなかった。

Gliner *et al.* (1980)は、O<sub>3</sub>曝露による精神運動機能 (Psychomotor Performance) 試験中の脳波 (EEG) への影響をスペクトルを用いた判別分析 (Discriminant Function Analysis) によって調査した。被験者は20~27歳の5人(男性4人、女性1人)で全員が非喫煙者である。

曝露時間は2時間であり、1週間以上の間隔を空けて室内空気、0.75 ppm O<sub>3</sub> を無作為な順に曝露した。曝露中、最初の45分で電極を取り付け、15分の休憩期間を対照期間とし、その後、光による信号(明)、非信号(暗)を判別、報告する1時間の視覚注意力試験を行い、EEGを測定した。(実験I)

EEGのスペクトルを用いて判別分析をおこなった結果、被験者全体ではO<sub>3</sub>曝露と室内空気曝露の間での判別は不可で正しく特定できたのは事象の57%のみであったが、個々の被験者では73~90%を判別できた。O<sub>3</sub>曝露下の試験有無での比較でも被験者全体では個人と比較して判別率は低かったものの、他の比較と比べると判別率は高かった。室内空気下、O<sub>3</sub>曝露下で行った試験それぞれの前半と後半の比較では判別率は62%、65%であった。以上の実験では、被験者全体において室内空気曝露とO<sub>3</sub>曝露との間、注意力試験前半と後半の間での判別ができなかったため、より複雑な試験に対しO<sub>3</sub>曝露中のEEG変化の感受性が上昇するか否か、追加実験を行った。

追加実験(実験II)の被験者は18~25歳の男性5人であり、室内空気、0.3ppmO<sub>3</sub>、0.75ppmO<sub>3</sub>を無作為な順で135分曝露した。曝露中、最初の30分で電極を取り付け、続く1時間45分の間、EEGを測定しながら7分割した第1~第3、第5~第7期間に視覚反応時間試験のみ又は視覚反応時間試験と聴覚注意力試験を組み合わせた試験を実施し、第4期間は休憩した。EEGのスペクトルについて判別分析を行った結果、判別率は室内空気と0.3ppmO<sub>3</sub>との間、室内空気と0.75ppmO<sub>3</sub>との間で72%となったのが最高であり、O<sub>3</sub>曝露は安静時、注意力試験実施時ともにEEGに整合的な影響を与えていないようであった。試験有無の比較では室内空気曝露下での判別率は79%、0.75ppmO<sub>3</sub>曝露下では65%となり、O<sub>3</sub>濃度が高いほど判別率は悪化した。

Arab *et al.* (2002)は、抗酸化物質(カロチノイド)がO<sub>3</sub>による酸化ストレスを軽減するか、又、肺傷害の保護作用を有するか調査した。被験者は18~35歳の健康な非喫煙者23人(男性21人、女性2人)で、野菜ジュース摂取群11人、プラセボ群12人であった。被験者は、野菜や果物の摂取量を少なく制限した食生活を全体として3週間続け、1週間経過時点でろ過空気曝露を受けた。その後、野菜ジュース摂取群はビタミンC、ビタミンE、野菜ジュースを2週摂取し、プラセボ群はプラセボとオレンジソーダを2週間摂取した後、O<sub>3</sub>曝露を受けた。ろ過空気、O<sub>3</sub>の曝露時間は2時間であり、O<sub>3</sub>の曝露濃度を0.4 ppmとした。曝露中、体表面積当たりの分時換気量を20 L/min/m<sup>2</sup>とした間欠運動(運動15分、休憩15分)を行った。曝露の前後に呼吸機能(FEV<sub>1</sub>、FVC)を測定し、採血を行い末梢血リンパ球のDNA傷害(Comet Assay)を評価した。また、曝露後にBALFを採取し、肺泡マクロファージ中のカロチノイド類の含有量と肺上皮細胞のDNA傷害を評価した。呼吸機能(FEV<sub>1</sub>、FVC)と炎症マーカーの結果はSamet *et al.* (2001)で報告したが、野菜ジュース摂取群では、FEV<sub>1</sub>とFVCの低下がそれぞれ30%と24%小さかったが、炎症マーカーは野菜ジュース摂取群とプラセボ群で差はみられなかった。末梢血リンパ球のDNA傷害については、O<sub>3</sub>曝

露、抗酸化物摂取の影響はいずれもみられなかった。肺上皮細胞の DNA 傷害については、プラセボ群において O<sub>3</sub> 曝露後に一本鎖切断が 20%増加したが、野菜ジュース摂取群では一本鎖切断に変化はなかった。本研究ではリコピンの効果と他のカロチノイドや抗酸化物の効果と区別することはできなかったが、野菜ジュースに含まれるカロチノイドは主にリコピンであり、野菜ジュース摂取後の肺胞マクロファージに含まれるカロチノイドの 55%はリコピンであった。また、野菜ジュース摂取後、肺胞マクロファージの含有リコピン濃度はベースライン時から 12%増加した。

Tank *et al.* (2011)は、O<sub>3</sub> 曝露による気道炎症が筋交感神経活動に及ぼす影響を調査するため、健康者に O<sub>3</sub> を曝露する実験を行った。対象者は 22~47 歳の健康者 14 人（男性 11 人、女性 3 人）であり、FEV<sub>1</sub>>80%かつ事前のスクリーニング試験において 3 時間の 0.250 ppm O<sub>3</sub> 曝露により曝露開始から 6 時間後に痰中好中球が 10%以上増加する人とした。被験者は、二重盲検クロスオーバー試験により、3 時間、清浄空気あるいは 0.250 ppm O<sub>3</sub> の曝露を受けた。曝露中、自転車エルゴメーターによる 15 分間の運動と 15 分間の休憩を繰り返し、分時換気量が 20 l/min/m<sup>2</sup> となる間欠運動を行った。曝露開始から 6 時間後に痰、5、7、24 時間後に血液をそれぞれ採取し、3、6、24 時間後に呼吸機能検査を行った。また、曝露終了から 19~22 時間後には、安静時、深呼吸時、最大吸気息止め時、バルサルバ手技時の心電図、指血圧、上腕血圧、呼吸、心拍出量、筋交感神経活動 (MSNA) を記録し、採血 (ノルアドレナリン、アドレナリン濃度) を行った。O<sub>3</sub> 曝露により、痰中の好中球数の増加がみられ、好中球による気道炎症が示された。FEV<sub>1</sub> 及び FVC は、実験チャンバー退出直後の測定では低下したが、曝露開始 24 時間後には影響はみられなかった。全身性炎症の兆候についても同様に、O<sub>3</sub> 曝露開始 5 時間後の血中好中球数の増加がみられた。一方、循環器系の指標の平均値 (SEM) については、安静時心拍数 (清浄空気曝露 : 59 (2) bpm、O<sub>3</sub> 曝露 : 60 (2) bpm)、収縮期血圧 (清浄空気曝露 : 121 (3) mmHg、O<sub>3</sub> 曝露 : 121 (2) mmHg)、拡張期血圧 (清浄空気曝露 : 71 (2) mmHg、O<sub>3</sub> 曝露 : 71 (2) mmHg)、心拍出量 (清浄空気曝露 : 7.42 (0.29) L/min、O<sub>3</sub> 曝露 : 7.98 (0.60) L/min)、血漿ノルアドレナリン濃度 (清浄空気曝露 : 213 (21) pg/ml、O<sub>3</sub> 曝露 : 202 (16) pg/ml) 及び血漿アドレナリン濃度 (清浄空気曝露 : 23 (3) pg/ml、O<sub>3</sub> 曝露 : 23 (3) pg/ml) は、清浄空気曝露と O<sub>3</sub> 曝露で同程度であり、いずれも期間調整後も O<sub>3</sub> 曝露による影響はみられなかった。安静時及び深呼吸時の HRV (TP、LF、HF、LF/HF)、血圧変動 (LF-SBP)、圧受容体反射の指標についても、清浄空気曝露と O<sub>3</sub> 曝露で同程度であり、いずれも期間調整後も O<sub>3</sub> 曝露による影響はみられなかった。また、筋交感神経活動についても O<sub>3</sub> 曝露による影響はみられなかった。

Finkenwirth *et al.* (2014)は、急性 O<sub>3</sub> 曝露が人のリンパ球の DNA 鎖切断を増加させるか調べた。被験者は 37 人の健康な非喫煙男性であり、対照群 19 人 (年齢中央値: 25 歳)、O<sub>3</sub> 曝露群 18 人 (年齢中央値: 23.5 歳) とした。ろ過空気又は 0.21 ppm O<sub>3</sub> を 2 時間曝露した。曝

露中、被験者は100Wの自転車エルゴメーターで15分間のサイクリングを2回行った。曝露直前、曝露終了30分後と4.5時間後に採血を行い、末梢血リンパ球におけるDNA一本鎖切断を調べ、DNA鎖切断ファクター (strand scission factor) を求めた。その結果、曝露終了30分後と4.5時間後に測定した対照群とO<sub>3</sub>曝露群のstrand scission factor値に差はみられなかった (30分後 p=0.08、4.5時間後 p=0.80)。これらの結果は、曝露後のいずれの時点でもDNA損傷の増加がみられなかったことを示した。急性の0.21 ppm O<sub>3</sub>曝露による末梢血リンパ球のDNA損傷増加はみられなかった。

Holland *et al.* (2015)は、O<sub>3</sub>曝露により被験者の末梢血リンパ球において細胞遺伝学的傷害が生じるか否かを検討した。被験者は18~50歳の非喫煙者22人 (男性10人、女性12人) である。被験者には軽症喘息患者10人が含まれたが健康で、軽症喘息を除く肺疾患や心血管系、血液系の病歴はなかった。ろ過空気、0.100 ppm O<sub>3</sub>、0.200 ppm O<sub>3</sub>の3種類の4時間曝露を3週間以上の間隔を空けて無作為な順で実施した。曝露中はトレッドミル又は自転車エルゴメーターによる運動30分と休憩30分を反復する間欠運動を行った。運動負荷は換気量20 L/min/m<sup>2</sup>となるように設定された。曝露直前、及び曝露終了後20時間時点で採血し、cytokinesis-block micronucleus Cytome assayを行い、小核、核質架橋の頻度を計測した。血圧、心拍数、心電図検査を曝露前、曝露直後、曝露終了20時間後に行った。また、BALF採取、気管支鏡検査は曝露終了20時間後に実施した。

O<sub>3</sub>曝露により小核、ないし小核2以上の細胞の割合の濃度依存的な増加、アポトーシス細胞数の増加 (p=0.033) がみられた。曝露前後の小核誘発変化は0.100 ppm O<sub>3</sub>ではろ過空気の約2倍、0.200 ppm O<sub>3</sub>では約7倍であった。BALF中の好中球数はろ過空気曝露と比較し0.100 ppm O<sub>3</sub>曝露で増加し (p=0.09)、0.200 ppm O<sub>3</sub>曝露では更に増加した (p=0.05)。好中球数の増加とO<sub>3</sub>曝露の相乗的影響の有無を調べるため一般化ロジスティック回帰モデルを用いた結果、それぞれ小核頻度増加と関連がみられたが (O<sub>3</sub>は p<0.0001、好中球数は p=0.033) 互いに独立した影響であった。ろ過空気曝露での運動後にも小核、核質架橋の頻度、アポトーシス、壊死細胞数の増加がみられ、運動も重要な酸化ストレス誘発要因であることが示唆された。O<sub>3</sub>曝露による濃度依存的な細胞遺伝学的傷害が示された。

Miller *et al.* (2016)は、メタボローム解析により人におけるオゾン誘導の代謝異常を調査し、ラットで報告されている影響との整合性を立証すると共にタンパク質以外の新規バイオマーカーを特定することを目的とした研究を行った。被験者は、現在喫煙していない健康な19~33歳の男性20人、女性4人 (平均25.6歳) である。被験者は全員運動習慣を有しており、運動習慣レベル別の人数は、軽度 (90~180分/週) 2人、中度 (180~360分/週) 9人、高度 (>360分/週) 13人であった。ろ過空気及び0.3 ppm O<sub>3</sub>をいずれも午前中に、2週間以上の間隔を空け無作為順に、盲検によるクロスオーバー曝露を実施した。曝露時間は2時間であり、曝露中、休憩15分と自転車エルゴメーターによる体表面積1m<sup>2</sup>当たり25 L/minの

運動 15 分を反復する間欠運動を行った。曝露終了後 1 時間以内に採血し、血清中の代謝物についてメタボローム解析を行い、インスリン、レプチン、IL-6、TNF- $\alpha$ 、コルチゾール、コルチコステロン、グルコース、トリグリセリド、コレステロール等の濃度を調べた。曝露直後の血圧、心拍数の測定も行った。なお、心機能、呼吸機能、炎症マーカー等については Devlin *et al.* (2012)にて報告した。

O<sub>3</sub> 過剰空気曝露後の血清中のグルコース、トリグリセリド、コレステロール、IL-6、TNF- $\alpha$  の濃度、血圧、心拍数に差はなかった。血清中レプチン、インスリンの濃度、インスリン抵抗性 (HOMA-IR) にも差はなかった。

ストレスホルモンであるコルチゾール、コルチコステロンの血清中濃度は O<sub>3</sub> 曝露後、ろ過空気と比較し上昇した (各々 1.31、2.00 倍)。コルチコステロン代謝物である 11-デヒドロコルチコステロンが 1.62 倍 ( $p=0.0003$ ) に増加した一方、コルチゾンは大きな増加はない (1.08 倍,  $p=0.0157$ ) ことから、視床下部-下垂体-副腎系が関与していることが示唆された。

被験者の BMI、運動習慣レベル、性別とストレスホルモン、脂質代謝物の O<sub>3</sub> 誘導性変化との間に相関はみられなかった。グルコース、トリグリセリド、コレステロールの O<sub>3</sub>、ろ過空気曝露後の血清中濃度との間にも相関はみられなかった。

ヒトの血清中で検出、特定されている 663 化合物のうち 85 の生化学物質はろ過空気と比較し O<sub>3</sub> 曝露後に高く、36 物質は低く、変化傾向を示した生化学物質もあった (増加 23 物質、低下 29 物質)。経路エンリッチメント解析により 7 の生化学経路 (スフィンゴ脂質代謝、内因性カンナビノイド合成、脂肪酸代謝、 $\beta$  酸化、ジカルボン酸代謝、ステロイドホルモン合成、リン脂質代謝) について O<sub>3</sub> の影響がみられた。これらの経路はすべて脂質代謝と関連している。

血清中の中・長鎖遊離脂肪酸、モノアシルグリセロール、脂肪分解のマーカであるグリセロールは O<sub>3</sub> 曝露後にろ過空気と比較し増加した (グリセロールは 1.34 倍,  $p=0.0072$ )。さらに血清中の様々なリゾ脂質濃度がろ過空気曝露後と比較し O<sub>3</sub> 曝露後に上昇したことから、膜リン脂質の加水分解が脂肪酸生成に寄与した可能性が考えられた。また、脂肪酸の  $\beta$  酸化代謝物濃度の上昇と、脂肪酸酸化の最終産生物質であるアセチル補酵素 A の代替指標であるアセチルカルニチンの上昇傾向 ( $p=0.079$ ) がみられた。長鎖脂肪酸 (炭素数 > 12) はカルニチンと結合し、ミトコンドリアのマトリックスに運ばれ、エネルギー産生のため  $\beta$  酸化を受ける。カルニチン濃度の低下 (0.92 倍,  $p=0.0102$ ) がみられたことから、アシルカルニチン抱合の使用量増加のマーカである可能性がある。また、ジカルボン酸塩、アゼライン酸塩、2-ヒドロキシグルタル酸塩が増加したことから、 $\beta$  酸化プロセスが飽和し、脂肪酸の  $\omega$  酸化に移行した可能性が考えられた。これらの結果は、2 時間の間欠運動条件下での O<sub>3</sub> 曝露後に、エネルギー産生のための脂肪酸酸化が亢進したことを裏付け、肝臓の脂肪酸  $\beta$  酸化マーカであるケトン体の 3-ヒドロキシブチル酸塩の増加 (1.82 倍,  $p=0.0451$ ) からも示された。

ろ過空気と比較し O<sub>3</sub> 曝露後には血清中の n-3 系及び n-6 系の多価不飽和脂肪酸が増加し

ており、これらは炎症メディエーターの産生に寄与した可能性が考えられた。

O<sub>3</sub> の急性曝露は人においても、げっ歯類と同様にストレスホルモンの上昇と末梢における脂質代謝の全体的変化を生じさせた。この影響は、神経ホルモンを介したストレス反応経路の活性化による可能性が示唆された。O<sub>3</sub> 曝露による代謝への影響について、げっ歯類で報告された影響と人への影響との整合性が立証された。また、メタボローム解析から O<sub>3</sub> 曝露の新たなバイオマーカー（コルチゾール、遊離脂肪酸、モノアシルグリセロール、リゾ脂質）が示された。