

光化学オキシダントの健康影響に関する動物実験知見のとりまとめ結果 (案)

<目次>

1		
2		
3	光化学オキシダントの健康影響に関する動物実験知見のとりまとめ結果 (案)	
4		
5		
6	<目次>	
7	1. 光化学オキシダントの健康影響に関する動物実験知見の概要.....	2
8	2. O ₃ の影響に関する知見の整理結果.....	5
9	2.1. 呼吸器系への影響に関する知見の整理結果.....	5
10	2.1.1. 上皮傷害及び形態学的影響に関する知見.....	6
11	2.1.2. 呼吸器発達への影響に関する知見.....	10
12	2.1.3. 炎症反応に関する知見.....	13
13	2.1.4. 酸化ストレスに関する知見.....	26
14	2.1.5. 呼吸機能に関する知見.....	30
15	2.1.6. 気道反応性に関する知見.....	33
16	2.1.7. 宿主防御障害及びアレルギー反応等に関する知見.....	40
17	2.1.8. その他の呼吸器系への影響に関する知見.....	46
18	2.1.9. 呼吸器影響における感受性要因に関する知見.....	46
19	2.1.10. 他の物質との複合曝露による影響に関する知見.....	55
20	2.2. 循環器系への影響に関する知見の整理結果.....	61
21	2.2.1. 数時間から2週間未満の曝露による循環器系への影響に関する知見.....	62
22	2.2.2. 2週間から数カ月の曝露による循環器系への影響に関する知見.....	66
23	2.3. 内分泌系及び代謝系への影響に関する知見の整理結果.....	67
24	2.3.1. 数時間から2週間未満の曝露による内分泌系及び代謝系への影響に関する知見	
25	見	67
26	2.3.2. 2週間から数カ月の曝露による内分泌系及び代謝系への影響に関する知見 ..	69
27	2.4. 神経系への影響に関する知見の整理結果.....	69
28	2.4.1. 数時間から2週間未満の曝露による神経系への影響に関する知見.....	70
29	2.4.2. 2週間から数カ月の曝露による神経系への影響に関する知見.....	73
30	2.5. 変異原性・遺伝子傷害性及び発がん性に関する知見の整理結果.....	76
31	2.5.1. 数時間から2週間未満の曝露による影響に関する知見.....	77
32	2.5.2. 2週間から1年の曝露による影響に関する知見.....	77
33	2.6. 生殖及び成長発達への影響に関する知見の整理結果.....	78
34	2.6.1. 妊娠期間中の曝露による仔動物への影響に関する知見.....	79

1	2.6.2.	妊娠期間中の曝露による親動物への影響に関する知見.....	80
2	2.6.3.	妊娠期間中以外の曝露による影響に関する知見.....	80
3	2.7.	その他の影響に関する知見の整理結果.....	81
4	3.	PANの影響に関する知見の整理結果.....	82
5	3.1.1.	数時間から2週間未満の曝露による影響に関する知見.....	82
6	3.1.2.	2週間から数カ月の曝露による影響に関する知見.....	83

9 1. 光化学オキシダントの健康影響に関する動物実験知見の概要

10 動物実験分野におけるオゾン (O₃)、パーオキシアセチルナイトレート (PAN) の曝露
11 による健康影響に関する科学的知見については、第2回光化学オキシダント健康影響評価
12 検討会(令和4年5月17日開催)において示した方法(参考資料4)に基づいて収集した。

13 収集した知見数としては、O₃を曝露した動物実験研究に関する知見が460報、PANを曝
14 露した知見が7報であり、表1から表4では、各知見において評価している影響ごとに、
15 曝露量の指標(曝露指標)、影響の評価指標(影響評価指標)とその知見数を示した。収
16 集したこれらの知見についてはその概要を「光化学オキシダントの健康影響に関する動物
17 実験知見の概要一覧(案)」(参考資料2-1)としてとりまとめた。

18 なお、とりまとめにあたっては、数時間から2週間未満の曝露による健康影響を解析し
19 た研究、2週間から数カ月の期間での曝露による健康影響を解析した研究、妊娠期間中又
20 は妊娠前の曝露による健康影響を解析した研究、に区分して整理した。

21 評価されている影響としては、O₃については呼吸器系への影響、循環器系への影響、内
22 分泌系及び代謝系への影響、行動影響を含む神経系への影響、変異原性・遺伝子障害性、
23 発がん性、生殖機能への影響、妊娠中または妊娠前の曝露による親動物への影響及び仔動
24 物の成長発達への影響、上記の影響に分類されないその他の影響がある。PANについては、
25 呼吸器系への影響、死亡、変異原性がある。

26 これらの研究においては、マウス、ラット、サル等の哺乳類や実験細胞に対して、研究
27 ごとに設定された濃度でO₃やPANを曝露した群と、その対照群との比較を行うことでO₃
28 やPANの影響の評価を行っている。実験動物への曝露方法としては、吸入曝露をおこなっ
29 たものが主である。また、これらの研究では、分子レベルのメカニズム解明を目的として、
30 環境中濃度と比べて高濃度の曝露(O₃:0.05~6.0ppm、PAN:0.2~175ppm)している報告
31 が多い。

32 本資料では、収集した知見のうち、疫学知見及び人志願者実験による知見の生物学的妥
33 当性を裏付ける影響メカニズムについて、新たな視点を提供する知見を整理した。

34

(案)

1

表1 数時間から2週間未満のO₃曝露による影響に関する知見数

影響	呼吸器系	循環器系	神経系	内分泌系及び代謝系	遺伝子傷害性	その他の影響
曝露指標	曝露時間（数時間曝露の単回または2週間未満にわたる反復）×曝露濃度の組み合わせ					
影響評価指標	<ul style="list-style-type: none">気道上皮傷害、上皮絨毛喪失、粘液細胞化生炎症・酸化ストレスマーカーおよび関連細胞数の変化呼吸数・換気量の変化、気道反応性の変化肺胞マクロファージの貪食能低下、肺クリアランス、抗原提示活性の変化上記の関連分子及び遺伝子の発現の変化	<ul style="list-style-type: none">心拍数、心拍変動、血圧の変化血圧関連生理活性物質の変化	<ul style="list-style-type: none">中枢神経系における、炎症及び酸化関連分子の変化、ニューロンの活性化、変性学習・記憶試験成績の低下	<ul style="list-style-type: none">血糖値、中性脂肪、コレステロール及び関連ホルモンの変化耐糖能異常、インスリン抵抗性の変化上記の関連分子及び遺伝子の発現変化	<ul style="list-style-type: none">DNAの切断や損傷	<ul style="list-style-type: none">皮膚の抗酸化物質の変化、創傷治癒の遅延、など
知見数	267報	21報	20報	9報	7報	21報

2

3

(案)

1

表2 2週間から数カ月のO₃曝露による影響及び妊娠期間中の曝露影響に関する知見数

影響	呼吸器系	循環器系	神経系	内分泌系及び代謝系	変異原性・発がん	生殖系及び成長発達
曝露指標	曝露時間（数時間曝露の2週間から数カ月の反復）×曝露濃度の組み合わせ					曝露時間（主に妊娠期間中の単回または反復曝露）×曝露濃度の組み合わせ
影響評価指標	<ul style="list-style-type: none">• 上皮基底膜肥厚化、扁平上皮化生、若齢期曝露による気道分岐や直径の変化• 炎症・酸化ストレスマーカーおよび関連細胞数の変化• 呼吸数・換気量の変化、気道反応性の変化• 肺クリアランス、抗原提示活性の変化• 上記の関連分子及び遺伝子の発現の変化	<ul style="list-style-type: none">• 心拍数、心拍変動の変化	<ul style="list-style-type: none">• 中枢神経系における、炎症及び酸化関連分子の変化、ニューロンの活性化、ニューロン数の変化• 学習・記憶試験成績の低下	<ul style="list-style-type: none">• 高血糖、耐糖能異常、糖代謝ホルモンの変化	<ul style="list-style-type: none">• 遺伝子変異・発がん	<ul style="list-style-type: none">• 親動物における血糖値、遊離脂肪酸の変化、精子数、産子数の変化• 胎児及び出生仔の発達の変化
知見数	64報	8報	20報	3報	6報	15報

2

1 表3 数時間から2週間未満のPAN曝露による影響に関する知見数

影響	呼吸器系	その他
曝露指標	曝露時間（数時間曝露の単回または2週間未満の反復） ×曝露濃度の組み合わせ	
影響評価指標	<ul style="list-style-type: none"> 炎症 細菌感染性肺炎及びそれによる死亡 	<ul style="list-style-type: none"> 死亡、DNA損傷、遺伝子変異、自発活動強度
知見数	2報	5報

2

3

表4 2週間から数カ月のPAN曝露による影響に関する知見数

影響	呼吸器系	その他
曝露指標	曝露時間（数時間曝露の2週間から数カ月の反復） ×曝露濃度の組み合わせ	
影響評価指標	<ul style="list-style-type: none"> 炎症、上皮過形成 気管支炎及びそれによる死亡 	<ul style="list-style-type: none"> 行動異常、成長遅延、血中成分の変化
知見数	2報	1報

4

5 2. O₃の影響に関する知見の整理結果

6 2.1. 呼吸器系への影響に関する知見の整理結果

7 収集した呼吸器系への影響に関する動物実験知見における報告内容としては、O₃への数
8 時間から2週間未満の曝露による呼吸器系への影響については、呼吸機能の変化、気道反
9 応性の亢進、上皮傷害、炎症及び酸化ストレスの誘発、アレルギー反応の亢進についての
10 報告がある。呼吸機能の変化については、呼吸数の増加や換気量の低下が報告されており、
11 これらの変化は自律神経反射を引き起こす呼吸器の感覚神経の活性化に起因しており、迷
12 走神経C線維が神経ペプチドであるサブスタンスPの放出を介して、上皮傷害、気管支収
13 縮とそれによる気道反応性の亢進に関与していることが報告されている。また、気道反
14 応性の亢進についても、ムスカリンM2受容体の阻害による副交感神経経路の活性化が関与
15 していることが報告されている。さらに、アレルゲン感作によるアレルギーモデルマウス
16 においても、O₃による傷害、炎症、酸化ストレス、杯細胞化生、粘液産生が促進されるこ
17 とが報告されている。

18

19 O₃への2週間から数カ月の曝露による呼吸器系への影響については、上皮傷害、炎症及
20 び酸化ストレスの誘発、気道発達の阻害及びリモデリング、気道反応性の亢進、宿主防御
21 障害及びアレルギー反応の亢進、についての報告がある。O₃の長期間にわたる曝露は、成
22 体動物において炎症、傷害、酸化ストレスを誘発し、上皮過形成や線維化などの形態学的
23 変化を引き起こす。また、生後間もないげっ歯類やサルを用いた研究においても、気道の
24 直径や長さの減少、気道ニューロンの減少、扁平上皮化生及び上皮肥大などの気道発達を
25 妨げる形態学的な変化が報告されている。特に、生後間もないアレルギー性気道疾患モデ
26 ルのサルを用いた研究において、気道発達の阻害とともに、気道反応性の亢進や血中の免

1 疫グロブリン (Ig)E 及びヒスタミン量の増加といった、アレルギー反応の亢進が報告されて
2 いる。

3
4 米国 EPA による Integrated Science Assessment (ISA) for Ozone and Related Photochemical
5 Oxidants (2020) においては、O₃ による呼吸器系への影響のメカニズムについて整理がな
6 されており、吸入された O₃ が気道上皮被覆液 (ELF) において二次酸化生成物を生成し、
7 気道上皮を傷害し、炎症誘発性マクロファージなどの自然免疫系を活性化し、炎症、酸化
8 ストレスを誘発させること、O₃ 曝露が呼吸器の感覚神経を活性化させ、肺機能の低下や気
9 道反応性の亢進を引き起こすこと、持続的な O₃ 曝露が上皮過形成や肺の線維化などの形態
10 学的な変化を生じさせ、幼若な動物においては気道の正常な発達を阻害すること、が取り
11 まとめられている。

12 13 2.1.1. 上皮傷害及び形態学的影響に関する知見

14 O₃ への数時間から 2 週間未満の曝露では、上皮細胞の壊死や脱落とそれに伴う増殖促進、
15 線毛の喪失、粘液物質の産生増加、エオタキシン及び一酸化窒素 (NO) などのメディエータ
16 ーの産生増加、アルカリホスファターゼ活性の増加が報告されている。特に、2 週間未満
17 の曝露では非線毛上皮細胞と杯細胞の肥大化、上皮肥大や過形成などの形態学的な変化が
18 報告されている。

19 O₃ への 2 週間以上の曝露では上皮過形成、粘液細胞化生、非線毛上皮細胞増加、気道壁
20 の肥厚化、肺の線維化などの変化がみられ、これらの変化は曝露終了後も持続したことが
21 報告されている。

22 これらの影響に関与する細胞及び分子としては、好中球、血小板活性化因子、(C-X-C モ
23 チーフ) ケモカイン受容体 (CXCR)-2、クララ細胞分泌タンパク質 (CCSP)、サブスタンス P
24 が上皮傷害や炎症に、自然リンパ球が上皮過形成および粘膜細胞化生に、B 細胞性リンパ
25 腫 (BCL)-2 が化生細胞の除去に、形質転換増殖因子(TGF)-β が肺の線維化に関与しているこ
26 とが報告されている。

27 28 2.1.1.1. 数時間の曝露による影響に関する知見

29 Ishii *et al.* (1998)は、Brown Norway ラットに 1.2 ppm O₃ を 6 時間曝露した。好酸球及び好
30 塩基球に対するケモカインであるエオタキシン陽性の肺胞マクロファージおよび気管支上
31 皮細胞が増加した。

32 Laskin *et al.* (1998a)は、雌の Sprague-Dawley ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。曝
33 露から 24 時間後に単離した肺胞マクロファージおよび II 型上皮細胞において NO 産生量が
34 増加した。

35 Bhalla *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。気管支肺
36 胞洗浄液 (BALF) 中のアルカリホスファターゼとフィブロネクチンの活性が時間依存的に

1 上昇した。アルカリホスファターゼは肺のII型上皮細胞と BALF 中の多形核白血球 (PMN)
2 で測定されたが、マクロファージでは測定されなかった。

3 Longphre *et al.* (1999)は、C57BL/6J マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露により
4 BALF 中の PMN、タンパク質、上皮細胞が増加するとともに、肺上皮細胞の増殖が亢進
5 した。これらの反応は血小板活性化因子受容体拮抗剤の曝露前投与により抑制された。

6 Matsumoto *et al.* (1999)は、Hartley モルモットに 3 ppm O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露は
7 BALF における NE-PI 濃度、好中球数、気道上皮細胞数、マクロファージ数を増加させた
8 が、好中球エラストラーゼ阻害剤である ONO-5046 の前処置により、BALF 中の好中球数およ
9 び上皮細胞数の増加、吸入アセチルコリン (ACh) に対する気道反応性の亢進が抑制された。

10 Vesely *et al.* (1999a)は、Wistar ラットに 1.0 ppm の O₃ を 8 時間曝露した。O₃ 曝露により鼻
11 腔、気管支、終末細気管支における上皮細胞の壊死や脱落がみられるとともに、上皮細胞
12 の増殖に伴う 5-ブロモデオキシウリジン (BrdU) の取り込みが増加した。また、抗好中球抗
13 体投与群では BrdU の取り込みが顕著に少なかった。

14 Sterner-Kock *et al.* (2000)は、Sprague-Dawley ラット、フェレット、アカゲザルに、1 ppm
15 の O₃ を 8 時間曝露した。好中球の浸潤、気道上皮細胞の壊死が誘発された。

16 Jang *et al.* (2002)は、BALB/c マウスに 0.12~2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。肺胞上皮細胞
17 が用量依存的な増加を示し、気道閉塞の指標である気道過敏性 (Penh) と相関を示した。こ
18 の影響は 0.12 ppm の曝露濃度においてもみられた。

19 Wagner *et al.* (2002)及び Wagner *et al.* (2009)は、雄の Brown Norway ラットに 0.5、1 ppm O₃
20 を 8 時間曝露した。O₃ 曝露は卵白アルブミン (OVA) 投与によるアレルギー性鼻炎における
21 上皮の炎症反応を増悪させ、鼻の粘液物質産生を増多させた。

22 Johnston *et al.* (2005b)は、BALB/cJ マウスおよびインターロイキン(IL)-8 の受容体である
23 CXCR-2 の欠損マウスに 1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。曝露 24 時間後に BALF 中の好中球
24 数、上皮細胞数、総タンパク量の増加がみられたが、CXCR-2 欠損マウスでは好中球及び
25 上皮細胞の増加が抑制された。また、曝露 3 時間後では両マウスで気道反応性の亢進がみ
26 られたが、24 時間後では CXCR-2 欠損マウスでのみ亢進が失われた。

27 Plopper *et al.* (2006)は、野生型マウス及び CCSP 欠損マウスにろ過空気又は 0.2、1.0 ppm
28 の O₃ を 8 時間曝露した。CCSP 欠損マウスでは、野生型マウスと比較して O₃ 曝露後の BALF、
29 肺組織中の O₃ 残存量は減少したが、1.0 ppm の O₃ 曝露後では、近位気道、気道中間部、終
30 末細気管支における組織傷害が増悪し、壊死細胞数の増加、繊毛細胞、非繊毛細胞の減少
31 がみられた。

32 Oslund *et al.* (2008)は、O₃ 曝露により増加するサブスタンス P のレセプターであるニュー
33 ロキニン (NK)-1 受容体拮抗薬を投与した Wistar ラットに 1 ppm O₃ を 8 時間曝露した。NK-
34 1 受容体拮抗薬投与により気管支上皮細胞の細胞死と細胞増殖が抑制されたが PMN 浸潤に
35 は影響しなかった。

1 Bao *et al.* (2013)は、BALB/c マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ は近位気道およ
2 び遠位気道において上皮細胞密度の低下を生じさせるとともに、上皮における粘液物質の
3 産生を増加させた。

4 Sunil *et al.* (2013)は、雌の Wistar ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。細気管支上皮に
5 おいて急速 (3 時間以内) および持続的 (最大 72 時間) に、細胞過多、線毛の喪失、細気
6 管支の壊死などを含む組織学的変化が生じた。また、気道の変化の結果として肺の剛性の
7 増加を引き起こした。

8 9 2.1.1.2. 2 週間未満の曝露による影響に関する知見

10 Fanucchi *et al.* (1998)は、雄の F344/N ラットに 0.5 ppm の O₃ を 1 日 8 時間、3 日間曝露し
11 た後、鼻腔内にエンドトキシンを 1 日 1 回、2 日間投与した。O₃ 曝露により鼻腔移行上皮
12 における上皮細胞密度、粘液細胞密度、鼻腔移行上皮内の粘液物質、rMuc-5AC mRNA
13 レベルが増加した。

14 Cho *et al.* (1999b)は、ラットに O₃ を 0.5 ppm で 8 時間/日、3 日間曝露した。O₃ 曝露により
15 鼻腔移行上皮における粘液細胞化生の指標である上皮細胞数、粘液細胞数、及び粘液物質
16 の蓄積が増加した。これらの指標は、ラットに対する抗好中球処置により低下した。

17 Cho *et al.* (2000)は、344/N ラットに 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で 1 日又は 3 日間曝露した。
18 O₃ 曝露は気道における粘液物質ムチン mRNA の発現を増加させたが、抗好中球処置による
19 低減効果はみられなかった。

20 Wagner *et al.* (2001a, b)、Wagner *et al.* (2003)は、10~12 週齢の雄の FISHER344/N ラットに
21 O₃ (0.5 ppm, 8 時間/日、3 日間) とエンドトキシンを複合曝露した。複合曝露により、それ
22 ぞれの単独曝露よりも、上皮傷害、粘液細胞増加、炎症反応が亢進した。

23 van Bree *et al.* (2002)は、雄の Wistar ラットに 0.4 ppm の O₃ を夜間 12 時間/日で単回又は連
24 続 5 日間反復曝露した後、5~10 日間の回復期間においてから再度 O₃ を曝露した。単回曝
25 露では BALF 中の総タンパク、アルブミン、フィブロネクチン、IL-6、好中球数が増加し
26 たが、5 日間の反復曝露ではこれらの反応は消失した。上皮細胞の増殖については、単回
27 曝露群と 5 日間反復曝露の群いずれにおいても、回復期間後においても増加がみられた。

28 Gohil *et al.* (2003)は、C57BL/6 マウスにろ過空気又は 1 ppm の O₃ を夜間 8 時間/日で連続
29 3 日間曝露した。マウスの肺組織において DNA 合成や細胞増殖に関わる遺伝子の発現が増
30 大した。

31 Oyarzun *et al.* (2005)は、ブレオマイシン投与により肺線維症を誘発したラットを用いて、
32 0.25 ppm O₃ を 5 または 60 日間曝露した。5 日間の曝露では肺におけるブレオマイシン誘導
33 性の炎症及び線維化が悪化したが、60 日間の曝露では悪化がみられなかった。

34 Muramatsu *et al.* (2006)は、雄の Dunkin Hartley モルモットに 3 ppm の O₃ を 2 時間曝露し
35 た。空気曝露群と比較して、O₃ 曝露群ではヒスタミン吸入による肺抵抗上昇の閾値
36 (PC200 : 肺抵抗をベースラインの 200% に上昇させるメサコリンの濃度) に低下がみられ

1 た。ヒスタミン吸入は気道上皮の絨毛上皮細胞及び杯細胞を肥大させ、上皮組織を肥厚化
2 させたが、その変化は空気/ヒスタミン群よりも O₃/ヒスタミン群でより顕著であった。

3 Kumagai *et al.* (2016)は、9-11 週齢の雄の C57BL/6 (野生型、Rag2 欠損、Rag2 及び Il2rg の
4 二重欠損) マウスに 0.8 ppm の O₃ を 4 時間/日で 9 日間曝露した。自然リンパ球欠乏型の
5 Rag2 と Il2rg の二重欠損マウスでは、鼻腔における炎症や上皮過形成および粘膜細胞化生や
6 ヘルパーT2 細胞 (Th2) あるいは 2 型自然リンパ球関連転写物の過剰発現がみられなかった。

7 8 2.1.1.3. 2週間から数カ月の曝露による影響に関する知見

9 Pinkerton *et al.* (1998)は、4~5 週齢の F344/N ラットに 1 ppm O₃ を 3 か月間曝露した。気
10 管、気管支において非線毛上皮細胞の増加と、中心小葉での肺リモデリングが確認された。
11 同様の影響は過去に行われた 20 か月間の曝露においてもみられた。

12 Tesfaigzi *et al.* (1998)は、F344/N ラットに 0.5 ppm O₃ を 8 時間/日で 1~6 ヶ月曝露した。O₃
13 曝露により鼻腔上皮における粘液細胞数が増加するとともに、アポトーシス調整因子であ
14 る BCL-2 についても発現が増加し、回復期間を経て粘液細胞数が減少すると、BCL-2 の発
15 現も減少した。

16 Dormans *et al.* (1999)は、7 週齢の雄の Wistar RIV:Tox ラット、NIH マウス、Hartley Crl:
17 (HA) BR モルモットに 0.2、0.4 ppm O₃ を 3~56 日間連続で曝露した。NIH マウスにおいて
18 のみ濃度及び曝露時間依存的な細気管支上皮の肥厚がみられ、ラット及びモルモットでは
19 56 日間の曝露後に肺胞管の線維形成がみられた。

20 Harkema *et al.* (1999)は、10~14 週齢の雄の F344/N ラットに清浄空気又は 0.25、0.5 ppm
21 の O₃ を 8 時間/日、7 日/週で 13 週間曝露した。曝露終了の 8 時間後、4、13 週間後の鼻腔組
22 織の解析により、0.5 ppm の O₃ を曝露したラットの近位上顎甲介及び遠位上顎甲介部位に
23 おいて、曝露終了 8 時間後に上皮過形成及び粘液物質の蓄積が顕著に増加し、4 及び 13 週
24 間後には徐々に減少していったものの、清浄空気曝露群よりも高い値であった。O₃ 曝露後、
25 13 週間回復させた後に 0.5 ppm の O₃ を 8 時間曝露した。増殖細胞数は清浄空気曝露群及び
26 0.25 ppm の O₃ 曝露群でのみ増加し、近位上顎甲介及び遠位上顎甲介部位における粘液物質
27 の蓄積は、0.5 ppm の O₃ を慢性的に曝露したラットでのみ増加した。

28 van Bree *et al.* (2001)は、気道及び肺における影響として、ラットに 0.4 ppm O₃ を 56 日間
29 曝露した。ラットの肺小葉部の炎症、肺小葉部中核部及び細気管支の分岐部中隔の肥厚、
30 コラーゲンの増加、細気管支炎が進行し、曝露終了後の回復期にも継続した。

31 Schelegle *et al.* (2003b)は、70 日齢以上の Sprague-Dawley ラットに 1 ppm O₃ の 8 時間/日
32 の 5 日間曝露と 9 日間のろ過空気曝露を最大 4 サイクル継続した。O₃ 曝露による上皮およ
33 び間質における細胞増殖の増加については曝露サイクルごとに影響が低減したが、終末細
34 気管支におけるリモデリングについては曝露サイクルごとの増加がみられた。

1 Oyarzun *et al.* (2005)は、ブレオマイシン投与により肺線維症を誘発させた 30 日齢のラッ
2 トに 0.25 ppm O₃ を 5 または 60 日間曝露した。5 日間の曝露ではブレオマイシン誘導性の肺
3 の炎症及び線維化が悪化した。60 日間の曝露では悪化がみられなかった。

4 Katre *et al.* (2011)は、6~8 週齢の C57BL/6 マウスに 0.5 ppm O₃ を 8 時間/日で 5 日間曝露
5 させ、それを 5 または 10 サイクル繰り返した。O₃ 曝露により気道上皮被覆液中の TGF-β お
6 よびプラスミノゲン活性化抑制因子 (PAI)-1 が増加し、コラーゲンおよび α-smooth muscle
7 actin の気道壁への蓄積が生じた。また、TGF-β 受容体阻害剤 IN-1233 投与により線維化が
8 阻害された。

9 10 2.1.2. 呼吸器発達への影響に関する知見

11 呼吸器の発達過程への影響については、主に生後間もないラットやアカゲザルに O₃ を数
12 週間から数カ月反復曝露させた研究があり、出生後の O₃ 曝露がアレルギー反応の増強と気
13 道反応性の亢進を促し、気道の正常な発達を阻害することが報告されている。

14 生後数日のラットに O₃ を数週間反復曝露させた研究では、気道の直径や長さの減少、気
15 道ニューロンの減少がみられた。

16 生後 1 年未満の乳児アカゲザルを用いた研究では、O₃ の数カ月の反復曝露により、気道
17 の分岐回数の減少、終末細気管支の幅と長さの減少、気道上皮の過形成、好中球浸潤を伴
18 う壊死性鼻炎、鼻上皮の萎縮、扁平上皮化生、上皮肥大、気道過敏性の亢進、好酸球数の
19 増加、気道壁の肥厚や内腔の狭小化など気道構造の変化、肺胞数及び肺胞の毛細血管表面
20 密度の減少と肺胞容量の増加がみられた。また、これらの影響には、曝露後から数か月で
21 消失するものと、曝露後も影響が持続するか、より悪化するものがあった。

22 アレルギー性喘息モデルとしてハウスダストダニ抗原 (HDMA) 感作を行った乳児アカゲ
23 ザルを用いた研究では、HDMA と O₃ の複合的な反復曝露により、血清 IgE や血清ヒスタミ
24 ン量の増加、気道への好酸球の浸潤、気道抵抗性や気道反応性の増加などのアレルギー反
25 応がみられるとともに、基底膜領域におけるコラーゲン層の薄化、肺における粘液細胞増
26 加、気道上皮中の神経密度減少、基底膜の肥厚化、気管内の神経密度増加、末梢血や気道
27 のリンパ球亜群の数や分布の変化がみられた。

28 29 2.1.2.1. げっ歯類を用いた研究

30 Hunter *et al.* (2011)は、6-28 日齢のラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。PD10 および
31 PD15 における気管支 BALF の神経成長因子 (NGF) 量および PD6 における上皮細胞の NGF
32 mRNA 発現量が増加した。また PD6 における NGF 曝露後に、PD28 で O₃ に曝露した。気道
33 平滑筋および感覚ニューロンにおけるサブスタンス P 神経支配が増加した。

34 Lee *et al.* (2011)は、生後 7 日齢の雄の Sprague-Dawley ラットに、O₃ 単独 (0.5 ppm の O₃
35 を 6 時間/日、週 2 日または週 5 日) または O₃ とエチレン、酸素、アルゴンの混合ガスの燃
36 焼により生じた粒子 (PFP, 6 時間/日、週 5 日) の複合曝露を 25 日齢までおこない、成長

1 後の肺構造を観察した。O₃を週5日で曝露した群では、気道の直径や長さの減少がみられ
2 たが、PFPとの複合曝露ではこれらの影響はみられなかった。

3 Zellner *et al.* (2011)は、生後5日齢のFischer 344ラットに2 ppmのO₃を3時間曝露させ、
4 生後10~28日目に下神経節および頸神経節の気道ニューロンを観察した。O₃に曝露された
5 ラットでは生後21日においてろ過空気対照群に比べて少ない総ニューロン数を示し、出生
6 後早期におけるO₃曝露により感覚ニューロンの発達が抑制された。

7 8 2.1.2.2. アカゲザルを用いた研究

9 Fanucchi *et al.* (2006)は、1か月齢の雄のアカゲザルに0.5 ppmのO₃を8時間/日で5日間
10 曝露させ、ろ過空気を9日間曝露させるサイクルを11回反復した。O₃曝露群では対照群と
11 比較して、肺胞までの気道分岐回数の減少、終末細気管支の幅と長さの減少、気道上皮の
12 過形成、平滑筋束の向きの変化がみられた。

13 Carey *et al.* (2007)は、90、180日齢の雄のアカゲザルに0.5 ppmのO₃を8時間/日で連続5
14 日間曝露、又はろ過空気の9日間曝露とO₃の連続5日間曝露から成る2週間のサイクルを
15 5回反復した。いずれのO₃曝露パターンにおいても、好中球浸潤を伴う壊死性鼻炎、鼻上
16 皮の萎縮がみられ、この反応は中鼻道で特に強かった。

17 Plopper *et al.* (2007)は、30日齢のアカゲザルにO₃曝露(0.05 ppm、8時間/日、5日間曝露)
18 +ろ過空気曝露(9日間)を11サイクル実施し、生後12か月まで評価した。気道過敏性の
19 亢進や、好酸球数の増加、気道壁の肥厚や内腔の狭小化など気道のリモデリングがみられ、
20 アレルギー反応が増長された。また、肺の発達期間に有害物質の曝露により障害を生じると、
21 その後曝露を止めても障害は残るか成長とともに悪化した。

22 Carey *et al.* (2011)は、1か月齢のアカゲザルに0.5 ppmのO₃を8時間/日×5日間と9日間
23 のろ過空気曝露を11サイクル曝露した。O₃曝露は鼻腔における持続性の炎症、扁平上皮化
24 生、上皮肥大を引き起こした。

25 Avdalovic *et al.* (2012)は、1か月齢の雄のアカゲザルに対し、O₃の0.5 ppmを8時間/日、
26 5日曝露したのち清浄空気に9日間曝露して1サイクルとし、これを5または11サイクル
27 繰り返した。3か月齢時点ではO₃曝露により肺胞数及び肺胞の毛細血管表面密度の減少と
28 肺胞容量の増加がみられたが、6か月齢時点ではそれらの影響は消失した。

29 30 2.1.2.3. HDMA感作を伴うアカゲザルを用いた研究

31 Evans *et al.* (2003)は、HDMA感作または非感作の30日齢のアカゲザルに、HDMAまたは
32 /及び0.5 ppmのO₃を8時間/日で5日間曝露させ、その後9日間ろ過空気で回復させるサイ
33 クルを11回反復した。HDMA+O₃曝露群では基底膜領域におけるコラーゲン層の薄化がみ
34 られ、またO₃曝露群及びHDMA+O₃曝露群ではパーレカンおよび線維芽細胞増殖因子
35 (FGF)-2の減少、基底細胞と線維芽細胞のFGF-2発現増加、基底細胞におけるSyndecan-4発
36 現増加と線維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)-1発現減少、がみられた。

1 Schelegle *et al.* (2003a)は、HDMA 感作または非感作の 30 日齢のアカゲザルに、HDMA または/及び 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で 5 日間曝露させ、その後 9 日間ろ過空気で回復させる
2 サイクルを 11 回反復した。HDMA+O₃ 曝露群では、アレルギー症状の指標である血清 IgE
3 や血清ヒスタミン量、気道への好酸球の浸潤が増加するとともに、気道抵抗性や反応性が
4 増加した。また、肺における粘液細胞が増加した。

5
6 Evans *et al.* (2004)は、生後 14、28 日に HDMA による感作を行った 1 か月齢の雄のアカゲ
7 ザルに 0.5 ppm O₃ の単独または HDMA との複合的な 5 日間曝露 (8 時間/日) と 9 日間休息
8 のサイクルを 11 回反復した後、6 か月間の回復期間を設けた。回復期間中も HDMA 感作は
9 継続した。11 回の曝露サイクル後、O₃ 単独曝露群では基底膜の肥厚化がみられたが、
10 HDMA との複合曝露群では肥厚化と薄層化が不規則に生じていた。回復期間後では、O₃ 単
11 独曝露群における肥厚化は有意ではないものの持続しており、HDMA 複合曝露群では薄層
12 化が消失し肥厚化だけが持続していた。

13 Larson *et al.* (2004)は、HDMA 感作または非感作の 30 日齢のアカゲザルに、HDMA また
14 は/及び 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で 5 日間曝露させ、その後 9 日間ろ過空気で回復させるサ
15 イクルを 11 回反復した。O₃ 単独、HDMA 単独、HDMA+O₃ 曝露によって第 6~7 分岐の気
16 道上皮における神経密度が減少した。

17 Joad *et al.* (2006)は、1 か月齢アカゲザルに HDMA または/及び 0.5 ppm O₃ を 5 日間 (8 時
18 間/日) 曝露後に 9 日間ろ過空気下に置くサイクルを 11 回反復した。気管支では HDMA 単
19 独曝露、HDMA+O₃ 複合曝露により、メサコリンに対する細気管支の気道反応性が亢進し
20 た。また、気管支では HDMA 単独曝露、HDMA+O₃ 複合曝露により、細気管支では
21 HDMA 単独曝露により、好酸球数が増加した。

22 Kajekar *et al.* (2007)は、30 日齢の雄のアカゲザルに HDMA または/及び 0.5 ppm O₃ の 5 日
23 間曝露と 9 日間のろ過空気曝露を 11 サイクル繰り返した後、6 か月間の回復期間を置いて
24 1 歳時点で気管内の神経密度、神経分布を調べた。ろ過空気群と比較して、HDMA 群では
25 2.5 倍、O₃ 群では 3 倍、HDMA+O₃ 群では 4 倍、神経密度が増加した。

26 Miller *et al.* (2009)は、1 か月齢の雄のアカゲザルに HDMA または/及び 0.5 ppm O₃ 曝露と
27 休息期間の組み合わせを最長 22 週間反復曝露した。O₃ や HDMA への曝露は末梢血や気道
28 のリンパ球亜群の数や分布に影響を与えた。

29 Murphy *et al.* (2012)は、6 か月齢の雄のアカゲザルに HDMA または/及び 0.5 ppm O₃ の 5 日
30 間曝露 (8 時間/日) と 9 日間のろ過空気曝露を 12 か月齢になるまで曝露した後、中間気道
31 (第 5~8 分岐) より摘出した気道組織を解析した。NK-1 受容体遺伝子発現レベルは曝露
32 群間で差がみられなかったが、オゾンによる *in vitro* 処置により O₃ 曝露群の気道組織に
33 における NK-1 受容体遺伝子発現が増加した。

34

2.1.3. 炎症反応に関する知見

O₃ の曝露による炎症反応については、炎症反応の時間的な推移、関連細胞及び関連分子についての報告がある。

O₃ 曝露による血管透過性亢進や多形核白血球 (PMN) 浸潤の時間的な推移については、曝露濃度、時間、動物種によって異なるが、数時間の単回曝露では曝露直後または数時間後から反応が生じ、20~48 時間後においても影響の持続がみられること、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中タンパク質増加に先んじて PMN の浸潤がピークを迎えることが報告されている。また、数週間から数か月の反復曝露では、曝露による血管透過性亢進や PMN 浸潤は経時的に低減していくことが報告されている。

O₃ 曝露により生じる炎症反応に関与している細胞としては、肺胞マクロファージ、好中球、好酸球、肥満細胞及びリンパ球についての報告がある。肺胞マクロファージについては、ホスホリパーゼ A (PLA)₂、シクロオキシゲナーゼ (COX)-1 及び COX-2 の増加、食欲作用の低下、誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) 発現及び NO 産生の変化、腫瘍壊死因子 (TNF)- α 、エオタキシン及び Toll 様受容体 (TLR)4 の増加などが報告されており、炎症反応の初期段階において関与していることが報告されている。一方、O₃ 曝露により炎症誘発性マクロファージとともに抗炎症性マクロファージが活性化されることも報告されている。好中球については、O₃ 曝露により BALF 中での増加が報告されているが、気道反応性の亢進や胚細胞の粘液分泌過多、肺における透過性の亢進に関与しているという報告がある一方、気道上皮傷害の回復に関与しているという報告もある。好酸球については、O₃ 曝露により BALF 中や粘膜中で増加し、その動員にはエオタキシンが関与していること、エオタキシンは上皮細胞及びマクロファージで産生が増加することが報告されている。肥満細胞については、O₃ 曝露による透過性の亢進やマクロファージ、PMN の浸潤に関与しているという報告がある一方で、気道反応性の亢進には関与していないという報告もある。自然リンパ球については、O₃ 曝露による好酸球性炎症や粘液細胞化生、マクロファージの誘導に関与していることが報告されている。

O₃ 曝露による炎症の関連分子については、TNF- α 、TLR4、分裂促進因子活性化タンパク質リン酸化酵素 (MAPK) を介した経路が O₃ 曝露による上皮傷害、各種炎症性メディエーターの発現促進、透過性亢進、PMN 浸潤、気道反応性亢進に関与していることが報告されている。O₃ 曝露による炎症の誘発に関与しているインターロイキン (IL) としては、IL-1 β 、IL-6、IL-13、IL-17A、IL-33、ケモカインとして血小板活性化因子、IL-8、KC、マクロファージ炎症性タンパク質 (MIP)-1、MIP-2 α 、エオタキシン、単球走化性タンパク質 (MCP)-1、フラクタルカイン等が報告されている。炎症に抑制的に作用している分子としては、IL-10、細胞外基質分解酵素 (MMP)-9、アディポネクチン、CCSP、メタロチオネイン I/II、ビタミン E が報告されている。また、CC ケモカインリガンド (CCL)2、アディポネクチン、ガレクチン (GAL)-3 についてはマクロファージの誘導や活性化に、分化抗原群 (CD)18、神経成長因子 (NGF)、CXCR2、カテプシン S、オステオポンチンについては好中球の浸潤亢

1 進、核因子赤芽球 2 関連因子 2 (NRF2) については抑制に関与していることが報告されてい
2 る。

3 4 2.1.3.1. 経時的变化

5 ■ 数時間～2週間未満の曝露による影響

6 Bhalla *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。BALF 中
7 の総タンパク質濃度、アルカリホスファターゼ及びフィブロンネクチンの活性が曝露直後ま
8 たは 4 時間後から増加し、12 時間後にピークに達した。タンパク質濃度とフィブロンネク
9 ン活性については 24 時間後でも増加が持続していた。

10 Johnston *et al.* (1999a)は、8 週齢の雄の C57BL/6J マウスに、0.3 ppm の O₃ を 24、96 時間、
11 1.0 ppm を 1～4 時間、あるいは 2.5 ppm を 2～24 時間曝露した。0.3 ppm の O₃ の 24 及び 96
12 時間曝露ではエオタキシン、MIP-1β、MIP-2 遺伝子発現が増加した。1.0 ppm の O₃ の 4 時
13 間曝露、および 2.5 ppm の O₃ の 2 時間曝露と 4 時間曝露ではエオタキシン、MIP-1β、MIP-
14 2、IL-6、メタロチオネイン遺伝子発現が増加した。いずれの曝露濃度、曝露時間でも、
15 IL-12、IL-10、IL-1α、IL-1β、IL-1Ra には変化はなかった。

16 Bhalla and Gupta (2000)は 6～8 週齢の雄の Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ を 3 時間
17 曝露した。白血球遊走作用を持つ MIP-2 と細胞間接着分子 (ICAM)-1 の mRNA 発現が 4 時
18 間後にピークとなった。また、曝露後 8 時間後で BALF 中の PMN 数がピークに達し、曝露
19 20 時間後でも増加が持続していた。

20 Johnston *et al.* (2001)は、8 週齢の雄の C57BL/6J マウスに、1.0 ppm の O₃ を 24 時間曝露し
21 た。BALF 中の好中球は O₃ 曝露により増加し、曝露後も高い値を継続した。肺胞マクロフ
22 ザージは曝露によって減少し、曝露後も低い状態を継続した。曝露終了 4 時間後にはメタ
23 ロチオネイン、MIP-2、MCP-1 の発現が上昇していたが、24 時間後では MCP-1 でのみ上昇
24 が持続していた。メタロチオネインと MIP-2 の上昇は、好中球のピークよりも先行してい
25 た。

26 Toward and Broadley (2002)は、雄の Dunkin-Hartley モルモットに 2 ppm の O₃ を 90 分間曝
27 露した。O₃ 曝露後 12、24、48 時間時点において、BALF 中のマクロファージ、好酸球、好
28 中球の増加および肺浮腫がみられた。

29 30 ■ 2週間～数か月の曝露による影響

31 Dormans *et al.* (1999)は、ラット、マウス、モルモットに 0.2 または 0.4 ppm の O₃ を 3～56
32 日間連続で曝露した。げっ歯類 3 種のすべてにおいて、O₃ 濃度と関連した小葉中心性の炎
33 症が起こり、3 日間の曝露後に最大となった後、最終的に大部分の炎症病態は消失した。

34 Schelegle *et al.* (2003b)は、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ の 8 時間/日、5 日間曝露
35 と 9 日間のろ過空気曝露を最長 4 サイクル継続した。O₃ 曝露により中間気管支、細気管支、
36 肺胞管の炎症および上皮傷害、BALF 中の好中球、白血球、好酸球、マクロファージ数の

1 増加、上皮および間質における細胞増殖の増加がみられたが、その影響は曝露サイクルごと
2 とに低減した。

3 van Bree *et al.* (2001)は、Wistar ラットに 0.4 ppm の O₃ を 56 日間曝露した。BALF 中の
4 PMN やタンパク質の増加は曝露 1 日目に最大になり、7 日目までには終息したが、細気管
5 支の分岐部中隔の肥厚やコラーゲンの増加は曝露期間中 56 日目まで持続し、曝露終了後も
6 完全に回復しなかった。

7 8 2.1.3.2. 炎症性細胞

9 ■ 肺胞マクロファージ

10 Bouthillier *et al.* (1998)は、Fischer 344 ラットに 0.8 ppm の O₃ を 4 時間/日で、1 日又は 3 日
11 曝露した。O₃ 曝露により BALF 中の好中球とタンパク質は増加したが、肺胞マクロファージ
12 の NO 産生と食作用は減少した。

13 Laskin *et al.* (1998a)は、Sprague-Dawley ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。曝露から
14 24 時間後に単離した肺胞マクロファージおよびII型肺胞上皮細胞において iNOS タンパク質
15 が増加するとともに、転写因子 Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
16 (NF-κB) の活性が亢進された。また、O₃ 曝露による NO 産生および iNOS タンパク質の増加
17 は、NF-κB の活性阻害剤により抑制された。

18 Laskin *et al.* (1998b)は、雌の Sprague-Dawley ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露し、O₃ 曝
19 露終了の 3~48 時間後に肺胞マクロファージを単離して評価した。O₃ 曝露によって肺胞マ
20 クロファージからの NO 産生が増加し、リポ多糖類 (LPS) 及びインターフェロン (IFN)-γ の
21 存在下では、より増加が誘導されたが、iNOS の阻害剤である aminoguanidine を加えるとそ
22 の影響は抑制された。

23 Koike *et al.* (1998)及び Koike *et al.* (1999)は、雄の Wistar ラットにろ過空気又は 1.0 ppm の
24 O₃ を 24 時間/日で 3 日間曝露した。O₃ 曝露ラットから回収した BALF で肺胞マクロファージ
25 を処理すると、肺胞マクロファージによるリンパ節細胞増殖の抑制作用及び NO 産生が
26 阻害された。

27 Ishii *et al.* (1998)は、Brown Norway ラットに 1.2 ppm O₃ を 6 時間曝露した。エオタキシン
28 陽性の肺胞マクロファージおよび気管支上皮細胞が増加した。

29 Hoffer *et al.* (1999)は、雌の Sprague-Dawley ラットに清浄空気又は 1 ppm の O₃ を 2 時間、
30 又は 4 時間、曝露させたところ、曝露の 18 時間後に BALF 中の PMN が増加し、肺胞マク
31 ロファージの接着分子 CD18 の発現が減少した。

32 Laskin *et al.* (2002)は、NF-κB p50 欠損マウス、iNOS 欠損マウス及び銅/亜鉛型スーパーオ
33 キシドディスムターゼ (Cu/ZnSOD) 過剰発現マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃
34 曝露したマウスから採取した肺胞マクロファージでは NF-κB が活性化されるとともに PI3K、
35 PKB が増加したが、NF-κB p50 欠損マウスから採取した肺胞マクロファージでは PI3K、
36 PKB の増加はみられなかった。また、O₃ 曝露により肺胞マクロファージの iNOS、NO、ペ

1 ルオキシ亜硝酸産生が増加したが、iNOS 欠損マウス及び Cu/ZnSOD 過剰発現マウスではこ
2 の影響はみられず、BALF 中のタンパク質の増加も生じなかった。

3 Fakhrzadeh *et al.* (2004a)は、NF- κ B p50 欠損マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。NF- κ B
4 p50 欠損マウスでは O₃ 曝露による肺胞マクロファージにおける C/EBP、NO、TNF- α の増加
5 がみられなかった。

6 Fakhrzadeh *et al.* (2004b)は、8-16 週齢の雌の C57BL/6 マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露
7 した。O₃ 曝露 48 時間後に肺胞マクロファージにおける PLA2、COX-1、COX-2 が増加した。
8 また、Cu/ZnSOD 過剰発現マウスでは、O₃ 曝露による肺における脂質過酸化物の産生増加
9 や、肺胞マクロファージのサイトゾルホスホリパーゼ A (cPLA)2 産生、NO 及び TNF- α 産生
10 や NF- κ B 活性化が減少した。

11 Hollingsworth *et al.* (2007)及び Garantziotis *et al.* (2010)は、C57BL/6J マウスに 2 ppm の O₃
12 を 3 時間曝露した。O₃ 曝露によりマクロファージ上の TLR4 発現が増加した。

13 Sunil *et al.* (2012)は、雌の Wistar ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。炎症誘発性/細
14 胞毒性マクロファージおよび抗炎症性/創傷治癒マクロファージの両方が、O₃ 誘発性の酸化
15 ストレスおよび組織損傷への応答の初期に活性化された。

16 Sunil *et al.* (2015)は、雌の Gal-3 欠損マウスおよび C57BL/6J マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時
17 間曝露した。O₃ 曝露は肺における炎症誘発性 (Gal-3+/iNOS+) および抗炎症性 (MR-1+)
18 のマクロファージ数を増加させるが、Gal-3 欠損マウスでは、炎症誘発性マクロファージの
19 増加は減弱し、抗炎症性マクロファージの増加が増大したことを報告し、GAL-3 が炎症誘
20 発性マクロファージの蓄積と毒性を促進する役割を果たすとした。

21 Francis *et al.* (2017a)は、野生型または CC モチーフ型ケモカイン受容体 (CCR)2 欠損マウ
22 スに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。野生型マウスでは、肺における炎症性 (CCR2+、
23 CD11b+ Ly6Chi、iNOS+) および抗炎症性 (MR-1+) マクロファージの増加がみられた。
24 CCR2 欠損マウスでは、炎症性マクロファージ数の増加、炎症性サイトカインである IL-1 β
25 および TNF- α の発現増加が抑制され、抗炎症性マクロファージが減少し、CX3CL1 とその
26 受容体である CX3CR1 が増加したことから、CCR2 が O₃ 曝露後の肺における炎症誘発性マ
27 クロファージおよび抗炎症性マクロファージの蓄積の両方で役割を果たしているとした。

29 ■ 多核白血球 (PMN) 等

30 好中球

31 Matsumoto *et al.* (1999)は、モルモットに 3 ppm の O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露は気道反
32 応性の増強、BALF における好中球数、気道上皮細胞数、好中球エラスターゼとその阻害
33 物質である α 1-protease inhibitor の複合体の増加を引き起こした。好中球エラスターゼ阻害
34 剤である ONO-5046 の投与は O₃ 曝露による BALF 中の好中球数および上皮細胞数の増加と
35 気道反応性の上昇を抑制した。

1 Vesely *et al.* (1999a)は、抗ラット好中球ウサギ血清を腹腔内投与して好中球を減少させた
2 雄の Wistar ラットに 1.0 ppm の O₃ を 8 時間曝露した。好中球減少ラットでは通常ラットと
3 比較して O₃ 曝露による鼻腔、気管支、細気管支における上皮細胞の壊死が多く、上皮細胞
4 の増殖に伴う BrdU の取り込みが少なかった。

5 Nogami *et al.* (2000)は、モルモットに 3.0 ppm の O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露は気管にお
6 ける杯細胞の粘液分泌過多および BALF 中の好中球数増加を誘発し、好中球エラストラーゼ
7 阻害剤 ONO-5046 の投与はこれらの影響を抑制した。

8 Bassett *et al.* (2001)は、免疫抑制剤であるシクロホスファミドと抗好中球血清を投与した
9 Sprague-Dawley ラットに 1、2 ppm O₃ を 3 時間または 0.8 ppm O₃ を 24、48 時間曝露した。
10 免疫抑制剤と抗好中球血清処理により、O₃ 曝露による BALF 中の好中球浸潤とアルブミン
11 の上昇が減少した。

12 好中球浸潤に関連する分子

13 Hyde *et al.* (1999)は、アカゲザルにろ過空気又は 0.8 ppm の O₃ を 8 時間曝露させた。好中
14 球表面分子 CD18 抗体投与により O₃ 曝露による好中球の流入が抑制されるとともに、壊死
15 した気道上皮細胞の集積がみられた。

16 Hoffer *et al.* (1999)は、雌の Sprague-Dawley ラットに清浄空気又は 1 ppm の O₃ を 2 時間、
17 又は 4 時間曝露させたところ、曝露 18 時間後に、BALF 中の PMN が増加し、O₃ の曝露に
18 より血液中の PMN の接着分子 CD11b の発現が減少した。

19 Miller *et al.* (2001)は、CD18 に対する抗体を投与したアカゲザルに 0.8 ppm O₃ を 8 時間曝
20 露した。CD18 抗体投与は O₃ 曝露による好中球浸潤と気管支上皮損傷及びその後の上皮修
21 復や上皮細胞の増殖及び修復に関連する接着分子であるインテグリン β6 の発現を抑制した。

22 Graham *et al.* (2001)は、C57BL/6、CCSP-NGF 過剰発現および神経成長因子受容体 (NGFR)
23 欠損マウスに 1.5 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。CCSP-NGF 過剰発現マウスでは C57BL/6 と
24 比較して O₃ 曝露による BALF 中の好中球数が増加したが NGFR 欠損マウスでは減少した。
25 野生型および CCSP-NGF 過剰発現マウスでは、O₃ 曝露前に NK-1、NK-2 および NK-3 受容
26 体拮抗薬で処理することで好中球炎症のレベルが低下した。また、CCSP-NGF 過剰発現マ
27 ウスでは野生型マウスよりも O₃ 曝露による BALF 中のケモカイン増加が大きかった。

28 Johnston *et al.* (2005c)は、IL-8 の受容体であるケモカイン受容体 CXCR2 を欠損させたマ
29 ウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露 24 時間後の BALF 中の好中球数と上皮細胞数
30 の増加、気道反応性の亢進が CXCR2 欠損マウスでは抑制された。

31 Oslund *et al.* (2008)は、O₃ 曝露により増加するサブスタンス P のレセプターである NK-1
32 受容体拮抗薬を投与した Wistar ラットに 1 ppm O₃ を 8 時間曝露した。NK-1 受容体拮抗薬投
33 与により O₃ 曝露による気管支上皮細胞の細胞死と細胞増殖が抑制されたことから、サブス
34 タンス P は O₃ 曝露による上皮傷害を促進するが、PMN 浸潤には影響しないことを示した。
35

1 Williams *et al.* (2009)は、BALB/c マウスに 3 ppm O₃ を 3 時間曝露した。カテプシン S 阻害
2 剤の投与は、O₃ 曝露による BALF 中の好中球、IL-6、TNF- α の増加、気道反応性の亢進を
3 抑制した。

4 Barreno *et al.* (2013)は、オステオポンチン欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。野生
5 型マウスでは O₃ 曝露により BALF 中のオステオポンチンが増加し、オステオポンチン欠損
6 マウスでは O₃ 曝露による BALF 中の好中球数増加が抑制された。

7 Cho *et al.* (2013)は、Nrf2+/+および Nrf2 欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間または 0.3 ppm O₃
8 を 6~72 時間曝露した。O₃ 曝露により Nrf2+/+で肺における Nrf2 の発現が増加し、Nrf2 欠
9 損マウスでは Nrf2+/+と比較して、O₃ 曝露により BALF 中の好中球数、リンパ球数、総タ
10 ンパク質がより増加した。また、肺におけるグルタチオンペルオキシダーゼ (GPX)2、HO-
11 1、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(リン酸) キノン酸化還元酵素 (NQO)1 の mRNA
12 発現増加と肺組織中の脂質とタンパク質の酸化の増加、BALF 中グルタチオン (GSH) の増
13 加が抑制された。

14 好酸球

15 Ishii *et al.* (1998)は、Brown Norway ラットに 1.2 ppm O₃ を 6 時間曝露した。O₃ 曝露は肺胞
16 マクロファージおよび気管支上皮細胞におけるエオタキシンを増加させた。また、*in vitro*
17 試験においてエオタキシンタンパク質が好酸球に対する走化性活性を示した。

18 Toward and Broadley (2002)は、雄の Dunkin-Hartley モルモットに 2 ppm の O₃ を 90 分間曝
19 露した。O₃ 曝露により、BALF 中の好酸球数が増加した。

20 Schelegle *et al.* (2003b)、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm O₃ を 8 時間/日、5 日間の O₃ 曝露
21 と 9 日間のろ過空気曝露を最大 4 サイクル継続した。O₃ 曝露により BALF 中の好酸球数が
22 増加した。

23 Plopper *et al.* (2007)は、若齢アカゲザルに O₃ 曝露 (0.05 ppm、8 時間/日、5 日間曝露) +ろ
24 過空気曝露 (9 日間) を 11 サイクル実施した。O₃ 曝露により BALF 中の好酸球数が増加し
25 した。

26 Chou *et al.* (2011)は、3 ヶ月齢の雄のアカゲザルに 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で 5 日間また
27 は 9 日間曝露させるサイクルを 5 周繰り返すとともに、O₃ 曝露の 3~5 日目に HDMA エア
28 ロゾルを 2 時間/日で曝露した。HDMA と O₃ では異なるエオタキシン誘導により好酸球浸
29 潤が生じた。

30 Ong *et al.* (2016)は、6-8 週齢の雄の C57BL/6 マウスに 0.5 ppm の O₃ を 4 時間/日で 9 日間
31 曝露した。O₃ 曝露により粘膜浸潤好酸球の増加と鼻粘膜上皮リモデリングがみられた。

1 肥満細胞

2 Noviski *et al.* (1999)は、肥満細胞欠損マウス ($\text{Kit}^W/\text{Kit}^{W-v}$) に 1、3 ppm O_3 を 4 時間曝露し
3 た。肥満細胞欠損マウスでは野生型と比較して、 O_3 曝露による肺組織への PMN 浸潤が抑
4 制されるが、気道反応性の上昇には変化はみられなかった。

5 Kleeberger *et al.* (2001a)は、肥満細胞欠損マウス ($\text{Kit}^W/\text{Kit}^{W-v}$) に 0.26 ppm O_3 を 8 時間/日、
6 5 日/週、1~90 日間曝露した。肥満細胞欠損マウスでは O_3 曝露による BALF 中のマクロフ
7 ージ、上皮細胞、PMN、タンパク質の増加、及び肺組織及び鼻腔における細胞増殖の増
8 加が抑制された。

9
10 ■ 自然リンパ球

11 Kumagai *et al.* (2017)は、正常マウス、自然リンパ球非欠損 (Rag2 欠損) マウス、自然リ
12 ンパ球欠損 (Rag2 と Il2rg の二重欠損) マウスに 0.8 ppm の O_3 を 4 時間/日で 1 日または 9
13 日間連続曝露した。単回 O_3 曝露は、自然リンパ球の有無に関係なく、すべての系統のマウ
14 スにおいて好中球性炎症、気道上皮損傷、および修復 DNA の合成を引き起こした。対照的
15 に、9 日間の曝露は自然リンパ球非欠損マウスの肺でのみ好酸球性炎症と粘液細胞の化生
16 を誘導した。繰り返された O_3 の反復曝露は自然リンパ球非欠損マウスにおいて 2 型免疫と
17 気道粘液産生に関連する転写産物の mRNA 発現の増加を誘発した。 O_3 に繰り返し曝露され
18 た自然リンパ球欠損マウスでは、肺病変や 2 型免疫に関連する遺伝子発現の増加はみられ
19 なかった。

20 King *et al.* (1999)は、 $\gamma\delta$ 上皮内リンパ球欠損マウスに 1.5 ppm の O_3 を 8 時間曝露した。 $\gamma\delta$
21 リンパ球欠損マウスでは O_3 曝露による PMN やマクロファージの誘導が抑制され、びまん
22 性上皮壊死がみられた。

23 Mathews *et al.* (2015)は、10~13 週齢の雄の野生型または $\gamma\delta\text{T}$ 細胞欠損型マウスに、0.3
24 ppm の O_3 を 24~72 時間曝露した。 $\gamma\delta\text{T}$ 細胞が IL-17A を分泌し、マクロファージの極性化
25 が促進され、 O_3 誘発性炎症の解消に $\gamma\delta\text{T}$ 細胞が必要であることが示された。

26
27 2.1.3.3. 炎症関連分子

28 ■ 腫瘍壊死因子 (TNF) 及び Toll 様受容体 (Toll-like receptor; TLR)

29 TNF- α

30 Kleeberger *et al.* (2000) は、0.3 ppm O_3 を 48 時間曝露した O_3 高感受性の C57BL/6J マウス
31 と低感受性の C3H/HeJ マウスの量的形質遺伝子座の解析から、炎症誘発に関与する遺伝子
32 として 17 番染色体上の TNF を同定するとともに、透過性亢進に関与する遺伝子として 4 番
33 染色体上の TLR4 を同定した。

34 Cho *et al.* (2001) は、腫瘍壊死因子受容体 (TNFR) 欠損マウスに 0.3 ppm O_3 を 3、24、48 時
35 間曝露した。TNFR 欠損マウスでは野生型と比較して、 O_3 曝露による肺の上皮傷害及び炎

1 症病態が低減した。また、2 ppm O₃ を 3 時間曝露した場合には気道過敏性増加に低減がみ
2 られた。

3 Bhalla *et al.* (2002) は、TNF- α 抗体を投与した Sprague-Dawley ラットに 1 ppm O₃ を 3 時間
4 曝露した実験では、O₃ 曝露による PMN 浸潤と血管透過性亢進が抑制された。

5 Fakhrzadeh *et al.* (2004a) は、NF- κ B p50 欠損マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。NF- κ B
6 p50 欠損マウスでは O₃ 曝露による肺胞マクロファージにおける C/EBP、NO、TNF- α の増加
7 がみられなかった。

8 Cho *et al.* (2007) は、TNFR 欠損マウス、NF- κ B p50 欠損マウス、c-Jun N 末端キナーゼ
9 (JNK) 欠損マウスに 0.3 ppm の O₃ を 6、24、48 時間曝露した。いずれの遺伝子欠損マウス
10 においても野生型と比較して O₃ による肺における炎症性変化が抑制された。また、TNFR
11 欠損マウスでは、O₃ 曝露による NF- κ B、TRAF2、分裂促進因子活性化タンパク質リン酸化
12 酵素/アクチベータータンパク質 1 (MAPK/AP-1) 経路の活性化及び TNF- α 、リンホトキシン
13 (LT)- β 、MIP-2、IL-1 β 、ICAM-1 の発現についても抑制された。

14 Fakhrzadeh *et al.* (2008) は、TNF- α 欠損マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。TNF- α 欠
15 損マウスでは野生型と比較して、O₃ 曝露による肺胞マクロファージにおける p44/42 MAPK、
16 ホスホイノシチド 3-リン酸化酵素/タンパク質リン酸化酵素 B (PI3K/PKB) の発現増加が抑
17 制された。

19 TLR4

20 Williams *et al.* (2007b) は、TLR2 欠損マウス、TLR4 欠損マウス、MyD88 欠損マウスに 3
21 ppm O₃ を 3 時間曝露した。いずれの欠損マウスにおいても BALF 中の好中球数の増加、気
22 道反応性の亢進、肺組織における IL-6 と KC の mRNA 発現が抑制された。

23 Garantziotis *et al.* (2010) は、TLR4 欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。TLR4 欠損マ
24 ウスでは O₃ 曝露による気道過敏性の惹起と TNF- α などのサイトカイン増加が抑制されると
25 ともに、O₃ 曝露により増加する細胞外マトリックス分解物のヒアルロン酸の投与が TLR4
26 依存的に TNF- α などの炎症性サイトカイン類の産生を誘導したことが示された。

27 Bauer *et al.* (2011) は、TLR4 変異マウスおよびヒートショックプロテイン (HSP)70 欠損マ
28 ウスに 0.3 ppm O₃ を 6~72 時間曝露した。TLR4 変異マウスでは O₃ 曝露による HSP70 の発
29 現増加が抑制され、HSP70 欠損マウスでは O₃ 曝露による BALF 中の総タンパク質、PMNs
30 数、マクロファージ数、KC タンパク質、MIP-2 タンパク質の増加が抑制された。また、
31 TLR4 mRNA、Myd88 mRNA、Trif mRNA、AP-1 活性についても増加および亢進の抑制がみ
32 られた。

33 Gabehart *et al.* (2015) は、野生型及び TLR4 欠損マウスに 1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。
34 TLR4 欠損マウスでは、野生型と比較して O₃ 曝露による BALF における好中球増加および
35 CXCL(ケモカイン (C-X-C モチーフ) リガンド)1 の発現が抑制された。また、野生型の 6
36 週齢のマウスと比較して、1~3 週齢のマウスでは肺の TLR4 発現レベルが低かった。

1

2 分裂促進因子活性化タンパク質リン酸化酵素 (MAPK)

3 Williams *et al.* (2008a)は、野生型マウスに 3 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露により
4 BALF 中の p38 MAPK リン酸化活性化体が増加し、p38 MAPK 阻害剤である SD-282 の投与
5 により BALF 中の総細胞数、好中球数、COX-2、IL-6、IL-1 β の増加、気道反応性の亢進が
6 抑制された。

7 Damera *et al.* (2010)は、BALB/c マウスに 100 ppb O₃ を 4 時間曝露した。O₃ 曝露による
8 BALF 中の KC、IL-6、TNF- α 、好中球の増加が、PKC や MAPK の基質であるミリストイル
9 化アラニンリッチ C キナーゼ基質 (MARCKS) の阻害ペプチドの投与により抑制された。

10 Verhein *et al.* (2013)は、モルモットを p38/JNK MAPK 阻害剤で処置した後、2 ppm の O₃ を
11 4 時間曝露した。O₃ による BALF 中の好中球増加が p38/JNK MAPK 阻害剤により抑制され
12 た。

13 Williams *et al.* (2007a)は、雄の BALB/c マウスに 3 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露に
14 より JNK の活性化が誘導され、JNK 特異的阻害剤の投与は O₃ 曝露による BALF 中総細胞
15 数、好中球数の増加を抑制し、アセチルコリン誘導の肺抵抗増加を阻害した。O₃ 曝露は
16 IL-6、CCL-2、CXCL1、TNF- α の発現を増大させたが、JNK 阻害剤は TNF- α の発現のみ低
17 減させ、IL-6、CCL2 は更に発現が増大した。

18

19 ■ サイトカイン

20 炎症誘発性インターロイキン (IL)

21 Johnston *et al.* (2007a)は、IL-1R タイプ I 欠損マウスに 0.3 ppm の O₃ を 72 時間曝露した。
22 IL-1R タイプ I 欠損マウスでは、野生型と比較して O₃ 曝露による炎症が減弱し、IL-6 遺伝
23 子発現亢進がみられなかった。

24 Barker *et al.* (2015)は、8 週齢の雄の ICR マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露
25 により BALF 中の IL-1 β 、NGF、サブスタンス P が増加した。また、マウスへの IL-1 β の気
26 管内投与は BALF 中の NGF 及サブスタンス P 増加を引き起こした。

27 Yu *et al.* (2002a)は、IL-6 欠損マウスに 0.5 ppm の O₃ を 24 時間曝露した。野生型と比較し
28 て、IL-6 欠損マウスでは肺における BrdU の細胞標識増加や、CCSP の減少が抑制された。

29 Johnston *et al.* (2005b)は、IL-6 欠損マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露は野生
30 型マウスにおいて BALF 中のマクロファージ、好中球、上皮細胞、好酸球、リンパ球の割
31 合を増加させたが、IL-6 欠損マウスでは好中球の割合増加のみ抑制された。0.3 ppm での 3
32 時間曝露では、O₃ による気道反応性の亢進がみられたが、IL-6 欠損による影響はなかった。

33 Williams *et al.* (2008b)は、IL-13 欠損マウス、IL-4/13 欠損マウス、IL-13 過剰発現マウスに
34 3 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露による気道反応性および BALF 中の好中球数の増加は、
35 IL-13 欠損マウス、IL-4/13 欠損マウスでは野生型と比較して軽微であり、IL-13 過剰発現マ
36 ウスでは野生型よりも亢進された。

1 Brand *et al.* (2016)は、C57BL/6 マウス、IL-23 欠損マウス、IL-23 および IL-1 を発現する
2 Conventional dendritic cells (cDC) が欠損した Flt3l 欠損マウスに IL-1R1 拮抗薬アナキニラを
3 腹腔内投与した後、0.3 ppm の O₃ を 72 時間曝露した。O₃ 曝露により IL-23 が BALF 中の IL-
4 17A 増加に寄与していること、誘導に cDC を必要としないことが報告された。

5 Che *et al.* (2016)は、野生型、IL1R1 欠損、IL-17A 欠損マウスに 0.7 ppm の O₃ を 72 時間曝
6 露した。O₃ 曝露により好中球性気道炎症が生じるとともに、肺において IL-1 β 、IL-18、IL-
7 17A、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF)、IFN- γ 誘導タンパク質 10 (IP-10)、および BALF タ
8 ンパク質の増加がみられた。O₃ 誘発性 IL-17A 産生は主に $\gamma\delta$ -T 細胞で生じており、IL-17A
9 欠損マウスでは気道炎症の減少がみられた。

10 Michaudel *et al.* (2018)は、O₃ 曝露による肺の炎症や気道反応性に IL-33 およびその受容体
11 である ST2 の関与を検討するために、野生型、IL-33 欠損、ST2 欠損マウスに 1 ppm O₃ を 1
12 時間曝露させた。野生型マウスでは、O₃ 曝露により肺における IL-33 の増加、好中球の動
13 員、気道反応性の亢進がみられた。IL-33 欠損、ST2 欠損マウスでは O₃ 曝露による BALF
14 中の好中球増加がより増強されたが、ST2 欠損マウスでは O₃ 曝露による気道反応性の亢進
15 が抑制された。

16 Reinhart *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。IL-10 の
17 気管内投与は O₃ 曝露による透過性亢進と PMN 浸潤を軽減した。

18 Backus *et al.* (2010)は、IL-10 欠損マウスに 0.3 ppm O₃ を 24、48、72 時間曝露した。IL-10
19 欠損マウスにおいて O₃ 曝露後の BALF 中 PMN 数が野生型よりも高く、NF- κ B の DNA 結合
20 活性を示す転移についても欠損型マウスの方が高くなっていた。また、遺伝子発現解析に
21 より MIP-2、カテプシン E、血清アミロイド A3 などが O₃ および IL-10 依存性のメディエー
22 ターであるとされた。

23 ケモカイン

24 Longphre *et al.* (1999)は、C57BL/6J マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露によ
25 り BALF 中の PMN、タンパク質、上皮細胞が増加するとともに、肺上皮細胞の増殖が亢進
26 した。これらの反応は血小板活性化因子受容体拮抗剤の曝露前投与により抑制された。

27 Johnston *et al.* (1999b)は、129 マウスおよび CCSP 欠損マウスに 1 ppm O₃ を 1~24 時間曝
28 露した。CCSP 欠損マウスでは 129 マウスと比較して、O₃ 曝露による肺組織でのエオタキ
29 シン、MIP-1 α 、MIP-2 mRNA 増加が大きかった。

30 Bhalla and Gupta (2000)は、6~8 週齢の雄の Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ を 3 時間
31 曝露した。O₃ 曝露により BALF 中の PMN、MIP-2、及び ICAM-1 に増加がみられた。

32 Johnston *et al.* (2000b)は、雄の C57BL/6J マウス (8 週齢) に 15、30 ppm の二酸化窒素
33 (NO₂)、1.0、2.5 ppm の O₃ のいずれかを 4 又は 24 時間曝露した。曝露直後に採取した肺組
34 織において、メタロチオネイン、HO-1、iNOS、MIP-1 α 、MIP-2、IL-6 の mRNA の増加がみ
35 られた。
36

1 Michalec *et al.* (2002)は、6-8週齢の BALB/c マウスに 0.2 または 0.8 ppm の O₃ を 6 時間曝
2 露した。0.8 ppm の O₃ 曝露で顕著な好中球性気道炎症が誘発され、曝露後 18 時間でピーク
3 に達した。また、0.8 ppm の O₃ 曝露は、CXCL1、2、3、CXCL10、CCL3、CCL7 および
4 CCL11 (エオタキシン) の肺における mRNA を曝露直後から増加させ、CXCL10、CCL3 お
5 よび CCL7 mRNA の発現は曝露 18 時間後まで持続した。また、O₃ 曝露は CXCL10、CCL7
6 および CCR3 (CCL7R) の肺におけるタンパク質レベルを増加させた。免疫染色より、
7 CCL7 の由来としては気道上皮が特定された。また、0.8 ppm での O₃ 曝露前の抗 CXCL1、
8 2、3(KC) 及び抗 CCL7、CXCL10 抗体投与により好中球浸潤が抑制された。

9 Johnston *et al.* (2005c)は、IL-8 の受容体であるケモカイン受容体 CXCR2 を欠損させたマ
10 ウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露 24 時間後の BALF 中の好中球数と上皮細胞数
11 の増加、気道反応性の亢進が CXCR2 欠損マウスでは抑制された。

12 Tighe *et al.* (2011)は、フラクタルカインの受容体である CX3CR1 欠損マウスに 2 ppm の
13 O₃ を 3 時間曝露した。CX3CR1 欠損マウスでは、野生型と比較して O₃ 曝露による BALF 中
14 の総細胞数、PMN 数、総タンパク質、8-イソプロスタン、カルボニル化タンパク質、MIP-
15 2 α 、TNF- α 、MCP-1、IL-6、IL-1 β の増加がより大きかった。

16 Cienciewicki *et al.* (2016)は、野生型マウス及びマンノース結合レクチン (Mbl1, Mbl2) 欠
17 損マウスに、0.3 ppm O₃ を 24、48、72 時間曝露した。BALF 中の好酸球および好中球の数、
18 好中球誘引物質である CXCL2 および CXCL5 が野生型マウスよりも Mbl 欠損マウスで低か
19 った。

20 Ong *et al.* (2016)は、6-8 週齢の雄の C57BL/6 マウスに、0.5 ppm の O₃ を 4 時間曝露した。
21 気道上皮壊死および粘膜における CCL2 (MCP-1)、CCL11 (エオタキシン)、CXCL1 (KC)、
22 CXCL2 (MIP-2 α)、ヘムオキシゲナーゼ (Hmox)1、Il1b、Il5、Il6、Ilf13、および Tnf の mRNA
23 の過剰発現と好中球性鼻炎がみられた。

24 Francis *et al.* (2017a)は、野生型または CCR2 欠損マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露し
25 た。野生型マウスでは、肺における炎症性 (CCR2+, CD11b+ Ly6Chi, iNOS+) および抗
26 炎症性 (MR-1+) マクロファージの増加がみられた。CCR2 欠損マウスでは、炎症性マク
27 ロファージ数の増加、炎症性サイトカインである IL-1 β および TNF- α の発現増加が抑制さ
28 れ、抗炎症性マクロファージが減少し、フラクタルカインとその受容体である CX3CR1 が
29 増加した。

30 Holze *et al.* (2018)は、野生型、Pgam5 欠損、Casp1/11 欠損マウスに 1 ppm の O₃ を 1 時間
31 曝露した。Pgam5 欠損マウスにおいて、O₃ 曝露による肺の炎症悪化および炎症性サイトカ
32 イン IL-6、KC、MIP-2 α 、MCP-1 の増加がみられた。

33 34 ■ その他

35 Gupta *et al.* (1998)は、Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露によ
36 り BALF および肺組織中のフィブロネクチンタンパク質が増加した。

1 Nishiyama *et al.* (1998)は、Hartley モルモットの気道にホースラディッシュ・ペルオキシダ
2 ーゼ (HRP) を投与し、0.5 または 3.0 ppm の O₃ を 30 分間曝露した。O₃ 曝露により血漿中の
3 HRP が増加し、血漿 HRP レベルの増加がプロプラノロールおよびアトロピン投与では変化
4 しないが、カプサイシン投与では抑制された。

5 Bhalla *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。BALF 中
6 の総タンパク質濃度、アルカリホスファターゼ及びフィブロンネクチンの活性が曝露直後ま
7 たは 4 時間後から増加し、12 時間後にピークに達した。タンパク質濃度とフィブロンネク
8 ン活性については 24 時間後でも増加が持続していた。

9 Vesely *et al.* (1999b)は、出生直後にカプサイシンの投与により C 線維を枯渇させた雄の
10 Wister ラットに、6~9 週齢で 1 ppm O₃ を 8 時間曝露した。炎症への C 線維の直接的な関与
11 はみられなかったが、カプサイシン処理したラットの末端細気管支では BrdU の取り込みが
12 少なかった。

13 Dahl *et al.* (2007)は、8~12 週齢の C3H/OuJ マウス (O₃ 高感受性)、C3H/HeJ マウス (O₃
14 耐性) に清浄空気又は 0.3 ppm の O₃ を 6、24、48 時間曝露した。O₃ 高感受性のマウス系統
15 に比べ、O₃ 耐性のマウス系統において、O₃ 曝露によるコラーゲン様構造マクロファージ受
16 容体 (MARCO) 発現が亢進した。また、8~12 週齢のスカベンジャー受容体 (MARCO、又
17 は SR-AI/II) 欠損の C57BL/6 マウスに 0.3 ppm の O₃ を 48 時間曝露し、残留オイル集塵灰
18 (ROFA) 浸出液エアロゾルを 1 時間曝露、1 µg の脂質酸化物の気管内投与を行った。
19 MARCO 野生型マウスと比べて、MARCO 欠損マウスにおいて、O₃ 曝露による炎症性細胞
20 の集積や傷害、脂質酸化物気管内投与による好中球の集積が顕著にみられた。

21 Haque *et al.* (2007)は、野生型及びサーファクタントプロテイン (SP)-A 欠損マウスに 2 ppm
22 O₃ を 3 時間または 6 時間曝露した。O₃ 曝露により野生型マウスで酸化 SP-A が増加し、SP-
23 A 欠損マウスで野生型と比較して BALF における総タンパク質、リン脂質、乳酸脱水素酵
24 素活性が増加し、酸化タンパク質量、PMNs、MIP-2 mRNA、MCP-1 mRNA の増加が抑制さ
25 れた。

26 Yoon *et al.* (2007)は、6~8 週齢の雄の野生型 C57BL/6J マウス、MMP-7 欠損マウス及び
27 MMP-9 欠損マウスに 0.3 ppm の O₃ を 6~72 時間曝露した。MMP-9 欠損マウスでは BALF へ
28 のタンパク質漏出、炎症性細胞の浸潤が野生型マウスと比較してより増加した。また、
29 MMP-9 欠損マウスでは O₃ 曝露後の BALF 中の KC や MIP-2 の濃度が野生型マウスよりも高
30 かったが、これらの遺伝子発現については MMP 欠損マウスと野生型マウスで差がみられな
31 かった。MMP-7 欠損マウスでは野生型マウスとの差はみられなかった。

32 Hulo *et al.* (2011)は、20-24 週齢の雄の C57BL/6 (野生型、AMPKα 欠損) マウスに 2.0 ppm
33 の O₃ を 3 時間曝露した。野生型マウスでは O₃ 曝露により AMPKα のリン酸化が亢進される
34 とともに、肺における MDA、ミエロペルオキシダーゼ (MPO)、ペルオキシナイトライト
35 の増加がみられたが、AMPKα 欠損マウスではこれらの増加はみられなかった。

1 Kasahara *et al.* (2012)は、11~13 週齢のアディポネクチン欠損および野生型マウスに 0.3
2 ppm の O₃ を 48~72 時間曝露した。O₃ 曝露は肺におけるアディポネクチン発現を亢進し、
3 アディポネクチン欠損マウスでは、O₃ 曝露による BALF における好中球や IL-6、IL-17、G-
4 CSF、IL-1Ra の増加が増強されたことから、アディポネクチンが O₃ 誘発性の炎症に抑制的
5 に関与していることが示された。

6 Xiang *et al.* (2012)は、BALB/c マウスに 2 ppm の O₃ を 30 分/日で 1~8 日間曝露した。
7 Balb/c マウスの肺組織および O₃ 曝露を受けたヒト気管支上皮細胞において CTNNAL1 の発
8 現が増加した。また、AP-2α および LEF-1 部位の両方の変異体でヒト CTNNAL1 プロモー
9 ター活性の低下がみられ、LEF-1 および AP-2α を標的とする ASO による前処理により、O₃
10 によって誘導される CTNNAL1 の発現を減少させた。

11 Groves *et al.* (2013)は、C57BL/6J および SP-D 欠損マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露し
12 た。8 週齢の SP-D 欠損マウスでは O₃ 曝露により BALF 中の細胞数および総タンパク質が増
13 加したが、同じ週齢の C57BL/6J マウスでは変化はみられなかった。C57BL/6J マウスでは
14 O₃ 曝露により、27 週齢でのみ肺エラスタシスの増加がみられたが、SP-D 欠損マウスでは
15 8、27、80 週齢いずれにおいても増加がみられ、また増加の幅も大きかった。

16 Kasahara *et al.* (2013)は、アディポネクチン欠損マウス、アディポネクチンの受容体であ
17 る Tカドヘリン欠損マウス、アディポネクチンと Tカドヘリンの二重欠損マウスに 0.3 ppm
18 の O₃ を 72 時間曝露した。アディポネクチン欠損マウス及び Tカドヘリン欠損マウスでは、
19 野生型と比較して O₃ による BALF における好中球及び IL-17 mRNA の増加が増強された。

20 Kasahara *et al.* (2014)は、同著者らの後続研究として、アディポネクチン欠損マウスでは
21 野生型と比べて O₃ 曝露による BALF における好中球、IL-6、IL-17 mRNA の増加が増強さ
22 れた。アディポネクチン及び IL-6 両欠損マウスでは、アディポネクチン欠損マウスでみら
23 れた好中球や IL-17 mRNA の増加が抑制された。

24 Feng *et al.* (2015)と Page *et al.* (2016)は、6-8 週齢の BALB/c マウスに 0.25、0.5、1.0 ppm の
25 O₃ を 3 時間/日で 7 日曝露した。O₃ は用量依存的に BALF 中の TGF-α、総タンパク質を増加
26 させ、肺炎症を誘発するとともに、気道上皮における上皮成長因子受容体 (EGFR) Y1068 リ
27 ン酸化を誘導した。EGFR キナーゼ阻害剤の投与は、O₃ 曝露によって誘導される EGFR リ
28 ン酸化と同様に肺の炎症を減少させた。

29 Verhein *et al.* (2015)は、7-13 週齢の雄の野生型、Notch3 欠損、Notch4 欠損マウスに 0.3
30 ppm O₃ を 6~72 時間曝露した。野生型マウスに対して Notch3 欠損マウスでは O₃ 曝露後の
31 肺における TNF の発現増加がより顕著だった。O₃ 曝露後の BALF 中タンパク質の増加につ
32 いては、Notch4 欠損マウスにおいて、野生型マウスや Notch3 欠損マウスよりも大きかった。

33 Ward *et al.* (2015b)は、10-12 週齢の雄の Wistar Kyoto ラットに 1.0 ppm の O₃ を 4 時間曝露
34 させて曝露終了直後の肺の遺伝子発現を網羅的に解析することにより、エンドサイトーシ
35 スとステロイド受容体シグナル伝達変化により誘導される Relα、SP1、TP53 によって調節
36 されるパスウェイに変化がみられることを報告した。

1 Speen *et al.* (2016)は、8~12 週齢の雌の野生型または肝臓 X 受容体 (LXR) α 欠損マウスに
2 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。LXR 欠損マウスを O₃ に曝露すると野生型と比較して肺にお
3 ける IL-6 の産生が増強された。

4 Zhu *et al.* (2016)は、BALB/c マウスに 0.1 から 1.0 ppm の O₃ を 3 時間/日で 7 日間曝露し
5 た。O₃ 曝露による炎症及び気道反応性の亢進が、ビタミン E の投与により抑制された。

6 Henriquez *et al.* (2017)は、12 週齢の雄の Wistar-Kyoto ラットに、非選択的 β アドレナリン
7 受容体拮抗薬プロプラノロール、グルココルチコイド受容体拮抗薬ミフェプリストン、ま
8 たはその両方を投与し 0.8 ppm の O₃ を 1 日または 2 日間連続して 4 時間/日で曝露した。O₃
9 による最大呼気流量 (PEF) の増加、血管透過性亢進、好中球炎症は β アドレナリン受容体
10 とグルココルチコイド受容体の遮断により抑制した。

11 12 2.1.4. 酸化ストレスに関する知見

13 O₃ の曝露による酸化ストレスに関する知見については、その多くが数時間から 2 週間未
14 満の曝露であり、O₃ 曝露が肺胞マクロファージにおけるスーパーオキシドアニオンの産生
15 を増加させることが報告されている。また、iNOS の発現及び NO の産生についても増加さ
16 せること、その増加には Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B)
17 経路の活性化や銅/亜鉛型スーパーオキシドディスムターゼ (Cu/ZnSOD) の発現低下が関与
18 していることが報告されている。O₃ 曝露下における NO の作用としては、炎症を亢進する
19 という報告が多いが、抑制するという報告もある。また、ペルオキシレドキシニン-1 (PRX1)、
20 グルタチオンペルオキシダーゼ (GPX)2、ヘムオキシゲナーゼ(HO)-1、Phosphoglycerate
21 mutase family member 5 (PGAM5)、NAD(P)H キノン酸化還元酵素 (NQO1)、メタロチオネイ
22 ン、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) などの酸化還元酵素については気道反応性亢進
23 や肺における炎症への関与が報告されている。その他、抗酸化物質である γ トコフェロー
24 ルの投与により、鼻腔における粘液物質や好酸球の増加が抑制されたことから、酸化スト
25 レスがこれらの効果を媒介している可能性が示唆されている。

26 O₃ の長期間にわたる曝露による影響についての知見は少なく、ラットへの 3 か月の曝露
27 により、銅/亜鉛型 (Cu/Zn) SOD の発現が終末細気管支及び中心小葉で発現が低下し、マン
28 ガン型 (Mn) SOD の発現が中心小葉、特に II 型肺胞上皮細胞で増加したことが報告されて
29 いる。

30 31 2.1.4.1. 一酸化窒素 (NO)

32 ■ NO の産生変化

33 Bouthillier *et al.* (1998)は、Fischer 344 ラットに 0.8 ppm の O₃ を 4 時間/日で、1 日又は 3 日
34 曝露した。O₃ 曝露により BALF 中の好中球とタンパク質は増加したが、肺胞マクロファ
35 ジの NO 産生と食作用は減少した。

1 Laskin *et al.* (1998a)は、Sprague-Dawley ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。曝露から
2 24 時間後に単離した肺胞マクロファージおよびII型上皮細胞において iNOS タンパク質が増
3 加するとともに、転写因子 NF-κB の活性が亢進された。また、O₃ 曝露による NO 産生およ
4 び iNOS タンパク質の増加は、NF-κB の活性阻害剤により抑制された。

5 Laskin *et al.* (2002)は、NF-κB p50 欠損マウス、iNOS 欠損マウス及び Cu/ZnSOD 過剰発現
6 マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露により肺胞マクロファージの iNOS、NO、
7 ペルオキシ亜硝酸産生が増加したが、iNOS 欠損マウス及び Cu/ZnSOD 過剰発現マウスでは
8 この影響はみられず、BALF 中のタンパク質量に変化はみられなかった。

9 Fakhrzadeh *et al.* (2004a)は、NF-κB p50 欠損マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。NF-κB
10 p50 欠損マウスでは O₃ 曝露による肺胞マクロファージにおける C/EBP、NO、TNF-α の増加
11 がみられなかった。

12 Fakhrzadeh *et al.* (2004b)は、8-16 週齢の雌の C57BL/6 マウス及び Cu/ZnSOD 過剰発現マウ
13 スに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。Cu/ZnSOD 過剰発現マウスでは、O₃ 曝露による肺に
14 おける脂質過酸化物の産生増加や、肺胞マクロファージの cPLA2 産生、NO 及び TNF-α 産
15 生や NF-κB 活性化が減少した。

16
17 ■ 炎症に対する作用

18 Kleeberger *et al.* (2001b)は、一酸化窒素合成酵素 (NOS) 阻害剤を投与したマウスあるいは
19 iNOS 欠損マウスに 0.3 ppm O₃ を 72 時間曝露した。NOS 阻害剤投与又は iNOS 欠損は O₃ 曝
20 露による BALF 中タンパク質の増加を抑制した。

21 Inoue *et al.* (2000)は、NOS 阻害剤を投与した Hartley モルモットに 3.0 ppm O₃ を 2 時間曝
22 露した。NOS 阻害剤の投与により、5 時間後の気道抵抗増加がわずかに抑制された。

23 Fakhrzadeh *et al.* (2002)は、iNOS 欠損マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。iNOS 欠損マ
24 ウスでは O₃ 曝露による炎症が抑制された。

25 Laskin *et al.* (2002)は、iNOS 欠損マウス、Cu/ZnSOD 過剰発現マウス及び NF-κB p50 欠損
26 マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露したマウスから採取した肺胞マクロファ
27 ージでは NF-κB が活性化され PI3K、PKB が増加するが、NF-κB p50 欠損マウスから採取した
28 肺胞マクロファージでは PI3K、PKB の増加はみられなかった。

29 Kenyon *et al.* (2002)、Kenyon *et al.* (2006)は、iNOS 欠損マウスに 1.0 ppm O₃ を 8 時間/日、
30 3 日間曝露した。O₃ 曝露により誘導される透過性亢進や炎症細胞浸潤に対して、NO が抗炎
31 症作用を示した。

32 Fakhrzadeh *et al.* (2004b)は、Cu/ZnSOD 過剰発現マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。
33 Cu/ZnSOD 過剰発現マウスでは O₃ 曝露による肺における脂質過酸化物の産生が増加し、肺
34 胞マクロファージの cPLA2 産生、NO 及び TNF-α 産生や NF-κB 活性化が減少した。

2.1.4.2. スーパーオキシドアニオン

Cohen *et al.* (2001)、Cohen *et al.* (2002)は、F344 ラットに 0.1、0.3 ppm の O₃ を 4 時間/日、5 日/週で 1、3 週間曝露し、最終曝露の 24 時間後、リステリア (*L. monocytogenes*) を気管内投与し、1、48、72、96 時間後、体調、細菌のクリアランス、炎症細胞の数や機能について観察した研究において、1 週間の曝露後ではクリアランス能の低下やリンパ球増殖反応への影響、肺胞マクロファージにおけるスーパーオキシドアニオン産生の増加及び過酸化水素 (H₂O₂) 産生の抑制がみられたが、3 週間曝露ではそれらの影響はみられなかった。

Fakhrzadeh *et al.* (2002)は、iNOS 欠損マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。iNOS 欠損マウスでは O₃ 曝露による炎症が抑制された。O₃ 曝露した野生型マウス由来の肺胞マクロファージでは、NO、ペルオキシ亜硝酸の産生が曝露 24-48 時間後をピークに時間依存的に上昇し、スーパーオキシドアニオンとプロスタグランジン (PGE)₂ の産生も上昇したが、iNOS 欠損マウス由来の肺胞マクロファージは O₃ 曝露によるペルオキシ亜硝酸の産生はみられなかった。

2.1.4.3. 抗酸化酵素

Yanagisawa *et al.* (2012)は、18 週齢の Prx1 欠損および野生型マウスに、2 ppm の O₃ を 6 時間曝露させ、酸化ストレスと肺の炎症に対する反応を 18 時間後に評価した。その結果、Prx1 欠損マウスでは、非欠損マウスと比較して O₃ 曝露による BALF 中総細胞数及び好中球数、IL-6、ケラチノサイト誘引物質の増加が抑制された。

Cho *et al.* (2013)は、正常マウスおよび Nrf2 欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間または 0.3 ppm O₃ を 6~72 時間曝露した。O₃ 曝露により Nrf2 非欠損マウスで肺における NRF2 の発現が増加したが、Nrf2 欠損マウスでは Nrf2 非欠損マウスと比較して、O₃ 曝露により BALF 中の好中球数、リンパ球数、総タンパク質がより増加した。また、肺における GPx2、HO-1、NQO1 の mRNA 発現増加と肺組織中の脂質とタンパク質の酸化の増加、BALF 中 GSH の増加が抑制された。

Holze *et al.* (2018)は、野生型、Pgam5 欠損、Casp1/11 欠損マウスに 1 ppm の O₃ を 1 時間曝露した。Pgam5 欠損マウスにおいて、野生型マウスと比較して O₃ 曝露による BALF 中の総細胞数、好中球数、ミエロペルオキシダーゼ (MPO)、IL-6、KC、CXCL1、CXCL2、CCL2 の増加がより顕著だった。

■ NAD(P)H キノン酸化還元酵素 1 (NQO1)

Voynow *et al.* (2009)は、抗酸化酵素である NQO1 の欠損マウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。NQO1 欠損マウスでは O₃ 曝露による気道過敏性や好中球浸潤、F₂-イソプロスタンや KC の産生増加が抑制された。

Kummarapurugu *et al.* (2013)は、6-8 週齢の雄の C57BL/6J および NQO1 欠損マウスに 1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。NQO1 欠損マウスでは、野生型マウスと比較してベースラインと

1 O₃曝露後の両方で、炎症抑制作用のある J2-イソプロスタニンおよび A2-イソプロスタニンの前
2 駆体である D2-イソプロスタニンおよび E2-イソプロスタニンの肺組織レベルが高いことを示し
3 た。また、初代培養ヒト気管支上皮細胞に 0.4 ppm の O₃ を 0.5～5 時間曝露した。A2-イソ
4 プロスタニンが O₃ 誘発性 NF-κB 活性化と IL-8 発言亢進を抑制した。

5
6 ■ メタロチオネイン

7 Mango *et al.* (1998)は、129 マウスおよび CCSP 欠損マウスに 0.5～2.5 ppm O₃ を 4 時間曝露
8 または 1.0 ppm O₃ を 2～8 時間曝露した。CCSP 欠損マウスでは O₃ 曝露による肺における
9 IL-6 の増加が野生型よりも大きいこと、抗酸化酵素であるメタロチオネイン mRNA の増加
10 が 129 マウスよりも早い段階でみられたことが報告されている。

11 Johnston *et al.* (2000b)は、雄の C57BL/6J マウス (8 週齢) に 15、30 ppm の NO₂、1.0、2.5
12 ppm の O₃ のいずれかを 4 又は 24 時間曝露した。曝露直後に採取した肺組織において、メ
13 タロチオネイン、HO-1、iNOS、MIP-1α、MIP-2、IL-6 の mRNA の増加がみられた。

14 Inoue *et al.* (2008)は、抗酸化酵素であるメタロチオネイン I/II 欠損マウスに 0.3 ppm O₃ を
15 65 時間曝露した。メタロチオネイン I/II 欠損マウスでは野生型と比べて O₃ 曝露による肺の
16 炎症や血管透過性亢進が増悪した。

17
18 ■ スーパーオキシドディスムターゼ (SOD)

19 Pinkerton *et al.* (1998)は、F344/N ラットへの 1 ppm O₃ の 3 か月曝露では、Cu/ZnSOD は終
20 末細気管支及び中心小葉で発現が低下し、マンガン型(Mn)SOD は中心小葉で増加した。特に
21 MnSOD は II 型肺胞上皮細胞で増加した。

22 Ishii *et al.* (2000a)は、ペルオキシ亜硝酸のスキャベンジャーであるエブセレンを投与した
23 Sprague-Dawley ラットに 2 ppm O₃ を 4 時間曝露した。エブセレン投与ラットでは肺における
24 Cu/ZnSOD と MnSOD の mRNA 発現が増加しており、O₃ による肺の炎症が抑制された。

25 Wang *et al.* (2007)は、3 か月齢の雄の ICR マウスに 1.9 mg/m³ (0.887 ppm) の O₃ を 7 日間
26 曝露した。O₃ により SOD、グルタチオンペルオキシダーゼの活性低下やミトコンドリア形
27 態変化がみられ、これらの変化は抗酸化剤のフェルラ酸 Na 投与により抑制された。

28 Fakhrzadeh *et al.* (2004b)は、Cu/ZnSOD 過剰発現マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。
29 Cu/ZnSOD 過剰発現マウスでは野生型と比較して O₃ 曝露により肺における脂質過酸化物の
30 産生が増加し、肺胞マクロファージの cPLA2 産生、NO 及び TNF-α 産生や NF-κB 活性化が
31 減少した。

32
33 2.1.4.4. その他

34 Valacchi *et al.* (2004)は、0.8 ppm O₃ を 6 時間/日、連続 6 日間曝露した。血漿中の α-トコフ
35 エロールレベルが減少した。

1 Wagner *et al.* (2009)は、OVAに感作させた Brown Norway ラットに 1 ppm の O₃を 8 時間/
2 日で 2 日間曝露させた。O₃ 及び OVA の曝露は鼻腔における粘液物質や好酸球の増加を生
3 じさせたが、 γ -トコフェロールの投与はそれらの増加を抑制した。

4 Vasu *et al.* (2010)は、C57BL/6 マウス、 α -トコフェロール転写タンパク質 (ATTP) 欠損マウ
5 スに 0.5 ppm の O₃を 6 時間/日で 3 日間曝露した。O₃曝露による BALF 中の細胞数増加が
6 ATTP 欠損ではより大きかった。また、O₃曝露による肺組織における Timp1, Areg, Birc5,
7 Tnc の遺伝子発現増加は ATTP 欠損マウスでより大きかった。

8 Martinez-Campos *et al.* (2012)は、10 週齢の雄の Wistar ラットに有酸素運動 (1 日 90 分泳
9 ぐように訓練) を実施した後、訓練を受けたラットに O₃ (0.5 ppm で 1 日 4 時間、運動の 1
10 時間前) を 2 週間曝露した。対照として、静止+ろ過空気曝露、静止+O₃曝露、運動+ろ
11 過空気曝露の組み合わせを実施した。O₃曝露により血漿中の NOx の減少、SOD 活性の低
12 下、8-イソプロスタンとマロンジアルデヒドが増加し、酸化ストレスが示されたが、運動
13 はO₃によるこれらの影響を抑制した。SOD活性については運動による低下がみられたが、
14 静止+O₃曝露群ではより大きな低下がみられた。

15 Theis *et al.* (2014)は、Sprague-Dawley ラットに 0.5 ppm O₃を 8 時間/日で 5 日間曝露した。
16 O₃曝露により肝臓において Glucose-regulated protein-78、Protein disulfide isomerase が増加し、
17 Glutathione S-transferase mu1 が減少することを報告した。

18 Miller *et al.* (2016a)は、12-13 週齢の雄の Wistar Kyoto ラット (両側副腎髓質摘出、両側副
19 腎全摘出处置) に、1 ppm の O₃を 4 時間/日で 1 日または 2 日間曝露させた。O₃曝露による
20 耐糖能異常、血中エピネフリンの増加、遊離脂肪酸と分枝鎖アミノ酸の増加、BALF 中タ
21 ンパク質と好中球の増加、血中白血球の減少は、いずれも両側副腎髓質摘出、両側副腎全
22 摘出处置ラットでは抑制されたが、
23

24 2.1.5. 呼吸機能に関する知見

25 O₃の呼吸機能に及ぼす影響については、数時間の曝露では呼吸数が増加し換気量が低下
26 するという報告があるが、1日から1週間程度の曝露では、それらの影響は反復曝露により
27 減弱していくことが報告されている。1か月以上の O₃曝露においても、浅く速い呼吸の誘
28 導がみられる一方、気道コンダクタンスについては影響がみられなかったとする報告があ
29 る。

30 これらの影響のメカニズムについては、カプサイシン処理を行った研究により迷走神経
31 C 線維を介して生じていることが報告されており、また副腎由来ホルモン、サーファクタ
32 ントプロテイン (SP)、NO が関与していることが報告されている。
33

2.1.5.1. 経時的変化

■ 数時間の曝露による影響

Currie *et al.* (1998ab)は、BALB/c マウスに 1 ppm O₃ の 2、4、6、8 時間曝露した。2 時間の O₃ 曝露後、呼吸数の増加、一呼吸あたりの圧力振幅の減少、吸気/呼気時間比の減少がみられた。

Nielsen *et al.* (1999)は、雄の BALB/cA マウスに 0.3~4 ppm の O₃ を 30 分間曝露させ、曝露期間中の呼吸機能への影響を調べた。O₃ 曝露開始から 11~20 分では、2 ppm 以上の O₃ 濃度で呼吸数が増加した。21~30 分では、1 ppm より高い濃度で呼吸数の増加がみられたが、2~2.5 ppm で最も増加の程度が大きくなり、より高濃度では影響が減少した。1 回換気量は、曝露開始から 4~10 分、11~20 分、21~30 分それぞれにおいて、2.5 ppm 以上、1.5 ppm 以上、1 ppm 以上の濃度で濃度依存的に減少した。50%呼気流量は、曝露開始から 11~20 分では 2 ppm 以上、21~30 分では 1 ppm 以上の濃度で、濃度依存的に減少した。吸気時間については、11~20 分では 2 ppm 以上、21~30 分では 1 ppm 以上の O₃ 濃度で減少した。吸気終了から呼気開始までの停止時間については、11~20 分では 4 ppm の O₃ 曝露で、21~30 分では 2.5 ppm 以上で減少がみられた。呼気終了から吸気開始までの停止時間については、11~20 分では 4 ppm の O₃ 曝露で、21~30 分では 2.5 ppm 以上の濃度で増加がみられた。呼気時間については、21~30 分では、2 および 2.5 ppm の O₃ 曝露では減少した、4 ppm では増加がみられた。

Schelegle *et al.* (2001)は、Wistar ラットに 1 ppm O₃ の 8 時間曝露した。O₃ 曝露により浅速呼吸の誘導がみられた。

Shore *et al.* (2002)は、A/J マウスに 0.3~3 ppm O₃ の 3 時間曝露した。O₃ 曝露により濃度依存的な分時換気量の低下がみられた。

■ 2 週間未満の曝露による影響

Kleinman *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットに 0.2、0.4 ppm の O₃ を 4 時間/日で 1 日または 5 日間曝露した。4 ppm O₃ の単回曝露によって一回換気量が低下したが、反復曝露を行うと影響は緩和された。

Cremillieux *et al.* (2008)は、Fischer 344 ラットに 0.5 ppm O₃ を 6 時間/日又は 23 時間/日、5 日間曝露した。O₃ 曝露による肺容量の変化は、5 日の曝露期間中に逡減した。

■ 1 か月以上の曝露による影響

Schlesinger *et al.* (2002a)は、Hartley 系モルモットに 0.1、0.3 ppm O₃ を 4 時間/日、4 日/週、32 週間で曝露した。特定の測定時点で気道コンダクタンスについて変化がみられたものの、全体的なパターンや傾向へのはみられなかった。

1 Schelegle *et al.* (2003b)は、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm O₃ の 8 時間/日、5 日間曝露と 9
2 日間のろ過空気曝露を 4 サイクル行った。O₃ 曝露により 4 サイクルとも浅く早い呼吸の誘
3 導がみられた。

4 2.1.5.2. 影響メカニズム

6 ■ 迷走神経

7 Ho and Lee. (1998)は、Sprague-Dawley ラットに 3 ppm O₃ を 30 分間曝露した。O₃ 曝露がカ
8 プサイシン刺激、乳酸投与および定圧肺膨張による肺迷走神経 C 線維の応答を増強するこ
9 とを報告した。

10 Schelegle *et al.* (2001)は、迷走神経周囲をカプサイシン処理した Wistar ラットに 1 ppm O₃
11 を 8 時間曝露した。迷走神経周囲をカプサイシン処理したラットでは非処理ラットでみら
12 れた O₃ による浅速呼吸の誘導が抑制された。

13 Schelegle and Walby (2012)は、Brown-Norway ラットに 1 ppm の O₃ を 8 時間曝露した。O₃
14 曝露により肺抵抗性との増加とアレルギー感受性の上昇がみられたが、迷走神経周囲をカ
15 プサイシン処理することで肺抵抗性への影響が消失し、アレルギーによる肺抵抗性の増加
16 も減少した。

18 ■ サーファクタントプロテイン

19 Groves *et al.* (2012)は、C57BL/6J および SP-D 欠損マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露し
20 た。SP-D 欠損マウスでは O₃ 曝露により、空気曝露した対照マウスと比較して中枢気道の
21 レジスタンスのみ増加したが、SP-D 非欠損マウスでは組織エラスタンスの増加とコンプラ
22 イアンスの低下がみられた。

23 Groves *et al.* (2013)は、C57BL/6J および SP-D 欠損マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露し
24 た。8 週齢の SP-D 欠損マウスでは O₃ 曝露により BALF 中の細胞数および総タンパク質が増
25 加したが、同じ週齢の C57BL/6J マウスでは変化はみられなかった。C57BL/6J マウスでは
26 O₃ 曝露により、27 週齢でのみ肺エラスタンスの増加がみられたが、SP-D 欠損マウスでは
27 8、27、80 週齢いずれにおいても増加がみられ、また増加の幅も大きかった。

29 ■ 一酸化窒素 (NO)

30 Inoue *et al.* (2000)は、NOS 阻害剤処理 Hartley 系モルモットに 3 ppm O₃ を 2 時間曝露した。
31 NOS 阻害剤処理モルモットでは気道抵抗のベースライン値には影響がないが、O₃ による炎
32 症や気道反応性の亢進などが抑制された。

34 ■ 副腎髄質ホルモン

35 Miller *et al.* (2016a)は、12-13 週齢の雄の Wistar Kyoto ラット (両側副腎髄質摘出、両側副
36 腎全摘出处置) に、1 ppm の O₃ を 4 時間/日で 1 日または 2 日間曝露した。O₃ による肺タン

1 パク質漏出および好中球性炎症の増加は、両側副腎髓質摘出および両側副腎全摘出ラット
2 で著しく減少した（両側副腎全摘出＞両側副腎髓質摘出）。肺機能についても、O₃ 曝露に
3 による肺抵抗の亢進が、両側副腎全摘出マウスでは対照マウスよりも抑制された。

4 Henriquez *et al.* (2017)は、12 週齢の雄の Wistar-Kyoto ラットに、非選択的 β アドレナリン
5 受容体拮抗薬プロプラノロール、グルココルチコイド受容体拮抗薬ミフェプリストン、ま
6 たはその両方を投与し 0.8 ppm の O₃ を 1 日または 2 日間連続して 4 時間/日で曝露した。O₃
7 による PEF の増加、肺血管漏出、好中球炎症は β アドレナリン受容体とグルココルチコイ
8 ド受容体の遮断により抑制された。

9 10 2.1.6. 気道反応性に関する知見

11 O₃ の曝露による気道反応性の亢進については、時間的な推移を解析した研究、喘息モデ
12 ル動物を用いた研究、分子メカニズムについての研究がある。

13 時間的な推移を解析した研究については、数時間の曝露では O₃ 曝露による気道反応性の
14 亢進が報告されているが、2 週間未満の曝露では、気道反応性が亢進したとする報告と、
15 亢進はみられなかったとする報告がある。1 か月以上の反復的な曝露では、アカゲザルで
16 は気道反応性の亢進がみられたが、げっ歯類では亢進はみられず、一部の研究では気道反
17 応性が低下することが報告されている。

18 アレルゲン感作を行った喘息モデル動物を用いた研究においては、感作を行った動物で
19 は、非感作では影響が見られない O₃ 曝露濃度でも気道反応性の亢進がみられたことが報告
20 されている。

21 気道反応性亢進のメカニズムについては、迷走神経 C 線維の活性化によるサブスタンス
22 P の放出、ナチュラルキラー細胞や好中球などの自然免疫系の活性化、好酸球からの主要
23 塩基性タンパク質放出を介した M2 受容体の機能低下、肺 SP の気道開存維持機能の阻害、
24 セロトニンを介した神経伝達の亢進が気道反応性の亢進に関与していることが報告されて
25 いる。

26 また、好中球の阻害や抗酸化ビタミンの投与により O₃ 曝露による炎症または上皮細胞傷
27 害と気道反応性亢進がともに抑制されたとする報告がある一方で、腫瘍壊死因子受容体
28 (TNFR)1 及び TNFR2 の欠損、T 細胞受容体 (TCR)-δ 欠損、レプチン投与により気道反応性
29 の亢進は抑制されるが、炎症反応は抑制されなかったことも報告されており、異なる経路
30 が存在することが示唆されている。

31 その他、関連分子としてトロンボキサン A2 (TXA2)、各種炎症性インターロイキン、
32 TLR2 及び TLR4、オステオポンチン、一酸化窒素合成酵素 (NOS)、NQO1、カテプシン S、
33 ヒアルロン酸、CD44、インター-α-トリプシン阻害剤 (Ia1)、Rho 関連リン酸化酵素 (ROCK)1、
34 ROCK2、TNF-stimulated gene 6 (TSG-6)、CXCR2 についても気道反応性亢進への関与が報告
35 されており、β2-アドレナリン受容体 (β2-AR)については抑制的に機能していることが報告
36 されている。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

2.1.6.1. 経時的変化

■ 数時間の曝露による影響

Depuydt *et al.* (1999)は、多様な系統のラットに 0.05 ppm O₃ を 4 時間曝露した。Lewis、BDII、Long-Evans ラットにおいて気道反応性が亢進した。

Dye *et al.* (1999)は、高齢 Fischer 344 ラットに 2 ppm O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露により気道反応性が亢進した。

Toward and Broadley (2002)は、雄の Dunkin-Hartley モルモットに 2 ppm O₃ を 90 分間曝露した。O₃ は曝露直後からの初期相及び 5 時間後から 48 時間までの後期相において、気管支収縮を引き起こした。

Shore *et al.* (2002)、McGraw *et al.* (2000)、Voynow *et al.* (2009)、Garantziotis *et al.* (2010)は、2 から 14 週齢の A/J、FVB/N、C57BL/6J マウスに 0.3~3 ppm O₃ を 3~4 時間曝露した。O₃ 曝露により気道反応性の亢進がみられた。

Matsubara *et al.* (2009)は、モルモットに 3 ppm O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露により気道反応性が亢進した。

■ 2 週間未満の曝露による影響

Cho *et al.* (2001)は、C57BL/6 や C57BL/6J (野生型又は p55, p75 TNF 受容体遺伝子ノックアウト) マウスに 0.3 ppm O₃ を 3~72 時間曝露した。O₃ 曝露により気道反応性は亢進しなかった。

Pichavant *et al.* (2008)は、BALB/c マウスに 1 ppm O₃ を 0、2、4 日目に曝露 (3 時間/日) した。O₃ 曝露により気道反応性亢進が観察された。

Liu *et al.* (2010)は、Sprague-Dawley ラットに 2 ppm O₃ を 1、2、4 日間曝露 (30 分/日) した。O₃ 曝露により気道反応性亢進が観察された。

■ 1 か月以上の曝露による影響

Vargas *et al.* (1998)は、Hartley モルモットに 0.3 ppm の O₃ を 4 時間/日で 1~48 日間曝露した。1~24 日間の曝露では、気道における総細胞数や好中球数などの増加とともに気道反応性の亢進が観察されたが、48 日間の曝露では、BALF 中の炎症指標は悪化したが、気道反応性は亢進しなかった。

Neuhaus-Steinmetz *et al.* (2000)、Farraj *et al.* (2010)は、IgE 高応答性の BALB/c マウスと、低応答性の C57BL/6 マウスに 0.08~0.5 ppm O₃ を 4 週間から 4 か月曝露した。O₃ 単独曝露ではいずれも気道反応性は亢進しなかったが、O₃ と HDMA の複合曝露では、BALB/c でのみ気道反応性の亢進がみられた。

1 Schlesinger *et al.* (2002a)、Schlesinger *et al.* (2002b)は、Hartley モルモットに 0.1~0.3 ppm O₃
2 を 4 日/週、4 時間/日で 24 週間曝露した。O₃ 曝露により気道反応性は亢進しなかった。

3 Jang *et al.* (2006)は、BALB/c マウスに 2 ppm O₃ を 8 時間/日での 4、8、12 週間曝露した。
4 O₃ 曝露により気道反応性が低下した。

5 Plopper *et al.* (2007)は、若齢アカゲザルに 0.05 ppm O₃ を 5 日間 (8 時間/日) 曝露した後、
6 9 日間のろ過空気曝露を 11 サイクル実施した。O₃ 曝露により気道過敏性の亢進がみられた。

7 8 2.1.6.2. アレルゲン感作動物を用いた研究

9 Schlesinger *et al.* (2002a)は、非感作 (NS 群)、OVA 感作後に O₃ 曝露 (PS 群) または
10 OVA 感作と同時に O₃ 曝露 (CS 群) した Hartley 系モルモットに 0.1、0.3 ppm O₃ を 24 週間
11 曝露 (4 時間/日、4 日/週) した。NS 群では O₃ 曝露による気道反応性への影響はなかった
12 が、CS 群では曝露中と曝露後 4 週目までの気道反応性亢進が観察された。PS 群では、0.1
13 ppm では 24 週目と曝露後 4 週目までの気道反応性亢進、0.3 ppm で曝露中早期からと曝露
14 後 4 週目までの気道反応性亢進が観察された。

15 Schelegle *et al.* (2003a)は、HDMA 感作アカゲザルを 0.5 ppm O₃ 曝露 (8 時間/日、5 日間)
16 と 9 日間ろ過空曝露を 11 回反復した。HDMA 感作または O₃ 曝露どちらか単独では気道反
17 応性に亢進はみられなかったが、感作アカゲザルへの O₃ 曝露ではアレルギー症状に関連す
18 る指標が増加するとともに気道反応性が亢進され、気道抵抗や反応性に関連した気道構造
19 の変化がみられた。

20 Joad *et al.* (2006)は、Schelegle *et al.* (2003a)とほぼ同じ方法でアカゲザルに O₃ を曝露した。
21 HDAM 感作をしていないアカゲザルでは、気管支および呼吸細気管支どちらもメサコリン
22 に対する反応性に変化はみられなかったが、HDMA 感作を行ったアカゲザルでは、O₃ 曝露
23 により呼吸細気管支でのみメサコリン反応性の亢進がみられ、部位による影響の違いがあ
24 った。

25 Jang *et al.* (2006)は、OVA を感作しアジュバントである硫酸アルミニウムカリウム
26 KAl(SO₄)₂ を投与した BALB/c マウスに 2 ppm O₃ を 4、8、12 週間曝露 (8 時間/日) した。
27 O₃ 曝露により気道反応性は低下したが、気管支、肺胞での粘液分泌細胞、筋線維芽細胞、
28 平滑筋細胞は曝露期間に依存して増加した。

29 Farraj *et al.* (2010)は、OVA 感作 BALB/c マウスに 0.5 ppm O₃ を 5 時間/回、1 回/週、4 週間
30 で曝露した。O₃ による炎症細胞浸潤や炎症指標は OVA 吸入によって増強されたが、対照
31 群と OVA 感作群のいずれも O₃ 曝露による気道反応性亢進はみられなかった。

32 Bao *et al.* (2013)は、OVA に感作/非感作 Balb/c マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。
33 O₃ 曝露は感作/非感作マウスいずれにおいても気道過敏性を誘発・増強した。また、近位気
34 道および遠位気道において上皮細胞密度の低下を生じさせるとともに、上皮における粘液
35 物質の産生を増加させた。

2.1.6.3. 影響メカニズム

■ 数時間～2週間未満の曝露による影響

炎症と気道反応性の関係

Matsumoto *et al.* (1999)は、Hartley モルモットに 3 ppm O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露は BALF における NE-PI 濃度、好中球数、気道上皮細胞数、マクロファージ数を増加させたが、好中球エラストラーゼ阻害剤 ONO-5046 の前処置により、BALF 中の好中球数および上皮細胞数の増加、および吸入 ACh に対する気道反応性の亢進が抑制された。

Cho *et al.* (2001)は、TNFR1 及び TNFR2 の各欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露し 24 時間後に評価した。野生型と比較して肺炎症指標の改善はみられなかったが、気道反応性の亢進は抑制された。

Johnston *et al.* (2005c)は、BALB/cJ マウスおよび炎症性サイトカインである IL-8 の受容体 CXCR-2 の欠損マウスに対し、1 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。曝露 24 時間後の BALF 中の好中球数、上皮細胞数、総タンパク量に増加がみられたが、CXCR-2 欠損マウスでは好中球及び上皮細胞の増加に抑制がみられた。また、曝露 3 時間後では両マウスで気道反応性の亢進がみられたが、24 時間後では CXCR-2 欠損マウスでのみ亢進が失われた。

Johnston *et al.* (2007b)は、絶食させた C57BL/6J マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。食欲を抑制するホルモンであるレプチン投与により気道反応性亢進が抑制されたが、炎症性細胞の集積、タンパク質の増加、可溶性 TNF 受容体の増加については、絶食やレプチン投与は影響を及ぼさなかった。

Matsubara *et al.* (2009)は、TCR- δ 欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。野生型と比較して TCR- δ 欠損マウスでは O₃ 曝露による気道過敏性の亢進がみられなかったが、BALF 中や気道肺組織への好中球浸潤や上皮傷害は観察された。

Zhu *et al.* (2016)は、BALB/c マウスに 0.1 から 1.0 ppm の O₃ を 3 時間/日で 7 日間曝露した。O₃ 曝露による炎症及び気道反応性の亢進が、ビタミン E の投与により抑制された。

サブスタンス P

Joad *et al.* (1998)は、Hartley モルモットに 0.5 ppm O₃ を 8 時間/日で 7 日間曝露した。O₃ の反復曝露は、サブスタンス P、メサコリンおよび肺膨張による頸部求心性迷走神経の rapidly adapting receptors (RARs) 応答を増強させた。

Takebayashi *et al.* (1998)は、カプサイシン投与又は特異的タキキニン受容体拮抗薬を投与した Sprague-Dawley ラットに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。カプサイシン投与又は特異的タキキニン受容体拮抗薬投与は O₃ による気道反応性の亢進を抑制した。

Fedan *et al.* (2000)は、雄の English short-hair SPF モルモットに、3 ppm の O₃ を 1 時間曝露した。灌流気管のメサコリンメサコリン (MCh) に対する過敏反応、およびサブスタンス P 線維密度が曝露後 0 時間および 18 時間で平滑筋において増加していた。

1 Verhein *et al.* (2011)は、モルモットに 2.0 ppm O₃ を 4 時間曝露した。O₃ 曝露による迷走神
2 経刺激誘発性の気道反応の増大は Anti-NGF 抗体、NK-1 受容体拮抗薬の投与により抑制さ
3 れた。

4 Barker *et al.* (2015)は、8 週齢の雄の ICR マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。BALF 中
5 の IL-1 β 、NGF、サブスタンス P が増加した。また、マウスへの IL-1 β の気管内投与は BALF
6 中の NGF 及サブスタンス P 増加を引き起こした。

7 8 トロンボキサン A2 (TXA2)

9 Nakano *et al.* (2000)は、雄の Hartley モルモットを 3 ppm の O₃ に 2 時間曝露した。BALF 中
10 の PGE2 とトロンボキサン B2 (TXB2) 濃度は O₃ 曝露直後に増加し、曝露後 5 時間で通常レ
11 ベルまで低下した。非選択的 COX-2 阻害剤であるインドメタシン/JTE-522 の O₃ 曝露前投
12 与は、PGE2 および TXB2 の増加を抑制させ、曝露 5 時間後の気道過敏性を減少させたが、
13 O₃ 曝露直後の気道過敏性には影響しなかった。TXA2 模倣薬である U-46619 の吸入投与は、
14 吸入後 5 時間後に気道過敏性を誘発した。一方で PGE2 の吸入投与は吸入直後～5 時間後に
15 かけて気道過敏性は誘発しなかった。

16 Fakhrzadeh *et al.* (2004b)は、8-16 週齢の雌の C57BL/6 マウス、及び C57BL/6xCBA/J SOD
17 (Cu/ZnSOD 過剰発現) マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ の曝露によりマクロ
18 ファージにおいて PLA2、COX-1、COX-2 が増加した。

19 20 インターロイキン

21 Park *et al.* (2004)は、C57BL/6 マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露による気道反
22 応性亢進や炎症が IL-1 受容体拮抗剤 (IL-1Ra) で抑制された。

23 Johnston *et al.* (2005c)は、IL-8 の受容体であるケモカイン受容体 CXCR2 を欠損させたマ
24 ウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露 24 時間後の BALF 中の好中球数と上皮細胞数
25 の増加、気道反応性の亢進が CXCR2 欠損マウスでは低下することが報告された。

26 Pichavant *et al.* (2008)は、BALB/c マウスに 1 ppm O₃ を 0、2、4 日目に各 3 時間曝露した。
27 気道反応性が亢進し、気道においてナチュラルキラー T (NKT) 細胞、好中球及びマクロフ
28 ファージの増加が観察されたが、NKT 細胞欠損マウス及び IL-17 欠損マウスでは気道反応性
29 亢進が抑制された。

30 Williams *et al.* (2008b)は、IL-13 欠損マウス、IL-4/13 二重欠損マウス、IL-13 過剰発現マウ
31 スへの 3 ppm O₃ の 3 時間曝露では、O₃ 曝露による気道反応性が、野生型と比較して IL-13
32 欠損マウス、IL-4/13 二重欠損マウスでは軽微であること、IL-13 過剰発現マウスでは亢進
33 されることが報告された。

34 Wu *et al.* (2008)は、雌のフェレット 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露により気道炎
35 症、IL-1 放出、気道ニューロンにおける SP レベルの上昇、気道平滑筋の反応性亢進がみら
36 れたが、IL-1 受容体拮抗薬の曝露前処理によりこれらの影響は弱まった。

1 Michaudel *et al.* (2018)は、ST2 欠損および IL-33 欠損、IL-33 シトリンレポーター、および
2 C57BL/6 (野生型) マウスに 1 ppm O₃ を 1 時間曝露させ、O₃ 曝露による肺の炎症や気道反
3 応性に IL-33 および IL-33 受容体 ST2 の関与を検討した。IL-33 または ST2 欠損によりタン
4 パク質の漏出を伴う上皮細胞の損傷および炎症がさらに増加するが、タイトジャンクシ
5 ンタンパク質である E-カドヘリンと Zonula occludens-1、好中球における活性酸素種の産生、
6 気道過敏性は減少した。

7 8 TLR

9 Williams *et al.* (2007b)は、TLR2 欠損マウス、TLR4 欠損マウス、MyD88 欠損マウスに 3
10 ppm O₃ を 3 時間曝露した。いずれの欠損マウスにおいても BALF 中の好中球数の増加、気
11 道反応性の亢進、肺組織における IL-6 と KC の mRNA 発現が抑制された。

12 Garantziotis *et al.* (2010)は、C57BL/6J マウスへの 2 ppm O₃ の 3 時間曝露でみられる気道反
13 応性の亢進や BALF 中の炎症性サイトカイン濃度上昇が、TLR4 欠損又はヒアルロン酸の気
14 管内投与により抑制された。

15 Li *et al.* (2011b)は、野生型 (C57BL/6J) マウス、TLR4 欠損マウス、MyD88 欠損マウス、
16 TIRAP 欠損マウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。TLR4 欠損マウス、MyD88 欠損マウス、
17 TIRAP 欠損マウスでは O₃ 曝露による炎症性サイトカインの増加や気道反応性の上昇が抑制
18 された。

19 20 その他

21 Currie *et al.* (1998a)は、BALB/c マウスに 1 あるいは 2 ppm O₃ を 2、4、6 および 8 時間曝
22 露した。気道の開存を維持する肺 SP の機能が、O₃ 曝露によって増加する BALF 中の水溶
23 性物質により阻害された。

24 Yost *et al.* (1999)は、雌のモルモットに 2 ppm の O₃ を 4 時間曝露した。O₃ 曝露は M2 受容
25 体の機能障害を引き起こし、その障害は好中球由来の顆粒タンパク質である major basic
26 protein (MBP)に対する抗体の前処置によって保護された。また、ヘパリン処置による MBP
27 の除去によっても M2 受容体の機能が回復した。

28 McGraw *et al.* (2000)は、ヒトの β 2-AR を気道上皮細胞に発現させたマウスに 0.75 ppm O₃
29 を 4 時間曝露した。野生型マウスと比較して、O₃ 曝露による気道反応性亢進が緩和された。

30 Inoue *et al.* (2000)は、Hartley 系モルモットに 3 ppm O₃ を 2 時間曝露した。O₃ 曝露による
31 気道反応性亢進、BALF 中の好中球数増加は、NOS 阻害剤処置により抑制された。

32 Voynow *et al.* (2009)は、C57BL/6J マウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ による気道反
33 応性、好中球性気道炎症、F₂-イソプロスタニンや KC の産生亢進が NQO1 欠損マウスでは低
34 減された。

35 Williams *et al.* (2009)は、野生型マウスに 3 ppm O₃ を 3 時間曝露した。カテプシン S 阻害
36 剤の投与が気道反応性の亢進を抑制した。

1 Garantziotis *et al.* (2009)は、雄の C57BL/6J マウス、ヒアルロン酸受容体である CD44 欠損
2 マウス、ヒアルロン酸と複合体を形成する IaI 欠損マウスに対し、2 ppm で 3 時間 O₃ を曝露
3 した。いずれのマウスにおいても O₃ 曝露後に BALF 中の総タンパク質とヒアルロン酸濃度
4 の上昇がみられたが、CD44 欠損マウスおよび IaI 欠損マウスでは O₃ 曝露による気道反応性
5 の亢進がみられなかった。また、ヒアルロン酸を過剰発現させたマウスでは O₃ による気道
6 反応性亢進が増強されること、低分子量のヒアルロン酸を気管内投与すると CD44 に依存
7 した気道過敏性を引き起こすことから、ヒアルロン酸は O₃ 曝露による気道過敏性亢進に
8 関わることを示された。

9 Liu *et al.* (2010)は、Sprague-Dawley ラットに 2 ppm O₃ を 1、2、4 日間曝露 (30 分/日) し
10 た。O₃ により気道反応性が亢進するとともにインテグリン β4 の発現が低下した。

11 Barreno *et al.* (2013)は、オステオポンチン欠損マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。野生
12 型マウスでは O₃ 曝露により BALF 中のオステオポンチンが増加し、オステオポンチン欠損
13 マウスでは O₃ 曝露による気道反応性の亢進が抑制された。

14 Sunil *et al.* (2013)は、雌の Wistar ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。細気管支上皮に
15 おいて急速 (3 時間以内) および持続的 (最大 72 時間) に、細胞過多、線毛の喪失、細気
16 管支の壊死などを含む組織学的変化が生じ、また気道の変化の結果として、O₃ が肺の剛性
17 の増加を引き起こした。

18 Verhein *et al.* (2013)は、雌のモルモットに 2 ppm O₃ を 4 時間曝露した。副交感神経の電気
19 刺激に対する気道反応性が増強され、M2 受容体の機能障害がみられたが、この影響は O₃
20 曝露前の p38 と JNK 阻害剤投与により予防された。

21 Kasahara *et al.* (2015)は、20-25 週齢の雄マウス (野生型、ROCK1 ヘテロ欠損、ROCK2 ヘ
22 テロ欠損) に 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。ROCK1 ヘテロ欠損マウスと ROCK2 ヘテロ欠損
23 マウスでは、野生型と比較して、O₃ 曝露による気道反応性の亢進が抑制された。ROCK1
24 ヘテロ欠損マウスでは、気道反応性の亢進に関与する BALF 中のヒアルロン酸の O₃ 曝露に
25 よる増加が抑制された。ROCK2 の阻害剤投与は、初代ヒト気道平滑筋細胞の収縮力を低下
26 させた。

27 Stober *et al.* (2017)は、TSG-6 欠損マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。TSG-6 欠損マ
28 ウスでは O₃ またはショートフラグメントヒアルロン酸 (sHA) による気道反応性の亢進が抑
29 制された。また、O₃ 曝露は Ras homolog family member A (RhoA)、細胞外シグナル制御リン
30 酸化酵素 (ERK)、PI3K/Akt シグナル経路を活性化したが、これらの活性化は TSG-6 欠損マ
31 ウスではみられず、また、これらの活性化を阻害すると気道反応性の亢進が抑制された。

32 Wicher *et al.* (2017)は、OVA 感作または非感作の雌の Dunkin-Hartley モルモットを BrdU
33 で処理した後、空気または 2 ppm の O₃ に 4 時間曝露した。OVA 感作動物における気道過敏
34 性の亢進に好酸球が関与していたが、O₃ により新たに産生誘導された好酸球ではなく、O₃
35 曝露前に成熟していた好酸球が気道過敏性の亢進に関与していた。

1 ■ 1週間以上の曝露による影響

2 Neuhaus-Steinmetz *et al.* (2000)は、IgE 高応答 BALB/c マウスと、低応答性 C57BL/6 マウス
3 に 0.08、0.12、0.23 ppm O₃ を 4 週間曝露 (3 日/週、4 時間/日) し、OVA エアロゾルを吸入
4 感作した。BALB/c マウスの O₃ 曝露+OVA 感作群において、OVA 感作や O₃ 単独曝露ではみ
5 られない気道反応性亢進がみられた。また、C57BL/6 マウスではいずれの曝露でも気道反
6 応性の亢進は観察されなかった。

7 Moore *et al.* (2012)は、幼児アレルギー性喘息のモデルとして 30 日齢の HDMA 感作アカ
8 ゲザルに O₃ (0.5 ppm、5 日間/2 週間)、HDMA (6.46 mg/m³、3 日間/2 週間) またはその組
9 み合わせを 11 サイクル曝露した。5-ヒドロキシトリプタミン (5-HT : セロトニン) による電
10 解刺激応答は O₃ 及び O₃+HDMA 曝露により増強し、この増強は副交感神経上の 5-HT₂、
11 5-HT₃、および 5-HT₄ 受容体を介して生じた。

12 Murphy *et al.* (2013)は、1 か月齢の雄のアカゲザルに 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で 5 日間の
13 曝露の後 9 日空ける曝露サイクルを 1 回、または、計 11 回行った。O₃ 曝露により気道上皮
14 のセロトニン、5-HT_{2A} 受容体および 5-HT₄ 受容体発現が増加した。

15
16 2.1.7. 宿主防御障害及びアレルギー反応等に関する知見

17 O₃ 曝露による宿主防御への影響については、数時間から 2 週間未満の曝露による気道の
18 クリアランス能の低下、肺胞マクロファージの貪食能低下、呼吸器感染症による死亡率の
19 上昇、数週間の曝露によるクリアランス能の低下、肺胞マクロファージにおけるスーパー
20 オキシドアニオン産生の増加及び過酸化水素 (H₂O₂) 産生の抑制が報告されている。

21 免疫応答への影響については、数時間から 2 週間未満の O₃ 曝露による TLR4 の遺伝子発
22 現亢進とそれに伴うリポ多糖類 (LPS) への反応増強、気管や縦隔リンパ節における樹状細
23 胞や T 細胞の増加、数週間の O₃ 曝露による抗原提示活性の増強または低減、ナチュラルキ
24 ラー細胞の活性低下、脾臓における T 細胞増殖の抑制と胸腺における亢進が報告されてい
25 る。

26 また、アレルギー反応への関与について、数時間から数カ月の O₃ 曝露がアレルギー性気
27 道疾患モデル動物における炎症や気道過敏性などのアレルギー症状を増悪させることを報
28 告した知見が多い。

29
30 2.1.7.1. クリアランス機能及び肺胞マクロファージへの影響

31 ■ 数時間～2週間未満の曝露による影響

32 Bouthillier *et al.* (1998)は、雄の Fischer 344 ラットに 0.8 ppm の O₃ を 4 時間/日で、1 日又は
33 3 日曝露した。O₃ 曝露により BALF 中の好中球とタンパク質は増加したが、肺胞マクロフ
34 ェージの食作用と NO 産生は減少したことを報告している。

35 Laskin *et al.* (1998a)は、雌の Sprague-Dawley ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃
36 曝露は肺胞マクロファージおよび II 型細胞における iNOS mRNA 及びタンパク質の発現を

1 亢進させ、NO 産生を増加させた。また、O₃ 曝露による肺胞マクロファージとII型上皮細胞
2 のNO 産生およびiNOS タンパク質の発現増加は、NF-κB の活性を抑制するピロリジンジチ
3 オカルバメート (PDTC) によって阻害された。

4 Foster and Freed (1999)は、O₃ が肺のクリアランス機能に与える影響を評価するため、1~
5 3 才の雄のイヌの肺小葉下に 99 mTc でラベル化したジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)
6 を曝露した後、ろ過空気又は 400 ppb の O₃ を肺小葉下に 6 時間局所曝露した。O₃ 曝露終了
7 の1日後DTPAのクリアランス半減期が低下したが、7、14日後には差はみられなかった。

8 Laskin *et al.* (2002)は、NF-κB p50 欠損マウス、iNOS 欠損マウス及び Cu/ZnSOD 過剰発現
9 マウスに 0.8 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露したマウスから採取した肺胞マクロファ
10 ジでは NF-κB が活性化されるとともに PI3K、PKB が増加するが、NF-κB p50 欠損マウスか
11 ら採取した肺胞マクロファージでは PI3K、PKB の増加はみられなかった。また、O₃ 曝露に
12 より肺胞マクロファージの iNOS、NO、ペルオキシ亜硝酸産生が増加したが、iNOS 欠損マ
13 ウス及び Cu/ZnSOD 過剰発現マウスではこの影響はみられず、BALF 中のタンパク質量に
14 変化はみられなかった。

15 Mikerov *et al.* (2008a)は、野生型マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露が肺胞マ
16 クロファージの食能を低下させ、肺炎桿菌 (*K. pneumoniae*) 感染後の生存率を低下させ
17 た。

18 Mikerov *et al.* (2008b)は、野生型または SP-A 欠損マウスに 2 ppm の O₃ に 3 時間曝露した。
19 肺胞マクロファージの食能低下と肺炎桿菌感染による死亡率が増加し、またその度合い
20 は野生型より SP-A 欠損マウスで大きかった。

21 Durrani *et al.* (2012)は、性腺を摘出した雌雄の C57BL/6 マウスでは 2 ppm の O₃ を 3 時間
22 曝露した後の肺炎桿菌による生存率低下が緩和されたが、5α-ジヒドロテストステロン、お
23 よび 17β-エストラジオール投与で生存率が低下した。

24 Sunil *et al.* (2015)は、雌の Gal-3 欠損マウスおよび C57Bl6/J マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時
25 間曝露した。O₃ 曝露は肺における炎症誘発性 (Gal-3+/iNOS+) および抗炎症性 (MR-1+)
26 のマクロファージ数を増加させるが、Gal-3 欠損マウスでは、炎症誘発性マクロファージの
27 増加は減弱し、抗炎症性マクロファージの増加が増大したことを報告し、GAL-3 が炎症誘
28 発性マクロファージの蓄積と毒性を促進する役割を果たすとした。

29 Francis *et al.* (2017a)は、野生型または CCR2 欠損マウスに 0.8 ppm の O₃ を 3 時間曝露し
30 た。野生型マウスでは、肺における炎症性 (CCR2+, CD11b+ Ly6Chi, iNOS+) および抗
31 炎症性 (MR-1+) マクロファージの増加がみられた。CCR2 欠損マウスでは、炎症性マク
32 ロファージ数の増加、炎症性サイトカインである IL-1βおよび TNF-α の発現増加が抑制さ
33 れ、抗炎症性マクロファージが減少し、CX3CL1 とその受容体である CX3CR1 が増加した
34 ことから、CCR2 が O₃ 曝露後の肺における炎症誘発性マクロファージおよび抗炎症性マク
35 ロファージの蓄積の両方で役割を果たしているとした。

1 ■ 数週間～1か月以上の曝露による影響

2 Cohen *et al.* (2001)、Cohen *et al.* (2002)は、F344 ラットに 0.1、0.3 ppm の O₃ を 4 時間/日、
3 5 日/週で 1、3 週間曝露し、最終曝露の 24 時間後、*L. monocytogenes* を気管内投与し、1、
4 48、72、96 時間後、体調、細菌のクリアランス、炎症細胞の数や機能について観察した研
5 究において、1 週間の曝露後ではクリアランス能の低下やリンパ球増殖反応への影響、肺
6 胞マクロファージにおけるスーパーオキシドアニオン産生の増加及び H₂O₂ 産生の抑制がみ
7 られたが、3 週間曝露ではそれらの影響はみられなかった。

8
9 2.1.7.2. 免疫応答への影響

10 ■ 数時間～2週間未満の曝露による影響

11 Kleeberger *et al.* (2000) は、0.3 ppm O₃ を 48 時間曝露した O₃ 高感受性の C57BL/6J マウス
12 と低感受性の C3H/HeJ マウスの量的形質遺伝子座の解析から、炎症誘発に關与する遺伝子
13 として 17 番染色体上の TNF を同定するとともに、透過性亢進に關与する遺伝子として 4 番
14 染色体上の TLR4 を同定した。

15 Koike *et al.* (2001)は、Wistar ラットに 1.0 ppm O₃ を 24 時間/日で 3 日間曝露した。O₃ 曝露
16 により BALF 中細胞における細胞表面分子 (Ia, B7.1, B7.2 および CD11b/c) の発現が増加し
17 た。

18 Koike and Kobayashi (2004)は、Wistar ラットに 1.0 ppm O₃ を 24 時間/日で 3 日間曝露した。
19 O₃ 曝露は肺組織における B7.2, Ia および CD11b/c の発現および樹状細胞数を増加させた。

20 Wagner *et al.* (2001a)、Wagner *et al.* (2001b)は、F344/N ラットに 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日
21 で 3 日間曝露させ、LPS を 1 回/日で 2 日間鼻部投与し、投与の 6 時間後又は 3 日後に試料
22 採取した。上皮や炎症性の反応は、O₃ あるいは LPS を単独で曝露するよりも複合曝露する
23 方が大きかった。

24 Wagner *et al.* (2003)は、Fischer 344/N ラットに 1 ppm の O₃ を 8 時間/日で 2 日間曝露させ、
25 LPS による上皮への作用が O₃ 曝露により増大するか否かを検討した。O₃ のみを曝露したラ
26 ットの気道上皮内粘液物質量は少なく、LPS 投与では気道上皮内粘液物質量は用量依存的
27 に増加し、LPS 投与後に O₃ 曝露したラットでは、それが 2 倍に増加した。

28 Johnston *et al.* (2002)は、雄の C57BL/6J マウスに 1.0 ppm の O₃ を 24 時間曝露させ、曝露
29 終了直後に LPS エアロゾルを 10 分間吸入した。BALF 中のサイトカイン・ケモカイン遺伝
30 子発現の結果から、LPS は O₃ の炎症惹起作用を増強することが示された。

31 Johnston *et al.* (2006a)は、4、10、56 日齢の C57BL/6 マウスに O₃、LPS それぞれの単独曝
32 露、又は LPS 曝露後に直ちに 2.5 ppm の O₃ を 4 時間曝露した。LPS 及び O₃ の曝露は発達次
33 期に依存して TLR 遺伝子を含む複数のシグナル伝達経路を誘導したが、LPS+O₃ の増強効
34 果についてははっきりしなかった。

35 Steerenberg *et al.* (2004)は、Wistar ラットを O₃ (2 mg/m³、24 時間/日、7 日間) に曝露さ
36 せ、最後の曝露から 24 時間後に、ラット気管内に *L. monocytogenes* (1×10⁶ L) を投与し、

1 *L. monocytogenes* の数を 3、4 および 5 日後に測定した。O₃ に曝露されたラットにおいて *L.*
2 *monocytogenes* 数の統計的に増加が、肺と脾臓において 3 回の測定すべてで観察された。

3 Hollingsworth *et al.* (2007) は、C57BL/6J マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露し、その後 LPS
4 エアロゾルを 2.5 時間曝露した。O₃ 曝露はマクロファージ上の TLR4 発現を増加させ、肺に
5 おける LPS に対する自然免疫系の反応を増強した。また、曝露 24 時間後では O₃ 曝露単
6 及び O₃+LPS 曝露いずれも気道反応性の亢進がみられたが、曝露 72 時間後では O₃ 単
7 曝露による影響は消失し、O₃+LPS 曝露でのみ気道反応性亢進がみられた。

8 Li *et al.* (2010) は、C57BL/6J マウスに 1 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露による BALF 中
9 の総細胞数、好中球数、MCP-1、TNF- α 、ヒアルロン酸 (HA) の増加および気道抵抗性の上
10 昇が、LPS 投与により増強され、これらの影響が O₃ 曝露前のヒアルロン酸結合タンパク質
11 (HABP) の気管内投与により軽減された。O₃ 単独曝露においても、直前に HABP を投与す
12 ると BALF 中の細胞数、気道過敏性、炎症の前兆を示すサイトカインが未投与時と比べ減
13 少した。HA を気管内投与し LPS に単独曝露した場合でも、O₃ 曝露時と同様の反応がみら
14 れた。

15 Brand *et al.* (2012) は、0.8 ppm O₃ をマウスに 8 時間/日で 1~5 日間曝露した。O₃ 曝露によ
16 り気管と縦隔リンパ節で樹状細胞数が増加し、縦隔リンパ節では総 T 細胞数の増加もみら
17 れた。また、気管における樹状細胞の CD103、CD11b 発現増加、縦隔リンパ節における樹
18 状細胞の CD10 の発現増加、CD80、CD40、CCR7 発現減少がみられた。

19 ■ 数週間~1 か月以上の曝露による影響

20 Cohen *et al.* (2001)、Cohen *et al.* (2002) は、F344 ラットに 0.1、0.3 ppm の O₃ を 4 時間/日、
21 5 日/週で 1、3 週間曝露し、最終曝露の 24 時間後、*L. monocytogenes* を気管内投与し、1、
22 48、72、96 時間後に観察した。1 週間の曝露により、クリアランス能の低下、肺から単離
23 した T 細胞のコンカナバリン A (ConA) 刺激による増殖の亢進、肺胞マクロファージにおけ
24 るスーパーオキシドアニオン産生の増加、H₂O₂ 産生の抑制がみられたが、3 週間曝露では
25 それらの影響はみられなかった。

26 Koike *et al.* (2004) は、Wistar ラットに 0.3~1.0 ppm の O₃ を 2 週間ごとに 3 日間で計 9 日間
27 曝露した。O₃ 曝露は BALF 中細胞の抗原提示活性および Ia、B7.1、B7.2 および CD11b/c の
28 発現を増加した。

29 Feng *et al.* (2006) は、BALB/c マウスに 0.6 ppm の O₃ を 15 日間曝露した後、脾臓、胸腺の
30 単核細胞を採取した。脾臓単核細胞では、ConA 刺激による脾臓 T 細胞増殖の抑制や IL-2
31 産生の減少、ナチュラルキラー細胞活性の減少、IFN- γ 産生の増加、CD4+あるいは CD28+
32 細胞の割合の減少などが観察された。胸腺単核細胞では、未熟な T 細胞の IL-7 刺激による
33 増殖が顕著に亢進した。

34 Maniar-Hew *et al.* (2011) は、30 日齢の雄のアカゲザルに対し、0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で
35 5 日間曝露したのち、9 日間フィルター空気を曝露させるサイクルを、11 サイクル繰返して
36

1 行った。O₃曝露によりアカゲザルの末梢血中の白血球数、PMN数の減少、好酸球数の増加
2 がみられた。BALF中総細胞数は変化がなかったが、好酸球が増え、リンパ球が著しく減
3 少していた。

4 Crowley *et al.* (2017) は、4週齢の乳児アカゲザルに25週齢まで、0.5 ppmのO₃を8時間/
5 日、5日間/週で11サイクル単独またはHDMAエアロゾルと複合曝露した。O₃単独または
6 HDMAとの複合曝露は、末梢血中の単球数を増加させ、CCR3、フォークヘッドボックス
7 P3 (FoxP3)、IL-12のmRNAレベルを増加させた。気管支肺胞洗浄では、HDMAとO₃の複
8 合曝露によりリンパ球と好酸球が増加したが、抹消血中ではリンパ球に変化はなく、好酸
9 球は減少した。

11 2.1.7.3. アレルギー及び喘息関連反応への影響

12 ■ 数時間～2週間未満の曝露による影響

13 Depuydt *et al.* (2002)は、OVAによるアレルギーモデルマウスを用いて、0.1 ppm O₃を4時
14 間/日で4又は7日間曝露し、曝露が感作に影響するのか、誘発に作用するのかを*in vitro*で
15 OVA刺激した樹状細胞を投与して検討した。抗原感作中にO₃曝露を行っても気道炎症に
16 は影響を与えないが、既に抗原感作されているマウスに対し、抗原誘発時にO₃を曝露する
17 ことにより好酸球やリンパ球が増加した。

18 Wagner *et al.* (2002)は、雄のBrown Norwayラットに0.5 ppmのO₃を8時間曝露し、その
19 直後に1% OVA溶液50 µLを鼻腔に1回投与、あるいは連続3日間反復投与した。その結
20 果、O₃曝露がアレルギー投与と関連する上皮反応及び炎症反応を増悪させ、またO₃+ア
21 レルゲンの複合曝露による鼻の粘液物質産生は、いずれか単独での曝露よりも促進された。

22 Yamauchi *et al.* (2002)は、OVA非感作及び感作C57BL/6マウスに1 ppm O₃を1時間曝露
23 した。O₃曝露はアレルギー性気道炎症を起こしたマウスにおいて、ろ過空気の曝露と比較
24 して、肺コンプライアンスの低下や呼吸回数の減少、動脈血酸素分圧低下といった肺機能
25 障害を生じさせた。

26 Kierstein *et al.* (2008)は、真菌 (*Aspergillus fumigates*) 感作BALB/cマウスに3 ppm O₃を2
27 時間曝露した。O₃曝露は、好中球、及び好酸球の増加を伴ってアレルギー感作による気道
28 過敏性を増悪させた。また、アレルギーとO₃との曝露によって、Fas-Fasリガンド系が抑
29 制され、好酸球のアポトーシス誘導が阻害された。

30 Wagner *et al.* (2009)は、雄のBrown Norwayラットに0.5、1 ppm O₃を8時間曝露した。O₃
31 曝露はOVA投与によるアレルギー性鼻炎における上皮の炎症反応を増悪させ、鼻の粘液物
32 質産生を増加させた。

33 Bao *et al.* (2013)は、OVAに感作/非感作BALB/cマウスに2 ppmのO₃を3時間曝露した。
34 O₃曝露は感作/非感作マウスいずれにおいても気道過敏性を誘発・増強した。また、近位気
35 道および遠位気道において上皮細胞密度の低下を生じさせるとともに、上皮における粘液
36 物質の産生を増加させた。

1

2 ■ 数週間～1か月以上の曝露による影響

3 Neuhaus-Steinmetz *et al.* (2000)は、IgE 高応答性の BALB/c マウス及び低応答性の C57BL/6
4 マウスの雌 (6～8 週齢) に室内空気又は 0.09～0.25 ppm の O₃ を 4 週間曝露すると共に、O₃
5 曝露中に OVA エアロゾルを 4 週間吸入させることにより感作した。BALB/c マウスでは、
6 O₃ 曝露群と O₃ 曝露+OVA 感作群において血清中 IgE 産生、サイトカイン産生、好酸球、リ
7 ンパ球の気道への集積による Th2 型反応の増加がみられたが、C57BL/6 マウスでは、O₃ 曝
8 露+OVA 感作群でのみ Th2 型反応の増加がみられた。

9 Iijima *et al.* (2001)は、OVA 感作したモルモットに 0.4 ppm O₃ を 5 週間曝露した。O₃ 曝露
10 は OVA 誘発性のくしゃみと鼻分泌を増加させ、鼻過敏症を惹起するとともに、鼻上皮下へ
11 の好酸球浸潤を増大させた。また、抗 OVA-IgG 産生に O₃ 曝露による増加傾向がみられた。

12 Schlesinger *et al.* (2002a)は、OVA 感作/非感作モルモットに 0.1 ppm、0.3 ppm O₃ を 24 週間
13 曝露した。非感作モルモットでは O₃ 曝露により気道過敏性は誘発しないが、OVA による
14 感作を O₃ 曝露前か同時に行うと、モルモットの気道過敏性が増悪され、この影響は曝露終
15 了後、少なくとも 4 週間は持続した。しかしながら、気道反応性の亢進と気道における好
16 酸球性炎症や抗原特異的抗体価等との間に相関はみられなかった。

17 Funabashi *et al.* (2004)は、OVA によって感作した 6 週齢のマウスに 1.0 ppm O₃ を 6 時間/
18 日、5 日/週で 5 週間曝露した。O₃ 曝露により肺胞上皮の増生や、肺抵抗の増加、動的コン
19 プライアンスの低下がみられた。

20 Last *et al.* (2004)は、6 週齢の BALB/c マウスに 0.2 ppm の O₃ と OVA を 6 週間曝露した。
21 OVA 曝露による気道における杯細胞増加が O₃ との同時曝露で増強された。O₃ 単独曝露で
22 は杯細胞の増加はみられなかった。

23 Schelegle *et al.* (2003a)は、HDMA 感作アカゲザルを 0.5 ppm O₃ 曝露 (8 時間/日、5 日間)
24 と 9 日間ろ過空曝露を 11 回反復した。HDMA 感作または O₃ 曝露どちらか単独では気道反
25 応性に亢進はみられなかったが、感作アカゲザルへの O₃ 曝露ではアレルギー症状に関連す
26 る指標が増加するとともに気道反応性が亢進され、気道抵抗や反応性に関連した気道構造
27 の変化がみられた。

28 Joad *et al.* (2006)は、Schelegle *et al.* (2003a)とほぼ同じ方法でアカゲザルに O₃ を曝露した。
29 HDMA 感作をしていないアカゲザルでは、気管支および呼吸細気管支どちらもメサコリン
30 に対する反応性に変化はみられなかったが、HDMA 感作を行ったアカゲザルでは、O₃ 曝露
31 により呼吸細気管支でのみメサコリン反応性の亢進がみられ、部位による影響の違いがあ
32 った。

33 Farraj *et al.* (2010)は、雄の BALB/c マウスに、OVA 感作開始 3 日目より 4 週間、0.5 ppm
34 O₃ の曝露を行い、感作の 29 日後に気道反応性等を測定した。OVA が誘導した炎症細胞の
35 浸潤が O₃ 曝露によって亢進し、N-アセチルグルコサミニダーゼ、MCP-1 が増加したが、気
36 道反応性には影響がなかった。

1

2 2.1.8. その他の呼吸器系への影響に関する知見

3 その他の呼吸器影響として、O₃ の曝露による咳への影響を評価した研究がある。モルモ
4 ットとウサギを用いた研究において、O₃ が感覚神経を介し、クエン酸によって誘発される
5 咳を増強することが報告されている。

6 Clay *et al.* (2016)は、咳の誘発に関する報告として、雄の New Zealand white ウサギと
7 Dunkin-Hartley モルモットに7日おきに O₃ (ウサギ：2 ppm×1時間、モルモット：2 ppm×30
8 分) または空気にクロスオーバー形式で曝露させ、クエン酸吸入による咳の発生を調べた。
9 モルモットとウサギの両方において、O₃ 曝露は咳の頻度を増加させ、クエン酸を吸入させ
10 てから最初に咳を生じるまでの時間を短縮した。

11

12 2.1.9. 呼吸器影響における感受性要因に関する知見

13 O₃ 曝露の影響における感受性要因については、週齢・月齢差、性差、妊娠の有無、肥満、
14 運動習慣などの要因が検討されている。

15 週齢・月齢差については、炎症反応について、若齢マウスにおいては成体マウスと比較
16 して数時間の曝露による好中球炎症の度合いが小さいかみられないこと、加齢に伴いラッ
17 トにおける BALF 中の好中球増加が漸減することが報告されている。また、数か月の曝露
18 では、高齢ラットでは BALF 中好中球増加がみられなかったことが報告されている。また、
19 呼吸機能関連指標の変化についても、若齢マウスやラットにおいては成体マウスやラット
20 と比較して数時間の曝露による呼吸機能の低下、肺弾性や肺抵抗の増加の度合いが小さい
21 か生じないことが報告されている。また数か月の曝露では、高齢ラットでは呼吸頻度や分
22 時換気量の増加がみられなかったことが報告されている。気道反応性についても、若齢マ
23 ウスやラットでは成体マウスやラットと比較して、数時間の曝露による気道反応性亢進の
24 度合いが小さいかみられないことが報告されている。

25 性差については、炎症反応について、O₃ 曝露による好中球浸潤や肺における炎症の面積
26 や重症度が雄よりも雌で顕著なことが報告されている。また、宿主防御について、O₃ 曝露
27 によるマクロファージの貪食能低下や肺炎桿菌による死亡増加が、雄よりも雌で顕著なこ
28 とが報告されている。

29 妊娠の有無については、雌ラットにおける BALF 中 PMN の増加が妊娠出産経験なしのラ
30 ットと比較して授乳中及び妊娠中でより大きいことが報告されており、その感受性差は
31 BALF 中アスコルビン酸濃度の差に由来することが示唆されている。

32 肥満については、炎症反応について、肥満により肺透過性亢進や好中球浸潤が増悪する
33 とした報告と、正常マウスと比較して差がなかったとする報告が混在している。また、呼
34 吸機能関連指標の変化について、O₃ による肺抵抗の増加が増悪したとする報告がある一方、
35 通常マウスと肥満マウスで呼吸機能の変化に差がなかったとする報告や、正常マウスでみ
36 られた肺抵抗の増加や動的コンプライアンスの低下が肥満マウスでは生じなかったとする

1 報告が混在している。気道反応性については、肥満のモデル動物において O₃ 曝露による気
2 道反応性が増強されることが報告されている。

3 運動習慣については、ケージ内に回し車を設置することによりラットにおける肺抵抗の
4 増加が抑制されたとする報告があるが、差はなかったとする報告もある。

5 心血管疾患の有無については、炎症反応について、肺高血圧モデルマウスでは O₃ による
6 肺炎症や浮腫の増加が正常マウスよりも増悪することが報告されている。また、気道反応
7 性について、高血圧のモデル動物において O₃ 曝露による気道反応性の増加が増強されるこ
8 とが報告されている。

9 その他の感受性要因としては、動物種や系統、甲状腺機能、副腎機能、抗酸化酵素や抗
10 酸化物質の違いが感受性要因となっていることが示唆されている。

11 12 2.1.9.1. 週齢・月齢

13 Johnston *et al.* (2000a)は、新生仔（生後 36 時間）及び成体（生後 8 週間）の C57BL/6J マ
14 ウスに 1.0、2.5 ppm の O₃ を 4、20、24 時間曝露した。上皮細胞の傷害を引き起こす濃度で
15 の O₃ 曝露により、成体マウスは炎症に関わる遺伝子発現を惹起するが、新生マウスではほ
16 とんど惹起されなかった。

17 Shore *et al.* (2000)は、2、4、6、8、12 週齢の Sprague-Dawley ラットに 2 ppm の O₃ を 3 時
18 間曝露した。8、12 週齢ラットでは分時換気量が O₃ 曝露によって減少したが、6 週齢ラッ
19 トでは減少量が少なく、2、4 週齢ラットではほとんど変化がなかった。一回換気量、呼吸
20 回数、吸気時間の減少と、呼気時間、呼気終末休止期の増加についても同様に、8、12 週
21 齢ラットで変化が大きかった。O₃ 曝露後の BALF 中成分の測定では、2 週齢ラットでのみ
22 タンパク質と PGE₂ がより増加したが、好中球については 4 週齢と 8 週齢では増加したが、
23 2 週齢では変化がなかった。

24 Shore *et al.* (2002)は、2、4、8、12 週齢の A/J マウスに 0.3~3.0 ppm の O₃ を 3 時間曝露し
25 た。O₃ 曝露により分時換気量は減少したが、2 週齢のマウスの反応は 4 週齢以上のマウス
26 と比較して減少が小さかった。若齢マウスほど分時換気量の減少が小さいことで、体重で
27 標準化した O₃ の総吸入量は成熟マウスよりも大きくなった。にもかかわらず 2 週齢、4 週
28 齢マウスでは気道反応性の上昇がないことから、若齢動物は O₃ 曝露に対して感受性が低い
29 とされた。

30 Johnston *et al.* (2004)は、肺の発達過程における大気汚染物質の影響の変化を評価するた
31 め、2、4、7、10、14、28、56 日齢の C57BL/6 マウスに 2.5 ppm の O₃ を 4 時間、またはリ
32 LPS を吸入曝露させた。2、4、7 日齢のマウスでは O₃ 曝露後の肺組織から IL-6 mRNA は検
33 出されなかったが、10、14、28、および 56 日齢のマウスでは 18~20 倍の増加がみられた。
34 また、マクロファージは 4 日齢の肺と比較して、7 日齢の肺では著しく増加していた。LPS
35 曝露後、IL-6 mRNA は 2 日および 4 日齢のマウスでは検出されなかったが、7、14、および
36 28 日齢のマウスで 8~10 倍の増加が測定され、56 日齢のマウスでは約 20 倍であった。IL-

1 1β mRNA は、生後 2~4 日齢では約 4 倍に上昇したが、7、14、28 および 56 日齢のマウス
2 では 25~30 倍に上昇した。

3 Servais *et al.* (2005)は、3 週齢 (幼若)、6 ヶ月齢 (成体)、20 ヶ月齢 (高齢) の Sprague-
4 Dawley ラットに 500 ± 50 ppb の O_3 を 12 時間/日、7 日間曝露した。幼若および高齢のラッ
5 トでは O_3 曝露後に肺の酸化ストレスがみられたが、成体ラットではみられず、加齢に伴う
6 感受性の違いが示された。

7 Johnston *et al.* (2006a)は、4、10、56 日齢の C57BL/6 マウスに、LPS 曝露後に 1 または 2.5
8 ppm の O_3 を 4 時間曝露した。10、56 日齢のマウスで IL- 1β 、TNF- α 、TLR2、TLR4、c-jun、
9 c-fos の遺伝子が増加し、4 日齢マウスでは TNF- α 、c-jun、c-fos の遺伝子のみ増加がみられ
10 た。

11 Valacchi *et al.* (2007)は、8 週齢または 18 ヶ月齢の SKH-1 ヘアレスマウスに 0.25 ppm の O_3
12 を 6 時間/日で 4 日間曝露した。 O_3 曝露により高齢マウスでのみ肺における CD36 遺伝子の
13 発現増加と ATTP1 タンパク質の減少がみられ、若齢マウスでは ABC 輸送体 (ABCA)3 遺伝
14 子の発現低下がみられた。

15 Dormans *et al.* (2008)は、1、3、9、18 ヶ月齢のラットに 0.8 mg/m^3 O_3 を 12 時間/日で 1 日
16 または 7 日間曝露した。1 日曝露および 7 日曝露の後の肺病変の程度には年齢に関連した差
17 異がみられ、3 ヶ月齢以降のラットでは O_3 の影響を受けにくくなった。 O_3 曝露後の BALF
18 中のタンパク質およびアルブミン濃度の上昇率は、1 ヶ月齢でピークに達し、9、18 カ月齢
19 では上昇率は低下した。また、雄ラットでは曝露後の BALF 中の PMN 比率が加齢に伴い漸
20 減しており、加齢による感受性低下がみられた。

21 Shore *et al.* (2011)は、遺伝子欠損動物を使用した研究として、7 週齢または 39 週齢の
22 C57BL/6 (野生型) および TNFR1 欠損マウスの 2 ppm の O_3 を 3 時間曝露した。野生型では
23 BAL 中の好中球の増加量が 7 週齢と比較して 39 週齢のマウスで小さかったが、TNFR1 欠
24 損マウスでは差はみられなかった。39 週齢の TNFR1 欠損マウスでは、 O_3 曝露後の BAL 中
25 の MCP-1、KC、MIP-2、IL-6、IP-10 の濃度が野生型マウスと比べて高く、また、39 週齢の
26 マウスでは 7 週齢のマウスと比べて BALF 中の可溶性 TNFR 受容体 1 (sTNFR1) 濃度が O_3 曝
27 露の有無を問わず大幅に増加していた。

28 Groves *et al.* (2013)は、C57BL/6J マウスに 0.8 ppm の O_3 を 3 時間曝露した。 O_3 曝露なしで
29 は 8 週齢と比較して 27 週齢および 80 週齢の肺エラスタンスは小さかったが、 O_3 曝露によ
30 る肺エラスタンスの増加は 27 週齢でのみみられ、8 週齢と 80 週齢ではみられなかった。 O_3
31 曝露による肺レジスタンスの増加は 8 週齢と 27 週齢ではみられたが、80 週齢ではみられな
32 かった。

33 Gabehart *et al.* (2015)は、1~6 週齢の野生型及び TLR4 欠損マウスに 1 ppm の O_3 を 3 時間
34 曝露した。野生型マウスでは O_3 曝露による BALF 中のアルブミン、好中球、総細胞数増加、
35 肺における CXCL1、2 の発現増加が、週齢が高いほどより顕著にみられた。TLR4 欠損マウ
36 スでは O_3 曝露による BALF における好中球増加および CXCL1 の発現が抑制された。また、

1 野生型マウスでは 6 週齢のマウスと比較して、1~3 週齢のマウスでは肺の TLR4 発現レベ
2 ルが低かった。

3 Snow *et al.* (2016)は、1、4、12、24 ヶ月齢の雄の Brown Norway ラットに 0.25 または 1.0
4 ppm の O₃ を 6 時間/日で 2 日/週、それを 1 週間または 13 週間曝露した。13 週間の曝露期間
5 中、O₃ 曝露による呼吸頻度及び分時換気量の増加、BALF 中好中球の増加は 12 か月齢及び
6 24 か月齢ではみられなかった。一方、O₃ 曝露による呼気圧力の減衰にかかる時間の延長に
7 ついては、24 ヶ月齢の高齢ラットでのみ曝露 5 日後でも回復されなかった。

8 9 2.1.9.2. 性差

10 Schlesinger *et al.* (2002a)は、Hartley モルモットに 0.1、0.3 ppm の O₃ を 4 時間/日、4 日/週
11 で 24 週間曝露した。気道反応性への影響に雌雄差はみられなかった。

12 Mikerov *et al.* (2008a)は、C57BL/6 マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露により肺
13 胞マクロファージの貪食能が低下し、肺炎桿菌感染による死亡率が増加し、それらの度合
14 いは雄よりも雌でより大きかった。

15 Mikerov *et al.* (2008b)は、性別による感受性差のメカニズムについて、野生型または SP-A
16 欠損マウスに 2 ppm の O₃ に 3 時間曝露した。O₃ 曝露による肺胞マクロファージの貪食能低
17 下と肺炎桿菌感染による死亡率増加の度合いが、野生型より SP-A 欠損マウスで大きく、ま
18 たその傾向は雌で雄よりも大きかった。

19 Mikerov *et al.* (2011)は、C57BL/6 マウスに 2 ppm O₃ を 3 時間曝露した後、肺炎桿菌を気管
20 内投与した。O₃ 曝露はろ過空気曝露と比較して炎症面積と重症度の増加を引き起こしたが、
21 その影響は雄よりも雌で顕著であった。

22 Cabello *et al.* (2015)は、8 週齢の雌雄 C57BL/6J マウスに 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。
23 雌で好中球浸潤と CCL20、CXCL5、CXCL2 などのケモカインや炎症性サイトカイン IL-6
24 の遺伝子発現がより強く誘導された。

25 Gordon *et al.* (2016b)は、30 日齢の Brown Norway ラットに通常の餌、高フルクトース餌ま
26 たは高脂肪餌を 12 週間与えた後、O₃ を 0.8 ppm で 5 時間または 0.8 ppm、5 時間/日、週 1 日
27 で 4 週間曝露した。肺機能（分時換気量、肺抵抗、一回換気量、呼吸数）及び肺胞洗浄液
28 中の好酸球、アルブミン、マクロファージの変化については、いずれの性別や食餌におい
29 ても同様の傾向がみられ、顕著な違いはみられなかった。

30 Mishra *et al.* (2016)は、8 週齢の C57BL/6 雄マウスと発情周期の異なる雌マウスに 2 ppm の
31 O₃ を 3 時間曝露した。O₃ 曝露により雌でのみ IL-6R 発現、JAK2/STAT3 および AKT1/NF-
32 κB 経路の活性化がみられ、また雌における影響は性周期により変化がみられた。

33 Fuentes *et al.* (2018)は、8 週齢の雌雄の C57BL/6 マウスに、2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した
34 後、肺における miRNA の発現を解析した。性別とホルモン状態の両方が O₃ 曝露に応答す
35 る肺の miRNA 発現に影響を与える可能性があることを示し、炎症性遺伝子発現の性特異的
36 な miRNA 調節が、汚染物質に対する健康へ影響の性差を仲介しうることが報告された。

1

2 2.1.9.3. 妊娠・出産

3 Gunnison and Hatch (1999)は、妊娠や出産経験による感受性の違いについて、妊娠中、授
4 乳中、妊娠および出産経験のない Sprague-Dawley ラットに 0.5~1.1 ppm の O₃ を 1~4 時間
5 曝露した。O₃ 曝露による BALF 中の PMN の増加が授乳中>妊娠中>妊娠出産経験なしの
6 順で大きく、授乳中ラットでは BALF 中タンパク質量が妊娠中と妊娠出産経験なしよりも
7 高かった。ろ過空気曝露群では BALF 中アスコルビン酸濃度が妊娠出産経験なしのラット
8 よりも妊娠中、授乳中のラットで低かった。

9

10 2.1.9.4. 肥満

11 Shore *et al.* (2003)は、正常マウスと遺伝性肥満マウスモデルである ob/ob マウスに 2 ppm
12 の O₃ を 3 時間曝露した。肥満マウスでは正常マウスと比較して O₃ 吸入量が増加し、O₃ 曝
13 露による気道反応性と透過性亢進、好中球浸潤、肺抵抗の増加や呼気終末休止期の減少が
14 増悪したが、これらの影響はレプチン投与では回復しなかった。

15 Johnston *et al.* (2008)は、C57BL/6 マウスに 20-22 週齢または 30 週齢以上まで高脂肪食を
16 与えて肥満を生じさせ、2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。30 週齢以上まで高脂肪食で飼育し
17 たマウスでは O₃ 曝露による気道反応性の増加、BALF 中の IL-6、KC、MIP-2、IFN- γ 誘導
18 性タンパク質-10 (IP-10)、エオタキシンの増加が健常マウスよりも大きかった。

19 Shore *et al.* (2009)は、野生型マウスと遺伝性肥満マウスである db/db マウス及び Cpe^{fat} マ
20 ウスに 0.3 ppm の O₃ を 72 時間曝露した。正常マウスでみられた O₃ 曝露による肺抵抗の増
21 加、好中球浸潤や透過性の亢進、動的コンプライアンスの低下が、肥満マウスではみられ
22 なかった。正常マウスと IL-6 欠損マウスを 10%、60%の脂肪食で飼育し、O₃ 曝露すると、
23 IL-6 が低下した高脂肪食肥満マウスと IL-6 欠損マウスでは O₃ 曝露による好中球浸潤が減少
24 した。

25 Dye *et al.* (2015)は、複数の健常モデルラット (Wister-Kyoto、Wister、SD)、心血管疾患
26 モデルラット (SH、FHH、SHSP)、肥満モデルラット (SHHF、JCR) に 0.25~1.0 ppm の
27 O₃ を 4 時間曝露した。O₃ 曝露により SHHF ラットを除くすべての系統で分時換気量の濃度
28 依存的な減少がみられた。O₃ 曝露による肺抵抗の増加は Wister-Kyoto ラットで特に大きく、
29 Wister-Kyoto、SH、SHSP ラットでは 20 時間後も肺抵抗の上昇が持続した。

30 Williams *et al.* (2015)は、12 週齢の雌マウス (C57BL/6、TNF α 欠損、Cpe^{fat}、Cpe^{fat}/TNF α
31 欠損) に 2 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。野生型と比較して、満腹感を調節するカルボキシ
32 ペプチダーゼ E を欠損している Cpe^{fat} マウスにおいて血清中 IL-17A、G-CSF、KC、MCP-1、
33 IL-9、MIG (CXCL9)およびレプチンが増加し、血中の炎症マーカーが上昇し、気道反応性
34 が亢進した。

35 Gordon *et al.* (2016b)は、30 日齢の Brown Norway ラットに通常の餌、高フルクトース餌ま
36 たは高脂肪餌を 12 週間与えた後、O₃ を 0.8 ppm で 5 時間、または 0.8 ppm、5 時間/日、週 1

1 日で 4 週間曝露した。呼吸機能（分時換気量、肺抵抗、一回換気量、呼吸頻度）及び肺胞
2 洗浄液中の好酸球、アルブミン、マクロファージの変化については、いずれの性別や食餌
3 においても同様の傾向がみられ、顕著な違いはみられなかった。

4 *Gordon et al. (2017a)*は、30 日齢雌の Long-Evans ラットを高脂肪餌 (HF) または対照餌 (CD)
5 で 6 週間飼育した上で妊娠させ、妊娠 1 日目から出産まで回し車有 (RW) または回し車無
6 (SED) のケージで飼育し、CD-SED、CD-RW、HF-SED および HF-RW の 4 つの仔グループ
7 を作成した。各子孫グループに 0.8 ppm の O₃ を 4 時間/日で連続 2 日間曝露した。CD-SED
8 の雄と比較して HF-SED の雄において O₃ 曝露による総細胞数、好中球およびリンパ球の
9 増加が亢進した。

10 *Mathews et al. (2017a)*は、10 週齢の雌の C57BL/6J 及び C57BL/6 (db/db) マウスに 2 ppm
11 の O₃ を 3 時間曝露させた。O₃ 曝露は肺のメタボロームに変化を生じさせ、通常マウスにお
12 いてホスホコリン含有リゾ脂質の減少やモノグリセリドの増加を引き起こしたが、これら
13 の影響は肥満マウスでは小さかった。

14 *Mathews et al. (2017b)*は、雌の C57BL/6J および db/db マウスに IL-33 受容体である ST2 の
15 抗体を投与した後、2 ppm の O₃ に 3 時間曝露した。また、C57BL/6J または $\gamma\delta$ T 細胞欠損型
16 マウスを通常食または高脂肪食で 24 週間飼育した後、O₃ を曝露した。その結果、O₃ 曝露
17 により肥満モデルマウスで O₃ 誘発性の気道過敏性の亢進に IL-33 の誘導が関与することお
18 よび $\gamma\delta$ T 細胞と 2 型自然リンパ球による 2 型サイトカインの増加が関与することを明らか
19 にし、やせたマウスでは IL-33 による影響がみられず、O₃ への応答性は肥満に関連して異
20 なることを示した。

21 *Mathews et al. (2018)*は、10 週齢の雌の C57BL/6、db/db マウスに抗 IL-17A またはアイソ
22 タイプの抗体を投与した後、2 ppm の O₃ を 3 時間曝露させた。肥満マウスでは正常マウス
23 と比較して O₃ 曝露による BAL 中の好中球、IL-17A、ガストリン放出ペプチド (GRP) の増
24 加が大きく、また気道反応性の亢進も大きかった。抗 IL-17A 抗体または抗 GRP 抗体処理
25 により、肥満マウスにおける BALF 中好中球増加と気道反応性の亢進は正常マウスと同程
26 度まで抑制された。また IL-17A 抗体は GRP 受容体の発現を抑制した。

27 28 2.1.9.5. 運動

29 *Martinez-Campos et al. (2012)*は、10 週齢の雄の Wistar ラットに有酸素運動（1 日 90 分泳
30 ぐように訓練）を実施した後、O₃（0.5 ppm で 1 日 4 時間、運動の 1 時間前）を 2 週間曝露
31 した。対照として、静止+ろ過空気曝露、静止+O₃ 曝露、運動+ろ過空気曝露の組み合わ
32 せを実施した。運動は O₃ 曝露による NO_x の低下、8-イソプロスタンと MDA の増加による
33 酸化ストレスを抑制した。

34 *Gordon et al. (2016a)*は、60 日齢の雌の Sprague-Dawley ラットを 12 週間回し車で連続的に
35 運動させたラットと、回し車のないケージで飼育したラットに、0.25~1.0 ppm の O₃ を 5 時
36 間/日、1 日/週、6 週間で曝露した。運動習慣は O₃ による肺抵抗の増加を抑制した。

1 Gordon *et al.* (2017a)は、30日齢雌の Long-Evans ラットを高脂肪餌または対照餌で6週間
2 飼育した上で妊娠させ、妊娠一日目から出産まで回し車有 (RW) または回し車無 (SED) の
3 ケージで飼育し、CD-SED、CD-RW、HF-SED および HF-RW の4つの子孫グループを作成
4 した。各子孫グループに0.8 ppmのO₃を4時間/日で連続2日間曝露させ、グルコース負荷
5 試験、呼吸、BALF細胞数およびタンパク質バイオマーカー、出生児のO₃に対する応答性
6 を評価した。O₃曝露は耐糖能の低下、呼吸抵抗の増加、BALF中の細胞数増加を引き起こ
7 し、これらの影響は特に雄で顕著であった。

8 Gordon *et al.* (2017b)は、22日齢から10週間回し車のある (ACT) 又はない (SED)ケージで
9 飼育した雌の Long-Evans ラットに0.25、0.5、1.0 ppmのO₃を5時間/日×2日曝露させ、SED
10 およびACTラットの反応を調べた。その結果、習慣的な運動は、O₃に対する代謝および肺
11 応答の一部 (グルコース負荷応答および好酸球) を改善したが、肺抵抗の増加については
12 どちらの群でもみられた。

13 14 2.1.9.6. 心血管疾患

15 Dye *et al.* (2015)は、複数の健常モデルラット (Wister-Kyoto、Wister、SD)、心血管疾患
16 モデルラット (SH、FHH、SHSP)、肥満モデルラット (SHHF、JCR) に0.25~1.0 ppmの
17 O₃を4時間曝露した。O₃曝露によりSHHFラットを除くすべての系統で分時換気量の濃度
18 依存的な減少がみられた。O₃曝露による肺抵抗の増加はWister-Kyotoラットで特に大きく、
19 Wister-Kyoto、SH、SHSPラットでは20時間後も肺抵抗の上昇が持続した。

20 Kodavanti *et al.* (2015)は、12-14週齢の雄の健常ラット (Wistar Kyoto(WKY)、Wistar(WS)、
21 Sprague Dawley(SD)) 及び循環器系疾患モデルラット(自然発症高血圧(SH)、Fawn-Hooded
22 高血圧(FHH)、脳卒中易発性の自然発症高血圧(SHSP)、肥満の自然発症高血圧性心不全
23 (SHHF)、および肥満JCR(JCR))ラットを0.25、0.5、1.0 ppmのO₃に4時間曝露した。O₃
24 によるタンパク質と炎症の増加は各系統で濃度依存性を示したが、反応の程度は系統ごと
25 に、また時間とともに異なっており、SHとSHHFにおいては好中球性炎症が最も生じにく
26 かったが、SHSPとFHHでは最も大きな影響がみられ、健康なラットの中ではSDが最も
27 影響を受けなかった。O₃によるタンパク質漏出については、循環器疾患モデル系統の中で
28 は肥満のラットよりも痩せたラットで顕著だった。

29 Wong *et al.* (2018)は、44-52週齢の雄のWistar Kyotoラット及び自然発生高血圧ラットに、
30 燃焼由来超微小粒子 (UFPM, ~250 µg/m³)、O₃ (1.0 ppm) またはその組み合わせを6時間
31 曝露した。UFPMとO₃の複合曝露では健常ラット、高血圧モデルラットいずれにおいても
32 における浮腫、PMN浸潤、上皮細胞の壊死がみられたが、O₃単独曝露では、高血圧モデル
33 ラットでのみそれらの影響がみられた。

2.1.9.7. その他の感受性要因

Depuydt *et al.* (1999)は、0.05 ppm O₃に対する感受性を9系統のラットを用いて調べた。Lewis ラット、BDII ラット、Long-Evans ラットにおいて気道炎症を伴わない気道過敏性の増加がみられた。

Dormans *et al.* (1999)は、7週齢の雄の Wistar RIV:Tox ラット、NIH マウス、Hartley Crl:(HA)BR モルモットに0.2、0.4 ppm O₃を3、7、28、56日間連続で曝露した。肺におけるタンパク質及び酵素活性の増加はマウスで最も顕著であり、肺泡マクロファージの増加はモルモットで最も顕著であった。組織病理学的な変化については、マウスにおいてのみ濃度及び曝露時間依存的な細気管支上皮の肥厚がみられ、ラット及びモルモットでは、0.4 ppm O₃への56日間曝露後にII型細胞における層状体の形成がみられた。また、ラット及びモルモットでは、56日間の曝露後に肺胞管の線維形成がみられた。

Dye *et al.* (1999)は、F344 ラット、Sprague-Dawley ラット、Wistar ラットに0.5 ppm のO₃を8時間曝露した。F344 ラットでは、肺傷害、好中球性炎症、BALF 中のプロスタグランジン E2 及び IL-6 濃度、いずれについても一貫して他の系統よりも O₃ 曝露による影響が小さかった。

Neuhaus-Steinmetz *et al.* (2000)は、IgE 高応答性の BALB/c マウス及び低応答性の C57BL/6 マウスの雌 (6~8 週齢) に室内空気又は 0.09~0.25 ppm の O₃ を4週間曝露すると共に、O₃ 曝露中に OVA エアロゾルを4週間吸入させることにより感作した。BALB/c マウスでは、O₃ 曝露群と O₃ 曝露+OVA 感作群において血清中 IgE 産生、サイトカイン産生、好酸球、リンパ球の気道への集積による Th2 型反応の増加がみられたが、C57BL/6 マウスでは、O₃ 曝露+OVA 感作群でのみ Th2 型反応の増加がみられた。

Sterner-Kock *et al.* (2000)、アカゲザル (4 歳)、フェレット (18 か月齢)、Sprague-Dawley ラット (10 週齢) を用いて 1 ppm O₃ を8時間曝露した。1時間後に回収した BALF における好中球の増加及び肺組織における浸潤がみられ、特にサルとフェレットにおいて顕著であった。

Huffman *et al.* (2001)は、生後37~40日の雄の Sprague-Dawley ラットに溶媒又は 1.00 mg/kg のチロキシンを7日間投与した後、0.5~3.0 ppm の O₃ を3時間曝露した。また、0.25~1.00 mg/kg のチロキシンを投与した後、2.0 ppm の O₃ を3時間曝露した。チロキシン投与により甲状腺機能亢進ラットでは、O₃ 曝露による BALF 中の乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性及びアルブミン濃度が3~6倍増加し、多核白血球数が増加した。

Huffman *et al.* (2002)は、7日間のチロキシン (0.5 mg/kg) の投与によって甲状腺機能亢進状態を誘発されたラットに O₃ を 2 ppm で 3 時間曝露させ、曝露から 18 時間後に影響を調べた。MIP-2 と MCP-1 の気管支肺泡洗浄液レベルは、対照ラットと甲状腺機能亢進症ラットの両方で O₃ 曝露により増加したが、甲状腺機能亢進症ラットにおける増加は、対照群のレベルと比較して MIP-2 が 1.5 倍、MCP-1 が 11 倍大きかった。また、甲状腺機能亢進症ラ

1 ットの気管支肺胞洗浄細胞抽出物における NF- κ B 結合活性は、対照群と比較して、O₃ 曝露
2 後 4 時間と 18 時間の両方で増加していた。

3 Broeckaert *et al.* (2003)は、O₃ への感受性の高い順に C57BL/6J マウス、CBA/ca マウス、
4 SJL/J マウス、AKR/J マウス、C3H/HeJ マウスの 5 系統のマウスを用いて 1.8 ppm の O₃ を 3
5 時間曝露した。O₃ への感受性が高い系統のマウスほど、O₃ 曝露前の BALF 中クララ細胞タ
6 ンパク質 (CC16) のレベルが低く、O₃ 曝露による血清中のクララ細胞タンパク質 (CC16)
7 の増加が顕著であった。

8 Savov *et al.* (2004)は、遺伝的要因と O₃ 曝露による気道反応性と炎症反応の誘導の違いを
9 9 系統のマウスを用いて調べた。2 ppm O₃ の 3 時間曝露では、曝露 6 時間後のベースライン
10 肺抵抗の増加割合や、24 時間後に観察された肺抵抗の経時的な低減が、系統によって差が
11 あることから、1、7、15 番染色体上の遺伝子座が感受性の違いに関与していることが報告
12 された。

13 Huffman *et al.* (2006)は、チロキシシン投与により甲状腺機能を亢進させたラット及び正常
14 ラットにろ過空気又は 1 ppm の O₃ を 4 時間曝露した。甲状腺機能亢進ラットにおいて正常
15 ラットよりも BALF 中の好中球やアルブミンが増加した。

16 Vancza *et al.* (2009)は、雌雄の A/J マウス、AKR/J マウス、C3H/HeJ マウス、BALB/cJ マ
17 ウス、C57BL/6J マウス、DBA/J マウス、SJL/J マウス及び 129x1/SvJ マウス、それぞれの成
18 熟個体 (生後 15 週) 及び幼若個体 (生後 15~16 日) に空気又は 0.8 ppm の O₃ を 5 時間曝
19 露した。幼若マウスにおいては O₃ に対する感受性の系統差がみられ、BALB/c マウス及び
20 SJL/J マウスでは感受性が高く、A/J マウスと 129x1/SvJ マウスでは感受性が低かった。O₃ 曝
21 露に対する PMN の反応は、SJL/J 系統、C3H/HeJ 系統のマウスにおいて成熟マウスより幼
22 若マウスで大きく、¹⁸O を用いた O₃ 吸入量解析によれば SJL/J マウスの O₃ 吸入量は成熟マ
23 ウスと幼若マウスで差がなく O₃ 吸入量に依存しなかった。成熟マウスでは、O₃ 曝露に対す
24 る反応の性差はわずかであった。

25 Hatch *et al.* (2015)は、計 8 種類の循環器疾患モデル、肥満モデルラットに 0.25~1.0 ppm
26 の O₃ を 4 時間曝露させ、肺や心臓における抗酸化物質や抗酸化酵素の違いにより、O₃ 応答性
27 が異なることを報告した。

28 Miller *et al.* (2016a)は、12-13 週齢の雄の Wistar Kyoto ラット (両側副腎髓質摘出、両側副
29 腎全摘出处置) に、1 ppm の O₃ を 4 時間/日で 1 日または 2 日間曝露した。O₃ に誘導された
30 努力呼吸は両側副腎全摘出ラットでは明白ではなく、また O₃ による肺タンパク質漏出およ
31 び好中球性炎症の増加は、両側副腎髓質摘出および両側副腎全摘出ラットで著しく減少し
32 た (両側副腎全摘出 > 両側副腎髓質摘出)。肺機能については、O₃ 曝露による肺抵抗の亢
33 進が、両側副腎全摘出マウスでは対照マウスよりも抑制された。

34 Zychowski *et al.* (2016)は、C57BL/6 マウスを 3 週間連続で正常酸素 (20.9% O₂) または低
35 酸素 (10.0% O₂) に曝露し、続いて 1 ppm の O₃ またはろ過空気に 4 時間曝露した。肺高血
36 圧状態下での O₃ 曝露が肺における炎症、浮腫の増加と気道過敏性の亢進を促進した。

1

2 2.1.10. 他の物質との複合曝露による影響に関する知見

3 O₃ と他の大気汚染物質との複合曝露影響については、粒子状物質、硫酸、窒素酸化物、
4 ホルムアルデヒド、タバコ煙などについての報告がある。

5 粒子状物質との複合曝露については、O₃ とオタワ標準粉じん (EHC-93) との複合曝露に
6 より、近位気道における中隔組織の肥厚化とⅡ型細胞の増加等の組織学的変化が O₃ 単独よ
7 りも増強された一方、O₃ 単独でみられていた気道直径の減少、気道の長さの減少が EHC-
8 93 との複合曝露ではみられなくなったことが報告されている。また、肺組織や気道におけ
9 る好中球及びマクロファージ増加が O₃ 単独よりも増強されたことが報告されている。

10 ディーゼル排気粒子 (DEP) との複合曝露では、O₃ 単独よりも炎症の程度が小さかったが、
11 O₃ 処理を行った DEP の曝露では、非 O₃ 処理 DEP と比較して炎症の増強がみられている。
12 また、DEP との複合曝露により、O₃ 単独よりも気道反応性の亢進が増強されたことが報告
13 されている。

14 炭素粒子との複合曝露については、肺におけるコラーゲンの減少が O₃ 単独曝露よりも増
15 強されたこと、BALF 中の PMN 増加やマクロファージの機能亢進が O₃ 単体曝露よりも増
16 強されたことが報告されている。

17 硫酸との複合曝露については、O₃ 曝露による炎症が抑制されたことが報告されている。

18 NO₂ との複合曝露については、O₃ 単独曝露と比較して、肺におけるマクロファージ及び
19 Ⅱ型上皮細胞の増加や、細胞壁の肥厚化、Ⅰ型及びⅢ型コラーゲンの遺伝子発現亢進がみ
20 られている。

21 ホルムアルデヒドとの複合曝露については、O₃ 単独曝露でみられた呼吸数の増加と一回
22 換気量の減少がみられなかったことが報告されている。

23 タバコ煙との複合曝露については、O₃ 曝露による肺における炎症や上皮傷害が増強され
24 ることが報告されている一方、母体へのタバコ煙曝露により出生仔における O₃ による炎症
25 や酸化ストレスが抑制されることが報告されている。

26 その他、クロム化合物、硫酸水素アンモニウム (ABS)、1-ニトロナフタレン (1-NN)、ベ
27 ンゾ[a]ピレン、Pre-mixed flame particles (PFP) との複合曝露を行った研究が報告されている
28 が、報告数は少ない。

29

30 2.1.10.1. 粒子状物質と O₃ の複合曝露

31 ■ オタワ標準粉じん (EHC-93)

32 Bouthillier *et al.* (1998)は、雄の Fischer 344 ラットに 0.8 ppm の O₃ 及び/又は 40 mg/m³ の
33 EHC-93 粒子を 4 時間/日で、1 日又は 3 日曝露した。BALF 中のタンパク質、フィブロネク
34 チン、好中球については O₃ 単独で増加したが、近位気道における中隔組織の肥厚化とⅡ型
35 細胞の増加については EHC-93 粒子と O₃ の複合曝露でのみみられた。

1 Adamson *et al.* (1999)は、Fischer 344 ラットに 0.8 ppm O₃ と 50 mg/m³ EHC-93 の単独、又は
2 複合で 4 時間曝露した結果、肺組織や気道の好中球及びマクロファージは、O₃ 単独曝露と
3 比較して O₃ と EHC-93 の複合曝露によって増加した。

4 Thomson *et al.* (2004)は、ラット (Fischer-344、雄、齢数不明、n=3~9) に 0.8 ppm O₃ 及び
5 粒子状物質(PM : EHC-93) 49 mg/m³ を 4 時間曝露させ、曝露から 2 時間後、1 日後、2 日後、
6 3 日後、7 日後及び 14 日後に肺組織中のエンドセリン関連 mRNA を測定した。O₃ 及び EHC-
7 93 を複合曝露させたラットでは、曝露 2 時間後に肺内皮細胞においてエンドセリン前駆体
8 であるプレプロエンドセリン-1 及びエンドセリン変換酵素 mRNA の発現が誘導され、プレ
9 プロエンドセリン-3 mRNA の発現は抑制されたが、曝露 24 時間後時点では空気曝露群と同
10 レベルまで戻った。

11 Lee *et al.* (2011)は、7 日齢の雄の Sprague-Dawley ラットに、O₃ 単独 (0.5 ppm の O₃ を 6 時
12 間/日、週 2 日または週 5 日) または O₃ とエチレン、酸素、アルゴンの混合ガスの燃焼によ
13 り生じた粒子 (PFP、6 時間/日、週 5 日) の複合曝露を 25 日齢までおこない、成長後の肺構
14 造を観察した。O₃ を週 5 日で曝露した群で、気道の直径や長さの減少がみられたが、
15 PFP との複合曝露ではこれらの影響はみられなかった。

16

17 ■ ディーゼル排気粒子 (DEP)

18 Madden *et al.* (2000)は、60 日齢の Sprague-Dawley ラットに、O₃ 処理 (0.1 ppm、1.0 ppm)
19 を施した DEP 又は非処理の DEP を気管内投与した。O₃ 処理 DEP は、O₃ 非処理 DEP と比較
20 して、BALF 中の好中球数、総タンパク質量、LDH 活性を増加させた。

21 Farraj *et al.* (2010)は、アレルギー性疾患モデルとして OVA 感作したマウスに 0.5 ppm の
22 O₃ と 2.0 mg/m³ の DEP を 5 時間/回、1 回/週で単独あるいは複合曝露した。OVA 感作マウス
23 は O₃ 曝露及び O₃ と DEP の複合曝露によって、DEP の単独曝露と比較して IgE の増加を示
24 した。また、O₃ と DEP の複合曝露は気道反応性を増加させるが、単独曝露では影響はみら
25 れなかった。肺の炎症反応については、DEP が O₃ による増悪を抑制した。

26

27 ■ 濃縮大気中粒子状物質 (CAPs)

28 Kobzik *et al.* (2001)は、OVA と Al(OH)₃ の腹腔内投与後に OVA を吸入感作した BALB/c マ
29 ウスに CAPs (300~500 µg/m³、粒径 0.15~2.5 µm) と 0.3 ppm O₃ を 3 日間曝露 (5 時間/日)
30 した。CAPs 単独または CAPs+O₃ の複合曝露により気道反応性の上昇がみられたが、
31 O₃CAPs 単独曝露と CAPs+O₃ 複合曝露いずれにおいても BALF 中の全細胞数及びマクロフ
32 ザー数数は減少していた。なお、この研究では O₃ 単独での曝露は行っていない。

33 North *et al.* (2011)は、OVA 感作により喘息症状を誘導した BALB/c マウスに 2 ppm の O₃
34 および CAP (>175 µg/m³) を 4 時間曝露した。O₃ と CAP の複合曝露は、肺におけるアルギ
35 ナーゼ発現を増加させ、気道反応性を上昇させた。またアレルギーの阻害は、気道反

1 応性の上昇を抑制した。なお、この研究では CAP 単独及び O₃ 単独での曝露は行っていな
2 い。

3 4 2.1.10.2. 炭素粒子と O₃ の複合曝露

5 Elder *et al.* (2000a, 2000b)は、10 週齢または 20 月齢の Fischer-344 ラットに 1 ppm の O₃、
6 LPS エアロゾル、超微小炭素粒子を 6 時間曝露した。BALF 中の PMN 増加は、10 週齢、20
7 月齢いずれにおいても O₃ 単独曝露、O₃+超微小炭素粒子、O₃+超微小炭素粒子+LPS の順
8 に大きかった。BALF 中細胞からの酸化物質の放出は、10 週齢ラットでは O₃ 曝露単独より
9 も超微小炭素粒子との複合曝露で少なかった。

10 Kleinman *et al.* (2000)は、20~24 か月齢の高齢ラットに 0.2 ppm の O₃、50 µg/m³ の炭素粒
11 子、70 µg/m³ の ABS 粒子を単独あるいは複合曝露した。ABS+炭素粒子+O₃ の複合曝露群で
12 は、肺におけるコラーゲン減少、マクロファージのスーパーオキシド産生増加、食食能の
13 増加がみられたが、各物質単独ではこれらの影響はみられなかった。

14 Han *et al.* (2008)は、20 µg のカーボンナノチューブを経咽頭投与した C57B1 マウスに 0.5
15 ppm の O₃ を 3 時間曝露した。肺の炎症反応において明確な複合影響はみられなかった。

16 17 2.1.10.3. 硫酸と O₃ の複合曝露

18 Kleinman *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットに 0.2、0.4 ppm の O₃ の単独曝露、又は O₃
19 と硫酸被覆炭素粒子状物質との複合曝露を行った。4 時間/日による最長 5 日間の曝露によ
20 り、O₃ 単独曝露、硫酸被覆炭素粒子状物質との複合曝露いずれにおいても、肺炎症、一回
21 換気量の低下、肺胞マクロファージの Fc 受容体結合能の低下がみられた。

22 Kleinman and Phalen (2006)は、Sprague-Dawley ラットに 0.3 または 0.6 ppm の O₃ と 0.5 ま
23 たは 1.0 µg/m³ の硫酸エアロゾルを 4 時間曝露した。O₃ と硫酸の複合曝露は、肺における O₃
24 誘発性炎症反応の硫酸濃度依存的な減少をもたらした。また、O₃ 単独曝露により傷害の指
25 標である鼻腔、肺組織における DNA 合成の増加が認められたが、硫酸単独曝露では認めら
26 れなかった。

27 28 2.1.10.4. 窒素酸化物と O₃ の複合曝露

29 Sindhu *et al.* (1998)は、ラットに O₃ と硝酸蒸気を複合曝露 (40 週間) し、抗炎症作用と関
30 連する肺ポリアミン (putrescine, spermidine, spermine) の含有量を検討した。O₃ 単独及び硝
31 酸との複合曝露により、ポリアミンのうち putrescine の増加がみられた。

32 Farman *et al.* (1999)は、ラットに O₃、NO₂ を単独又は複合的に 7、78、90 日間曝露した。
33 O₃ と NO₂ の複合曝露によりそれぞれの単独曝露よりも広範囲な組織病変 (マクロファージ
34 及びII型上皮細胞の増加、細胞壁の肥厚化など) がみられ、肺でのI型及びIII型コラーゲン
35 の遺伝子発現が亢進された。

1 Ishii *et al.* (2000b)は、Sprague-Dawley ラットに 0.4 ppm の O₃ と 7 ppm の NO₂ を 90 日間複
2 合曝露した。その結果、複合曝露により肺の線維化がみられた。ただしこの研究では単独
3 曝露は行われていない。

4 Weller *et al.* (2000)は、10-12 週齢の雌の Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm の O₃ と 14.4 ppm
5 の二酸化窒素の混合気体を毎晩 6 時間、1、5、8 週間曝露させ、肺の近位および遠位肺胞管
6 における TNF- α と MnSOD の発現を経時的に評価した。TNF- α は混合気体曝露による肺傷
7 害形成の全ての時点で肺の広い範囲で発現が上昇し、MnSODは特に長期曝露によって発現
8 が増強された。ただしこの研究では単独曝露は行われていない。

9 Ye *et al.* (2017)は、雌の BALB/c マウス (8~10 週齢) に 10~150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の二次有機エアロ
10 ザル (SOA、一般的な粒子状大気汚染物質)、SOA (30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) + O₃ (65 ppb)、または
11 SOA+O₃ (65 ppb) +二酸化窒素 (NO₂; 100 ppb) を 1 日 1 時間連続 3 日間曝露させた。SOA
12 のみ曝露させたマウスでは、SOA 濃度の増加に伴い、メサコリンに対する気道過敏性が増
13 加したのに対し、SOA + O₃、または SOA + O₃ + NO₂ を曝露させたマウスでは、メサコリン
14 に対する気道過敏性への相加影響が生じた。気道への炎症性細胞の集簇は、いずれの曝露
15 条件でも観察されなかった。

16 17 2.1.10.5. ホルムアルデヒドと O₃ の複合曝露

18 Mautz (2003)は、Sprague-Dawley ラットに 0.6 ppm O₃ と 10 ppm ホルムアルデヒドを 3 時
19 間曝露した。安静状態で曝露したラットにおいて、呼吸数は O₃ 曝露群では増加したが、ホ
20 ルムアルデヒド曝露群では減少し、O₃+ホルムアルデヒド複合曝露群では更に減少した。
21 また、一回換気量は、O₃ 曝露群とホルムアルデヒド曝露群では減少したが、O₃+ホルムア
22 ルデヒド複合曝露群では増加し、3 時間目には空気を曝露した対照群とほぼ同等となった。
23 運動させながら 3 時間の曝露を行ったラットでは、O₃ 単独およびホルムアルデヒドとの複
24 合曝露により顕著な気道の上皮損傷がみられた。

25 26 2.1.10.6. タバコ煙と O₃ の複合曝露

27 Yu *et al.* (2002b)は、雄の B6C3F1 マウス (10 週齢) にろ過空気、又は 0.5 ppm の O₃ 及び
28 粒子濃度 29.5 mg/m^3 の ADSS (aged and diluted sidestream cigarette smoke) を単独あるいは複合
29 で計 4 日間曝露した。BALF 中の総細胞数、タンパク質量、白血球の割合、肺組織上皮細胞
30 の細胞増殖は O₃ 曝露により増加し、ADSS と O₃ の複合曝露で更に顕著に増加した。また、
31 複合曝露により、LPS 刺激による肺胞マクロファージからの IL-6、TNF- α の放出は減少し
32 た。

33 Han *et al.* (2011)は、妊娠した雌の SD ラットおよび出生仔 (胎仔期~13 日齢) に、Air/Air
34 (胎仔期: ろ過空気、生後: ろ過空気)、Air/O₃ (胎仔期: ろ過空気、生後: O₃)、TS/Air (胎
35 仔期: タバコ煙、生後: ろ過空気)、TS/O₃ (胎仔期: タバコ煙、生後: O₃) の組み合わせで曝
36 露を行った。O₃ は 0.61 \pm 0.01 ppm で 3 時間の単回曝露とした。子宮内での TS 曝露は出生仔

1 への O₃ 曝露による PMN 浸潤を弱めるとともに、MPO 活性を著しく上昇させた。また、
2 Air/O₃ 群では、肺組織中の MnSOD、細胞外スーパーオキシドジスムターゼ量の変化から O₃
3 による酸化ストレスの影響がみられたが、TS/O₃ ではこの影響は抑制されていた。

4 2.1.10.7. その他の物質と O₃ の複合曝露

5 Cohen *et al.* (1998) は、雄の F344 ラットに K₂CrO₄ あるいは BaCrO₄ の 360 µg Cr/m³ の粒子
6 状物質（粒径 0.4~0.6 µm）と 0.3 ppm の O₃ を単独又は複合で 5 時間/日、5 日/週で 2、4 週
7 間曝露した。K₂CrO₄+O₃ 群では、他の曝露群に比べ肺洗浄液中の総細胞数は増加した。
8 BaCrO₄ 群では、2 週間曝露では対照群よりも総細胞数は増加したが、4 週間曝露では差は
9 みられなかった。K₂CrO₄ 群では、BaCrO₄ 群に比べ IL-1 産生の抑制が強かった。これとは
10 反対に、NO、O₂⁻、H₂O₂ 産生については BaCrO₄ 群での影響がより顕著であった。しかし、
11 いずれの指標でも O₃ との複合曝露では、Cr⁶⁺ 化合物単独曝露でみられたような影響はみら
12 れなかった。

13 Kleinman *et al.* (2000) は、0.2 ppm O₃ と 70 µg/m³ ABS を曝露したが、明確な複合影響はみ
14 られなかった。

15 Paige *et al.* (2000b) は、Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm の O₃ を 8 時間/日で 90 日間曝露さ
16 せ、曝露終了後、肺傷害を引き起こす 1-NN を腹腔内投与し、24 時間後に肺組織を採取し、
17 病理学的検索を行った。O₃ 曝露群ではろ過空気曝露群と比較して 1-NN 投与後の終末気管
18 支の傷害が顕著であり、基底膜の脱落や上皮細胞の壊死がみられた。一方で、肺内気管支
19 や気管では O₃ 曝露による影響はみられなかった。

20 Mautz *et al.* (2001) は、ラットに O₃、NO₂、ABS、炭素粒子、HNO₃ の混合大気環境汚染物
21 質を 4 時間/日、3 日/週、4 週間曝露した。中濃度曝露群（O₃: 0.30 ppm、NO₂: 0.20 ppm、
22 ABS: 0.10 mg/m³、炭素粒子: 0.06 mg/m³、HNO₃: 0.050 mg/m³）と高濃度曝露群（O₃: 0.60 ppm、
23 NO₂: 0.40 ppm、ABS: 0.20 mg/m³、炭素粒子: 0.12 mg/m³、HNO₃: 0.10 mg/m³）では最初の 4
24 時間で呼吸数の増加と一回換気量の減少が観察された。長期曝露を行うことによって中濃
25 度曝露群では、これらの呼吸反応は低減したが、高濃度曝露では呼吸反応の増悪と肺損傷
26 がみられた。高濃度曝露が気管支肺上皮の透過性を亢進し、呼吸パターンの進行的な増悪
27 と肺の組織傷害、鼻移行上皮及び終末気管支における高い細胞増殖指標と関連していた。

28 Johnston *et al.* (2005a) は、生後 4、10、56 日の C57Bl/6 マウスに LPS を 10 分間吸入させた
29 後、2.5 ppm の O₃ を 4 時間曝露した。または、2.5 ppm O₃ を 4 時間曝露した後、LPS を 10
30 分吸入させ、曝露後 2 時間経過した後に検査した。LPS に続いて O₃ に曝露すると、4 日齢
31 のマウスに炎症反応が誘発されたが、LPS または O₃ 単独曝露では検出されなかった。また、
32 10 日齢と 56 日齢のマウスでは、相乗的にインターロイキン IL-6 mRNA 量が増加したが、4
33 日齢のマウスでは増加しなかった。O₃ と LPS を同時に曝露すると、4 日齢、10 日齢、56 日
34 齢のマウスで IL-1α と IL-1β の反応が抑制された。この抑制効果は 1.0 および 0.5 ppm O₃ 曝
35 露後にも観察された。

1 Schmelzer *et al.* (2006)は、雄の Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm O₃ を 8 時間/日で 90 日間
2 曝露し、曝露終了の翌日 1-NN/溶媒を投与し、投与後 2 時間、6 時間、24 時間に影響を評価
3 した。O₃ 曝露群の BALF 中の PGE₂ 及び 12-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (HETE) は、
4 ろ過空気曝露群よりも高かった。オキシリピン代謝物中、12,13-ジヒドロキシオクタデセ
5 ン酸 (DiHOME)、5-HETE は 1-NN 投与後に一旦 (2 時間または 6 時間後) 濃度上昇した後、
6 緩やかに濃度が低下した。一方、15-HETE、LTC₄ は 1-NN 投与量によらず上昇を続けた。
7 PGD₂ は、1-NN 高用量では濃度上昇後の低下がみられるが、低用量では上昇し続けた。1-
8 NN 投与量に対する濃度反応関係がほとんどのケースでみられた。O₃ 曝露 + 1-NN 低用量投
9 与群は *cys-LT* 濃度等、オキシリピン 13 種について、ろ過空気曝露 + 1-NN 低用量投与群と
10 の差がみられた。空気曝露群では DiHOME 濃度は経時的に低下したが、O₃ 曝露群では低下
11 はみられなかった。O₃ 曝露群の 15-HETE、PGD₂ は 1-NN 投与 2 時間後には空気曝露群より
12 も高濃度であったが、24 時間後には 15-HETE 濃度が低下し、PGD₂ は差がなくなった。空
13 気曝露 + 1-NN 低用量では TNF- α 、IL-1 α は投与 2 時間後のみ、IL-6、IL-10 は 6、24 時間後
14 にみられ、高用量では TNF- α 、IL-1 β 、Cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC)-2、
15 顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、MIP-3 α 、IL-6、レプチン、MCP-1、
16 CNTF (毛様体神経栄養因子)、IFN- γ 、IL-10 がみられた。O₃ 曝露 + 1-NN 低用量群ではサ
17 イトカイン 11 種について空気曝露群との差がみられた。免疫刺激メディエーターである β -
18 NGF、TNF- α 、IL-1 α 、CINC-3、IL-4、GM-CSF がみられ、免疫制御サイトカイン・ケモカ
19 インはみられなかった。TH1 サイトカインである IFN- γ は空気曝露 + 1-NN 高用量ではみら
20 れたが、O₃ 曝露 + 1-NN ではみられなかった (1-NN 投与 2 時間後)。

21 Lee *et al.* (2008)は、68~71 日齢の雄の Sprague-Dawley ラット 57 匹にろ過空気又は 0.8 ppm
22 の O₃ を 8 時間/日で 90 日間曝露させた。曝露終了の翌日、0、12.5、50 mg/kg の 1-NN を腹
23 腔内投与し、6、24 時間後に鼻部組織を採取した。前鼻部では 1-NN 投与によって、鼻部移
24 行上皮に激しい炎症、傷害が生じ、細胞内あるいは細胞間に空胞が生じていた。O₃ 単独曝
25 露では杯細胞の異形成が観察された。O₃ の長期曝露後に 1-NN を投与すると、1-NN 単独曝
26 露でみられた炎症や傷害が軽減された。後鼻部では、O₃ 曝露による組織学的な変化は認め
27 られなかったが、1-NN 単独あるいは O₃ と 1-NN の曝露により、粘膜や上皮の細胞に傷害が
28 認められた。また、O₃ の曝露により 1-NN の代謝物と結合するタンパク質の量や種類に変
29 化がみられた。

30 Lee *et al.* (2011)は、7 日齢の雄の Sprague-Dawley ラットに、O₃ 単独 (0.5 ppm の O₃ を 6 時
31 間/日、週 2 日または週 5 日) または O₃ と PFP (6 時間/日、週 5 日) の複合曝露を 25 日齢
32 までおこない、成長後の肺の構造変化を観察した。特に O₃ を週 5 日曝露した群において気
33 道直径の減少、気道の長さの減少等の変化がみられたが、複合曝露では減少はみられなか
34 った。

35

2.2. 循環器系への影響に関する知見の整理結果

O₃ の数時間から 2 週間未満の曝露による循環器系への影響については、心機能障害、虚血性心疾患、血管内皮機能障害、心臓の脱分極及び再分極、不整脈、血圧、心拍数及び心拍変動、血液凝固及び血栓症、血中の炎症マーカーの上昇及び酸化ストレス、体温、についての報告がある。

心機能障害については、O₃ 曝露により収縮末期及び拡張末期における左心室容積の減少、左心室内径短縮率の増大がみられた。これらの心機能変化の一部については、心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) の関与が示唆されている。また、Ultrafine concentrated air particles (UFCAPs) との複合曝露により左室弛緩期圧 (LVDP) 減少がみられた。虚血性心疾患については、O₃ 曝露により虚血性心疾患の指標である ST (心電図の S 波の終りから T 波の始まりまで) の低下が報告されている。血管内皮機能障害については、O₃ 曝露によってアセチルコリンによる血管拡張の減弱が生じること、その影響に酸化ストレスや CD36 が関与していることが報告されている。また、血管拡張作用を持つ NO₂ の減少と血管収縮作用を持つエンドセリン (ET)-1 の増加が報告されている。また、EHC-93 との複合曝露ではアンギオテンシン変換酵素 (ACE) の活性低下がみられた。心臓の脱分極や再分極、不整脈については、自然発症高血圧 (SH) ラットにおいて O₃ 曝露が心房性期外収縮、心房ブロック、不整脈を誘発すること、またアコニチンに対する不整脈反応の感受性を高めることが報告されている。一方で O₃ 曝露はこれらの影響を及ぼさなかったとする研究もある。血圧については、O₃ 曝露により血圧が上昇したとする報告がある。心拍数については、O₃ 曝露により心拍数が上昇したとする報告と、低下したとする報告がある。心拍変動については、O₃ とカーボンブラック (CB) や Fine concentrated air particles (FCAPs) の複合曝露により減少したとする報告と増大したとする報告がある。血液凝固については、O₃ 曝露により通常ラットにおける血小板の増加、高血圧モデルラットにおけるフィブリノゲンの減少が報告されている。血中の炎症マーカーの上昇及び酸化ストレスについては、O₃ 曝露により、高フルクトース食を与えられたラットにおいて脂肪組織の炎症及び酸化ストレスの各種マーカーの増加、血管組織のミトコンドリア DNA の損傷やミトコンドリア面積の減少が報告されている。体温については、O₃ 曝露による深部体温の低下が報告されている。

O₃ の 2 週間から数カ月の曝露による循環器系への影響については、動脈硬化、心機能障害及び心不全、血管機能、血圧、心拍数、血液凝固、血中の炎症マーカーの上昇と酸化ストレス、についての報告がある。

動脈硬化については、カベオリン-1 や Lectin-like oxidized-low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) などの動脈硬化症マーカーについて解析されているが、一貫性のあるデータは示されていない。心機能障害及び心不全の指標については、ラットから単離し灌流した心臓において O₃ 曝露により LVDP の低下、左室圧変化率 (+dP/dt、-dP/dt) の低下、左室拡張末期圧 (LVEDP) の上昇が起こることが報告されている。血管機能については、O₃ 曝露により

1 ラット大動脈において血管の収縮や拡張に関与する ET-1、エンドセリン A (ETA) 受容体、
2 内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) mRNA の増加が報告されている。一方で、いずれにつ
3 いても影響はみられなかったとするもある。血圧については、成体または老齢ラットの収
4 縮期血圧または拡張期血圧に影響はみられなかった。心拍数については、成体または老齢
5 ラットにおいて心拍数に変化は生じなかったという報告と、心拍数が減少したとする報告
6 がある。血液凝固については、トランスフェリン (TF)、組織プラスミノゲン活性化因子
7 (tPA)、プラスミノゲン活性化抑制因子 (PAI)-1、フォン・ヴィレブランド因子 (vWF)、トロ
8 ンボモジュリン (Thbd) などの血液凝固関連因子の発現変化を解析した研究があるが、一貫
9 性のある結果は得られていない。血中の炎症マーカーの上昇と酸化ストレスについては、
10 心組織や血漿において、O₃ 曝露により TNF- α 濃度が上昇する一方で、抗炎症サイトカイン
11 である IL-10 が減少するという報告がある。さらに、抗酸化ストレス酵素である SOD 活性
12 の低下、酸化ストレスマーカーである MDA 濃度の上昇みられている。

13
14 これらの影響における感受性の違いについては、加齢や疾病モデルによる差異が報告さ
15 れている。老齢ラットでは若齢ラットよりも O₃ の曝露による心拍数や体温の低下が小さか
16 った。食餌によるメタボリックシンドローム (MetS) モデルラットでは通常食で飼育したラ
17 ットよりも O₃ 曝露による収縮期血圧および心拍数低下が大きく、心拍変動の指標である正
18 常心拍間隔の標準偏差 (SDNN) および隣接する RR 間隔の差の二乗の平均値の平方根
19 (rMSSD) の上昇が小さかった。また、MetS ラットでのみ O₃ 曝露により平均動脈圧および
20 拡張期血圧の低下がみられた。

21 22 2.2.1. 数時間から2週間未満の曝露による循環器系への影響に関する知見

23 Iwasaki *et al.* (1998)は、10 週齢の雄の Wister ラットに 0.1、0.3、0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日
24 で連続 4 日間曝露させ、曝露中の心拍数と体温を観察した。曝露 1 日目と 2 日目には曝露
25 量に依存して体温と心拍数の低下がみられたが、3 日目以降は対照群と同程度以上に回復
26 した。

27 Watkinson *et al.* (2001)は、室温 22°C または 10°C 条件下で雄の Fischer 344 ラットに 0.5 ppm
28 O₃ を 6 時間/日または 23 時間/日で 5 日間曝露させた。室温 22°C 条件下では 23 時間/日曝露
29 の 1 日目でのみ心拍数および深部体温が低下した。室温 10°C 条件下では、6 時間/日曝露ま
30 たは 23 時間/日曝露いずれにおいても、1 日目と 2 日目に心拍数と深部体温が低下したが、
31 低下の程度は 23 時間/日曝露でより大きかった。また、雄の C3H/HeJ マウスに室温 22°C 条
32 件下で 2.0 ppm O₃ を 2 時間曝露させた場合でも、O₃ 曝露群において空気曝露群と比較して
33 深部体温の低下が認められた。

34 Ulrich *et al.* (2002)は、Wister ラットに 0.8 ppm の O₃ を 8 時間曝露した。O₃ と EHC-93 の複
35 合曝露は、血漿中の ACE 活性を低下させることを報告したが、これらの影響は EHC-93、
36 O₃ それぞれの単独曝露ではみられなかった。

1 Watkinson *et al.* (2003)は、10°C、22°C、34°Cのいずれかの室温下で、100～120 日齢の雄
2 の Fischer344 ラットに 0.5 ppm の O₃ を 6 時間/日あるいは 23 時間/日で 5 日間曝露させた。
3 室温においては、O₃ への曝露により心拍数が低下した。深部体温は継続曝露によって 2°C
4 近く低下し、3 回目の曝露まで完全に回復しなかった。10°Cの環境においては心拍数、体
5 温ともに O₃ の影響がより強く、34°Cでは O₃ の影響がより弱かった。また、運動中のラッ
6 トに 0.5 ppm の O₃ を 5 日間連続で曝露させたところ、ろ過空気と比較して心拍数が 11 bpm、
7 深部体温が 1°C下がった。

8 Thomson *et al.* (2005)は、ラットに 0.4 及び 0.8 ppm の O₃ を 4 時間曝露させた。肺における
9 プレプロエンドセリン-1 やエンドセリン受容体の mRNA の量が増加し、血漿中エンドセリ
10 ン-1 濃度が増加した。

11 Thomson *et al.* (2006)は、雄の Fisher344 ラットに清浄空気又は 0.8 ppm の O₃、50 mg/m³ の
12 EHC-93 を単独あるいは複合で 4 時間曝露した。O₃、EHC-93 それぞれの曝露直後において、
13 血中 ET-1、ET-3 とも濃度が上昇したが、ET-2 には影響がなく、肺のプレプロエンドセリ
14 ン-1 の mRNA 発現量は上昇したが、プレプロエンドセリン-3 は減少し、プレプロエンドセ
15 リン-2 は検出されなかった。O₃ と EHC-93 の複合曝露では、肺におけるプレプロエンドセ
16 リン mRNA 発現については O₃ 単独曝露と同様の影響がみられたが、血中 ET-1、ET-3 には
17 変化がみられなかった。

18 Chuang *et al.* (2009)は、6 週齢雄の C57Bl/6 マウスおよび動脈硬化症モデルマウス（アポ
19 リポ蛋白質 E (ApoE) 欠損マウス）、180 日齢雄のアカゲザルに 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/
20 日で 5 日間 O₃ を曝露した。結果、心拍数と血圧の上昇、ACh に対する血管収縮の減弱、血
21 管組織内の NO_x、eNOS の減少がみられた。また、肺、血管組織における酸化ストレスの
22 上昇、血管組織における SOD2 活性、SOD2 タンパク質量の低下がみられた。O₃ 曝露によ
23 るミトコンドリア DNA 傷害は、C57Bl/6 マウスの肺、血管組織、アカゲザルの血管組織で
24 みられた。ApoE 欠損マウスへの O₃ 曝露により、アテローム性動脈硬化病変の増加がみら
25 れた。

26 Hamade and Tankersley (2009)は、3 系統のマウス（C57Bl/6J、C3H/HeJ、C3H/HeOuJ）に
27 O₃ (576 ± 32ppb) を 2 時間曝露し、その後 CB エアロゾル (556 ± 34 µg/m³) を 3 時間曝露
28 した群 (O₃+CB 群) と、CB 単独曝露 (FA+CB 群)、ろ過空気曝露群 (FA+FA 群) との間
29 で心拍数、及び心拍変動を比較した。いずれの系統のマウスにおいても、O₃+CB 曝露によ
30 り、心拍数が減少し、SDNN および rMSSD が低下したが、Interim RR については、C3H/HeJ
31 と C3H/HeOuJ でのみ増加がみられた。CB 単独曝露ではこれらの影響はみられなかった。
32 O₃+CB への 3 日間の反復曝露への順応については、C57Bl/6J が最も早く、C3H/HeOuJ が最
33 も遅かった。心拍数および心拍変動への影響と、呼吸数および換気量への影響には相関が
34 みられ、その関連には系統差があった。

1 Hamade *et al.* (2010)は、5ヶ月齢または12ヶ月齢のマウス (C57BL/6J、C3H/HeJ、
2 C3H/HeOuJ) に0.6 ppmのO₃とCBを5時間/日で3日間複合曝露した。O₃とCBの複合曝
3 露により心拍数減少、心拍変動の増加がみられ、またこれらの反応は加齢により減弱した。

4 Tankersley *et al.* (2010)は、5ヶ月齢および18ヶ月齢の129S1/SvIm (129) マウスに、1週間
5 ごとに2日間のCB単独曝露、2日間のO₃単独曝露 (0.6 ppm、2時間)、ろ過空気曝露、
6 CBとO₃の複合曝露を実施した。5ヶ月齢および18ヶ月齢いずれにおいてもO₃曝露による
7 心拍数の低下がみられ、5ヶ月齢マウスではO₃+CBでより大きな低下がみられた。また、
8 O₃曝露により5ヶ月齢および18ヶ月齢において左心室収縮末期径が増大し、5ヶ月齢にお
9 いて左心室内径短縮率が減少し、O₃+CB曝露により5ヶ月齢において収縮末期の後壁厚径
10 が減少した。

11 Farraj *et al.* (2012)は、12週齢の雄の自然発症高血圧 (SH) ラットに0.2、0.8 ppm O₃を4時
12 間曝露した。0.8 ppm O₃への曝露は、徐脈、PR延長、ST低下、および心房性期外収縮、中
13 房ブロック、房室ブロックの大幅な増加を引き起こした。同時に副交感神経緊張の増加を
14 示すいくつかの心拍数変動パラメータが増加した。0.2 ppm O₃曝露では、自律神経系の緊
15 張、心調律、または心電図に明らかな変化はみられなかった。しかし、0.2 および 0.8 ppm
16 O₃は、アコニチンによる不整脈形成に対する感受性を増加させた。

17 McIntosh-Kastrinsky *et al.* (2013)は、C57BL/6マウスに0.245 ppm O₃を4時間曝露した。O₃
18 曝露マウスから単離灌流したマウス心臓において、心拍数の低下と最低dP/dtの低下がみら
19 れたが、虚血/再灌流したマウス心臓では、虚血性収縮までの時間、LVDPの回復率、虚血
20 による梗塞面積にO₃曝露による変化はみられなかった。

21 Robertson *et al.* (2013)は、C57BL/6マウス、CD36欠損マウスに1 ppm O₃を4時間曝露し
22 た。CD36欠損マウスではO₃曝露によるBALF中の総細胞数、マクロファージ数、総タン
23 パク質数の増加がみられないこと、野生型マウスから単離した大動脈ではO₃曝露により
24 ACh誘発性の弛緩が低減されたがCD36欠損マウスではその影響がみられないことを報告
25 した。

26 Sun *et al.* (2013)は、高フルクトース食を与えて飼育したSprague-Dawleyラットに0.5 ppm
27 O₃を8時間/日で9日間 (月～金+翌週月～木) 曝露した。高フルクトース食飼育マウスで
28 はO₃曝露により心外膜脂肪組織 (EAT) および腎周囲脂肪組織 (PAT) におけるマクロファ
29 ジ浸潤、TNF- α mRNA、MCP-1 mRNA、レプチン mRNA、iNOSが増加し、IL-10 mRNA、
30 アディポネクチン mRNA、ミトコンドリア面積が減少したことを報告した。

31 Tankersley *et al.* (2013)は、雄のC57Bl/6Jマウスにろ過空気 (FA)、0.5 ppm O₃、CBを3時
32 間単独または複合曝露した。また、雄のNppa (ANP前駆遺伝子) 欠損マウスを用いて、同
33 様の曝露による心機能の変化を比較した。濾過空気ばくろ群と比較して、O₃とCBの単独
34 または複合曝露群では、一回拍出量と心拍出量が33%低下した。O₃の曝露では収縮末期と
35 拡張末期の左心室容積が減少したが、CBの曝露では拡張末期の左心室容積が増加したこと
36 から、これらの心機能の低下は汚染物質の組成に応じて異なるメカニズムによって生じた

1 ものと考えられた。Nppa 欠損マウスでは、O₃やCBの曝露によるこれらの心機能変化はほ
2 とんどみられなかった。

3 Thomson *et al.* (2013)は、Fischer 344 ラットに 0.4 または 0.8 ppm の O₃を曝露させた。0.8
4 ppm の O₃ 単独曝露は、肺、心臓、肝臓、腎臓などの臓器において TNF、CCL-2、IL-1β の
5 mRNA 発現を低下させた一方で、肺においては IL-6、メタロチオネイン-2 の mRNA 増加が
6 みられた。

7 Kurhanewicz *et al.* (2014)は、10~12 週齢の雌の C57BL/6 マウスに、O₃ 0.3 ppm、190 μg/m³
8 FCAPs(0.3 ppm O₃あり/なし)、140 μg/m³ UFCAPs (0.3 ppm O₃あり/なし) のいずれかに 1~4
9 時間曝露し、曝露 24 時間後に心機能を評価した。O₃と FCAPs の複合曝露では FA と比較し
10 て心拍変動の減少がみられた。O₃と UFCAPs の複合曝露では FA および UFCAPs 単独と比
11 較して QRS 間隔、QTs、非電導 P 波不整脈の増加、FA と比較して LVDP の減少がみられ
12 た。

13 Wagner *et al.* (2014)は、高フルクトース食で飼育した MetS モデルラットに 0.5 ppm の O₃
14 を 8 時間/日で 9 日間 (月~金+翌週月~木) 曝露した。MetS モデルラットでは通常食飼育
15 ラットと比較して O₃ 曝露による収縮期血圧および心拍数低下が大きく、心拍変動の指標で
16 ある SDNN および rMSSD の上昇が小さかった。また、MetS ラットでのみ O₃ 曝露により平
17 均動脈血圧および拡張期血圧の低下がみられた。

18 Kumarathasan *et al.* (2015)は、Fischer 344 ラットに O₃ (0, 0.4, 0.8 ppm) および EHC-93
19 粒子 (0, 5, 50 mg/m³) のそれぞれ単独及び複合気体を 4 時間曝露させ、BALF、血清を分
20 析した。単独曝露では BALF 分析での活性酸素種及び活性窒素種の生成や、血中の一酸化
21 炭素ヘモグロビン濃度、エンドセリン量等を濃度依存的に増強、上昇させたが、複合曝露
22 では活性窒素種生成やエンドセリン量において単独曝露と比較して減弱・低下がみられた。

23 Paffett *et al.* (2015)は、Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃を 24 時間曝露した。O₃ 曝露
24 は BALF 中の総細胞数、好中球数、タンパク質を増加させるとともに、血中の好中球、マ
25 クロファージを増加させた。また、曝露 24 時間後に単離された冠状血管において、セロト
26 ニン刺激による収縮の増強と、ACh による血管拡張の減弱がみられ、NO₂/NO₃ の血清レベ
27 ルが低下した。また、スーパーオキシドジスムターゼおよびカタラーゼ処理とニコチンア
28 ミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH) オキシダーゼの阻害を組み合わせることに
29 より、ACh による結血管拡張が回復した。また、O₃ 曝露ラットの希釈した (10%) 血清を
30 O₃ 曝露していないラットの冠動脈内腔に灌流することで、O₃ による ACh に対する血管拡
31 張反応の低下が部分的に再現された。

32 Ramot *et al.* (2015)は、Wistar Kyoto ラット、Wista ラット、Sprague-Dawley ラット、CVD-
33 compromised spontaneously hypertensive ラット、fawn-hooded hypertensiv ラット、stroke-prone
34 SH ラット、obese SH heart-failur ラット、JCR:LA-c ラットに 0.0, 0.25, 0.5, または 1.0 ppm
35 の O₃を 4 時間曝露した。O₃ 曝露はいずれの系統のラットにおいても肺胞及び細気管支にお

1 ける炎症を引き起こし、fawn-hooded hypertensiv ラットにおいて血中フィブリノゲンの低下
2 がみられた。

3 Farraj *et al.* (2016)は、12 週齢の雄の自然発症高血圧 (SH) ラットに、午前 0.5 ppm NO₂
4 を 3 時間曝露した後、午後 0.3 ppm O₃ を 3 時間曝露した。NO₂/O₃ 曝露ラットのみで、心
5 拍数の減少、PR および QTc 間隔の増加、心拍数の変動性の増加がみられ、副交感神経の緊
6 張の増加が示された。また、NO₂/O₃ 曝露群のみで収縮期血圧と拡張期血圧が低下し、脈圧
7 と QA 間隔を増加させたことから、心臓の収縮が低下していることが示された。

8 Snow *et al.* (2018)は、Wistar Kyoto ラットに 0.8 ppm の O₃ を 4 時間/日で 2 日間曝露させ
9 た。O₃ 曝露によりフェニレフリン誘発性の大動脈血管収縮の増強、血中の白血球とリンパ
10 球の減少及び血小板の増加がみられた。

11 12 2.2.2. 2 週間から数カ月の曝露による循環器系への影響に関する知見

13 Perepu *et al.* (2010)は、Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm の O₃ を 8 時間/日で 28~56 日間曝
14 露した後に心臓を摘出し、灌流処置により虚血再灌流傷害を誘発した。O₃ 曝露群において
15 空気曝露群と比較して LVDP、+dP/dt、-dP/dt が減少し、LVEDP が増加した。また、O₃ 曝
16 露は心組織における MDA の増加、TNF- α の増加、IL-10 の減少、SOD の活性低下を引き起
17 こした。

18 Kodavanti *et al.* (2011)は、WKY ラットに 0.5 ppm の O₃ を 5 時間/日、1 日/週、16 週で曝露
19 した。O₃ 曝露により大動脈における HO-1、tPA、PAI-1、vWF、Thbd、ET-1、ETA 受容体、
20 eNOS、MMP-2、MMP-3、細胞外基質分解酵素阻害剤 (TIMP)-2 の遺伝子発現が増加した。
21 TNF- α 、MIP-2、エンドセリン B (ETB) 受容体、TF、MMP-9 については変化がみられなかつ
22 った。

23 Martinez-Campos *et al.* (2012)は、Wistar ラットに 0.5 ppm の O₃ を 4 時間/日で 2 週間曝露し
24 た。O₃ により血漿中の SOD 活性が低下し、MDA が増加した。

25 Sethi *et al.* (2012)は、Sprague-Dawley ラットに 0.8 ppm の O₃ を 8 時間/日で 28~56 日間曝
26 露した。28 日及び 56 日間の曝露 O₃ 曝露により、LVDP が減少し、心組織における TNF- α
27 レベル増加、IL-10 の減少、SOD 活性の低下、動脈硬化の関連分子であるカベオリン-1 の
28 減少がみられた。カベオリン-3 については、28 日目で増加し、56 日目で減少した。

29 Gordon *et al.* (2013)は、4 か月齢 (成体) または 20 か月齢 (老齢) の雄の Brown Norway
30 ラットに、0.8 ppm O₃ を 6 時間/日、1 日/週で 17 週間曝露した。O₃ は心拍数や収縮期および
31 拡張期血圧には影響を及ぼさなかった。老化ラットでは、O₃ により血中のリポカリン、イ
32 ンスリンが増加し、たが、レプチン、アディポネクチンについては変化しなかった。また、
33 成体、老齢ラットいずれにおいても大動脈の tPA、vWf、Thbd、LOX-1、カベオリン-1、
34 RAGE、ET-1、ETA 受容体、eNOS の mRNA レベルには影響を及ぼさなかった。TF につい
35 ては成体ラットでは O₃ により減少した一方、老齢ラットでは増加した。

1 Wang *et al.* (2013)は、雄の Wistar ラットに 2 回/週で 3 週間 0.81 ppm O₃ を 4 時間曝露する
2 とともに、0.2、0.8、3.2 mg PM_{2.5} を気管内投与した。PM_{2.5} 単独曝露は、血清中の C-反応性
3 タンパク質 (CRP)、MDA、クレアチンキナーゼ (CK)、ET-1、収縮期血圧の増加と、心拍変
4 動の減少を引き起こした。ラットにおける O₃ 単独曝露では、いずれの指標にも変化はみら
5 れなかった。しかし、O₃ と PM_{2.5} の複合曝露では、CRP、IL-6、CK、LDH、MDA の増加、
6 SOD および心拍変動の減少が用量依存的にみられた。一方、PM_{2.5} と O₃ の複合曝露および
7 PM_{2.5} 単独曝露群では、心電図の異常が観察され、明らかな心筋の超微細構造の変化が観察
8 された。

9 Gordon *et al.* (2014)は、成体 (9~12 か月) および老齢 (20~24 か月) の雄の Brown
10 Norway 系ラットに、1 ppm O₃ を 1 日 6 時間、週 2 日、13 週間曝露した。O₃ 曝露により心拍
11 数と深部体温が低下したが、曝露を毎週行うにつれて影響は低減した。また、老齢ラット
12 では、成体よりも影響が少なかった。

13 2.3. 内分泌系及び代謝系への影響に関する知見の整理結果

14 O₃ の数時間から 2 週間未満の曝露による内分泌・代謝への影響としては、血糖値、中性
15 脂肪、コレステロール、肥満、脂肪組織の炎症、肝臓バイオマーカー、副腎皮質ホルモ
16 ン、について評価した研究がある。糖代謝については、O₃ 曝露により、血中インスリンの
17 減少、インスリン抵抗性と耐糖能低下の誘発、血糖値の上昇が報告されており、このうち
18 インスリン抵抗性の誘発については、リン酸化されたインスリン受容体基質 (IRS)-1 の減
19 少が報告されている。中性脂肪については、血中トリグリセリド濃度の上昇が報告されて
20 いる。コレステロールについては、高密度リポタンパク質-コレステロール (HDL-C)、低密
21 度リポタンパク質コレステロール (LDL-C)、総コレステロールの増加が報告されている。
22 肥満については、レプチンやグレリンなど食欲を調節するホルモンの分泌に変化を生じさ
23 せることが報告されている。副腎皮質ホルモンについては、エピネフリンの増加が報告さ
24 れている。その他、脂肪組織の炎症や、肝臓における各種代謝関連遺伝子の発現の変化が
25 報告されている。

26 O₃ の 2 週間から数カ月の曝露による内分泌系及び代謝系への影響としては、空腹時血糖
27 値の上昇、インスリン分泌の障害、血中コレステロールの増加、血漿中のコルチコステロ
28 ンおよび遊離トリヨードサイロニンの濃度上昇が報告されている。

29 30 31 2.3.1. 数時間から 2 週間未満の曝露による内分泌系及び代謝系への影響に関する知見

32 Last *et al.* (2005)は、C57BL マウスに 1 ppm O₃ を 8 時間/日で 3 日間曝露した。O₃ 曝露により
33 肝臓における脂質代謝、脂肪酸代謝、炭水化物代謝、生体異物代謝に関連する遺伝子お
34 よびインターフェロン依存性遺伝子のダウンレギュレーションが生じることを報告した。

35 Bass *et al.* (2013)は、1、4、12、24 ヶ月齢の雄の Brown Norway ラットに、空気または 0.25、
36 1.0 ppm O₃ を 1 日 6 時間、2 日間曝露したところ、全ての月齢のラットにおいて高血糖と耐

(案)

1 糖能異常が生じ、 α_2 -マクログロブリン、アディポネクチン、オステオポンチンが増加した。
2 また、4ヶ月齢のラットに、空気または 1.0 ppm O_3 を 1日 6時間、1日または 2日間曝露し
3 た解析では、1日目と 2日目に耐糖能異常が認められ (2日目>1日目)、 O_3 曝露後 18時間
4 で回復した。レプチンは 1日目に増加し、エピネフリンは O_3 曝露後のすべての測定時点で
5 増加していた。 O_3 は肝臓と脂肪組織において、グルコース取り込みを促進するリン酸化イ
6 ンスリン受容体基質-1を減少させる傾向があった。小胞体ストレスの転写マーカーは O_3 曝
7 露 2日後にのみ増加したことから、小胞体ストレスは O_3 による急性代謝障害の結果である
8 と考えられた。

9 Thomson *et al.* (2013)は、Fischer 344 ラットに 0.4 または 0.8 ppm の O_3 を 4時間曝露させ、
10 肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、大脳半球、下垂体の遺伝子プロファイルを解析した。 O_3 の
11 曝露は、幅広い臓器において TNF、CCL-2、IL-1 β の mRNA 発現を低下させ、グルココルチ
12 コイド応答遺伝子である Glucocorticoid-inducible leucine zipper (GILZ) と Serum- and
13 glucocorticoid-inducible kinase (SGK1) の mRNA を増加させた。また、 O_3 曝露は、肺の
14 Cytochrome p450 (CYP)1A1 と NQO1 の mRNA を、下垂体の Prostaglandin endoperoxide
15 synthase 2 (PTGS2) mRNA を、血漿中の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) およびコルチコステ
16 ロイドレベルを増加させたことを報告した。

17 Vella *et al.* (2014) は、Wistar ラットに 0.8 ppm O_3 を 16時間曝露した。 O_3 曝露により、ラ
18 ットの全身インスリン抵抗性と酸化ストレスが誘発され、それに伴って小胞体ストレス、
19 JNK の活性化、骨格筋におけるインスリンシグナル伝達の障害が生じた。ケミカルシャペ
20 ロンである 4-フェニル酪酸、JNK 阻害剤である SP600125、抗酸化剤である N-アセチルシ
21 ス테인を前処理すると、インスリン抵抗性が緩和された。

22 Miller *et al.* (2015)は、Wistar Kyoto ラットに 1.0 ppm の O_3 を 6時間/日で 2日間曝露した。
23 O_3 曝露により、血中インスリンの減少、血中グルコース、エピネフリン、総コレステロー
24 ル、LDL-C および HDL-C の増加がみられることを報告した。メタボローム解析では、 O_3
25 曝露は血中の解糖系、長鎖遊離脂肪酸、分岐鎖アミノ酸、コレステロールの代謝産物を増
26 加させたが、1,5-アンヒドログルシトール、胆汁酸、TCA サイクルの代謝産物は減少させ
27 た。肝臓における遺伝子発現の変化については、 O_3 曝露により、解糖系、TCA サイクルお
28 よび糖新生のマーカーが増加し、ステロイドおよび脂肪生合成の関連 mRNA が減少した。

29 Zhong *et al.* (2016) は、糖尿病モデルの KK マウスに、ろ過空気または 0.5 ppm O_3 を 4時
30 間/日、5日/週で連続 13日間曝露した。 O_3 曝露マウスはインスリン反応障害を示した。血
31 漿インスリンとレプチンのレベルは、 O_3 曝露マウスで減少した。 O_3 への 3週間の曝露は、
32 肺の炎症を誘発し、血液および内臓脂肪組織の両方で単球/マクロファージを増加させた。
33 炎症性単球/マクロファージは全身的にも局所的にも増加した。CD4 + T 細胞の活性化は O_3
34 の曝露によって増強されたが、CD4⁺T 細胞の相対的なパーセンテージは血液と脂肪組織で
35 減少した。CXCL-11、IFN- γ 、TNF- α 、IL-12、iNOS などの複数の炎症性遺伝子発現が内臓
36 脂肪組織でアップレギュレートされた。さらに、Cox4、Cox5a、Stearoyl-Coenzyme A

1 desaturase 1 (Scd1)、Nrf1、Nrf2 などの酸化ストレス関連遺伝子の発現は、O₃ 曝露マウスの
2 内臓脂肪組織で増加した。

3 Thomson *et al.* (2018)は、雄の Fischer 344 ラットに、空気または 0.8 ppm O₃ を 4 時間曝露
4 した。O₃ 曝露による耐糖能の低下は、血漿トリグリセリドの増加を伴っていたが、インス
5 リン分泌の低下はみられなかった。O₃ はグルカゴン、GLP-1、グレリンのグルコースに対
6 する反応を低下させたが、炎症反応や内皮反応の指標には影響を与えなかった。

7 8 2.3.2. 2 週間から数カ月の曝露による内分泌系及び代謝系への影響に関する知見

9 Martrette *et al.* (2011)は、Wistar ラットに 0.12 ppm O₃ を 6 時間/日で 15 日間曝露した。O₃
10 曝露が血漿中のコルチコステロンおよび遊離トリヨードサイロニンの濃度上昇、横隔膜、
11 咬筋、顎二腹筋におけるミオシン重鎖タンパク質の発現変化、飲水、身づくろい、休息の
12 増加、後肢立ち、飛び上がり、自発運動の減少を伴う行動障害を生じさせることを報告し
13 た。

14 Bass *et al.* (2013)は、1、9、21 ヶ月齢のラットに、空気または 0.25、1.0 ppm O₃ を 1 日 6 時
15 間、1 週間 2 日、13 週間曝露した。13 週間曝露ラットでは、O₃ による耐糖能低下が抑制さ
16 れた。

17 Miller *et al.* (2016b) は、雄の Wistar Kyoto ラットに、0.25、1.0 ppm O₃ を、1 日 5 時間、連
18 続 3 日/週、13 週間曝露した。反復的な O₃ 曝露により、肺の損傷や炎症、空腹時高血糖、
19 耐糖能異常が持続し、曝露終了直後にはエピネフリンやコレステロールの上昇がみられた
20 が、これらの反応は曝露終了 1 週間の回復期間ではほぼ元のレベルに戻ることがわかり、影
21 響は可逆的であることが示された。また、末梢や組織に特異的なインスリン抵抗性や肝臓
22 の糖新生の増加はみられず、O₃ の曝露はグルコース刺激による β 細胞のインスリン分泌を
23 阻害した。

24 25 2.4. 神経系への影響に関する知見の整理結果

26 O₃ の数時間から 2 週間未満の曝露による神経系への影響としては、中枢神経系における
27 炎症や酸化、神経伝達の変化、形態学的な変化、認知や行動の変化、について評価した研
28 究がある。

29 中枢神経系における炎症・酸化については、中枢神経系の炎症に関与するミクログリア
30 の活性化、炎症性メディエーターの増加、前頭皮質と海馬における過酸化脂質量の増加が
31 報告されている。神経伝達の変化については、カテコールアミン生合成に関与するチロシ
32 ン水酸化酵素活性の増加、カテコールアミン作動性ニューロンの活性化など、神経伝達
33 変化についても報告されている。組織形態学的な変化としては、海馬 CA1 領域錐体細胞に
34 における樹状突起スパイン数の減少、海馬におけるニューロンの神経突起や髄鞘の変性とア
35 ストロサイトの突起の異常、孤束核におけるグルタミン酸作動性シナプスのアストログリ
36 ア被覆率上昇が報告されている。認知や行動の変化については、短期及び長期記憶の低下

1 が報告されており、記憶低下は若齢や高齢ラットにおいて影響が大きいことが報告されて
2 いる。その他の症状としては、睡眠の質の変化についても報告がなされている。

3
4 O₃ の 2 週間から数カ月曝露による神経系への影響としては、中枢神経における炎症と形
5 態学的な変化、神経伝達の変化、認知や行動の変化、神経発達への影響、について評価し
6 た研究がある。

7 炎症については、中枢神経系において炎症性メディエーターの増加、抗酸化酵素の発現
8 や活性の増加が報告されている。組織形態学的な変化としては、黒質におけるドーパミン
9 作動性ニューロンの減少、小胞体の超微細構造の変化が報告されている。神経伝達の変化
10 については、電気生理学的な神経伝達の低下がみられた。認知や行動の変化については、
11 短期および長期記憶に低下がみられ、抑うつ様行動の誘発についても報告がなされている。
12 その他、海馬においてアポトーシス関連分子であるチトクローム c、カスパーゼ 3、BCL-2
13 の増加とともに、アポトーシスの増加がみられた。また、アルツハイマー病の関連分子に
14 ついて解析した研究では、主に長期曝露によって海馬におけるアミロイド β1-42 (Aβ42) ペ
15 プチドの増加や沈着がみられている。

16 17 2.4.1. 数時間から 2 週間未満の曝露による神経系への影響に関する知見

18 2.4.1.1. 酸化・炎症

19 Rivas-Arancibia *et al.* (2000)は、Wistar ラット (47~50 日齢、雄) への O₃ (0.7 ppm、4 時
20 間) の曝露を行い、O₃ 曝露による前頭皮質と海馬における過酸化脂質量の増加がみられた。

21 Araneda *et al.* (2008)は、雄の Sprague-Dawley ラットに 0.5 ppm O₃ を 3 時間曝露した。孤束
22 核、腹側外側髄質及び中心管領域の星状グリア細胞において、細胞傷害修復因子の一つで
23 ある血管内皮増殖因子 (VEGF)陽性細胞密度の増加、突起長の延長がみられ、その影響は、
24 O₃ 曝露終了から 3 時間後にもみられた。VEGF の発現細胞では、TNF-α、IL-6 の発現がみら
25 れた。

26 Gonzalez-Guevara *et al.* (2014)は、雄の Wistar ラットに 1 ppm の O₃ を 1、3、6 時間単回曝
27 露、または 5 日間連続で毎日 1 時間または 3 時間反復曝露した。その結果、O₃ 曝露により、
28 総じて、肺において TNF-α および IL-6 レベルは増加し、大脳皮質における TNF-α、IL-6、
29 NF-κBp50 およびグリア細胞繊維性酸性タンパク質量も増加した。

30 31 2.4.1.2. 神経伝達

32 Soulage *et al.* (2004)は、Sprague-Dawley ラットへの O₃ 曝露を (0.7 ppm、5 時間) 行い、曝
33 露終了直後にカテコールアミン量と代謝速度、チロシン水酸化酵素活性を観察した。上頸
34 神経節と脳幹青斑核の後部 A2 のノルアドレナリン細胞群におけるチロシン水酸化酵素活性
35 の増加、カテコールアミン生合成の増加を示した。

1 Gackiere *et al.* (2011)は、Wister ラットに 0.5 または 2.0 ppm の O₃ を最長 120 時間曝露し
2 た。O₃ 曝露により、孤束核の求心性迷走神経終末領域 (dorsolateral region) における c-Fos
3 および Fos-B の発現が濃度依存的に増加することを報告した。また、c-Fos 陽性かつチロシ
4 ン水酸化酵素陽性のニューロンが一定割合存在しており、O₃ 曝露によるカテコールアミン
5 作動性ニューロンの活性化がみられた。なお、脊髄においてはc-Fos陽性細胞は検出されな
6 かったことから、胸部脊髄経路は O₃ 曝露の影響の伝達に関与していないことが示された。

7 8 2.4.1.3. 形態変化

9 Avila-Costa *et al.* (1999)は、Wistar ラットに 1 ppm O₃ を 4 時間曝露した。O₃ 曝露群では海
10 馬 CA1 領域錐体細胞における樹状突起スパイン数が減少することを報告した。

11 Nino-Cabrera *et al.* (2002)は、高齢 (26 か月齢) の雄の Wistar ラット 4 匹に 0.7 ppm の O₃、
12 3 匹に清浄空気を 4 時間曝露させた。O₃ 曝露群の海馬において、ニューロンの髓鞘や神経
13 突起の変性、アストロサイトの突起の異常が認められた。

14 Chounlamounry *et al.* (2015)は、Wister ラットに 2 ppm O₃ を 24 時間または 72 時間曝露し
15 た。O₃ 曝露により孤束核におけるグルタミン酸作動性シナプスのアストログリア被覆率が
16 増加するが、反応性アストログリアのマーカーであるグリア線維性酸性タンパク質および
17 S100β の発現は変化しないことを報告した。

18 19 2.4.1.4. 学習・記憶

20 Rivas-Arancibia *et al.* (1998)は、雄の Wistar ラット (47~50 日齢) に 0.0、0.1、0.2、0.5、
21 1.0 ppm の O₃ を 4 時間曝露させ、O₃ 曝露終了の 30 分後又は 1 時間後に 2 mA 又は 4 mA の
22 電気刺激に対する受動的回避試験を行い、10 分後及び 24 時間後に短期及び長期記憶を評価
23 した。その結果、短期記憶については O₃ 曝露による影響はみられなかった。長期記憶は、
24 4 mA の刺激による試験では全ての O₃ 濃度で低下した。

25 Avila-Costa *et al.* (1999)は、Wistar ラットに 1 ppm O₃ を 4 時間曝露した。O₃ 曝露群では受
26 動的回避学習試験における長期記憶が低下することを報告した。

27 Guerrero *et al.* (1999)は、Wistar ラット (47~50 日齢、雄) への O₃ (0.7 ppm、4 時間) の
28 曝露を行い、曝露の 1 時間後及び 24 時間後に受動回避試験により短期及び長期記憶への影
29 響を調べた。運動能力には、どの群にも違いはみられなかったが、O₃ 群では他の群 (対照
30 群、ビタミン E (VE) 投与群、O₃+VE 群) に比べ、短期、長期の記憶機能の減退がみられた。

31 Rivas-Arancibia *et al.* (2000)は、Guerrero *et al.* (1999)と同様の試験を行い、若齢及び高齢ラ
32 ットにおいて、O₃ 曝露 (0.7~0.8 ppm、4 時間) は短期及び長期の学習記憶を低下させるが、
33 成熟ラットでは、これらの影響はみられなかった。

34 Dorado-Martinez *et al.* (2001)は、O₃ 曝露により組織内に発生する酸化ストレスが、脳組織
35 傷害を誘発するかどうかを解析することを目的として、雄の Wistar ラットに 0.1~1.5 ppm
36 の O₃ を 4 時間曝露させた。自発運動能力は、1.1 ppm 以上の曝露で低下がみられ、0.7 ppm

1 以上の濃度で記憶障害が起こった。0.4 ppm 以上で脳（海馬、線条体、前頭葉、小脳）組織
2 中の過酸化脂質量が増加した。

3 4 2.4.1.5. アミロイド

5 Mumaw *et al.* (2016)は、①8 週齢の雄の Sprague-Dawley ラットに 1 ppm の O₃ を 4 時間曝
6 露、②8 週齢または 18 週齢の雄の C57BL/6 マウスに 300 mg/m³ の mixed vehicle exhaust (MVE)
7 を曝露、③Fisher 344 ラット胎児から培養した初代培養ミクログリア細胞を O₃ 曝露ラット
8 血清で処理した。その結果、O₃ 曝露ラットではミクログリアの活性化がみられ、曝露 24 時
9 間後においても形態学的な変化が持続していた。初代培養ミクログリアを用いた解析では、
10 LPS 処理で誘発された TNF- α 産生、H₂O₂ 産生、細胞増殖活性化が O₃ 曝露ラットの血清処
11 理により増強された。ベータアミロイド 42 処理による H₂O₂ の産生の増加、細胞増殖活性
12 の低下についても、O₃ 曝露ラットの血清処理により影響が大きくなった。LPS 処理および
13 O₃ 曝露ラット血清処理によるミクログリアの TNF- α 産生増加は、マクロファージ 1 抗原
14 (MAC1)受容体を阻害する抗体処理により抑制された。MVE 曝露は脳においては、若齢マ
15 ウスと比較して、高齢マウスでは O₃ 曝露による TNF- α mRNA の発現増加と、ミクログリ
16 アの形態変化がみられた。また、海馬から調整した混合培養グリア細胞の LPS に対する
17 TNF- α 産生は、O₃ 曝露ラットの血清処理により増加したが、増加度合いは高齢ラットでよ
18 り大きかった。CD36 マウスにおいても O₃ 曝露により脳組織における TNF- α および IL-1 β
19 mRNA が増加し、ミクログリアの形態学的変化がみられたが、CD36^{+/+}マウスでは変化は
20 みられなかった。

21 Tyler *et al.* (2018)は、8~10 週齢および 12~18 ヶ月齢の雄の C57BL/6 雄マウスに、ろ過空
22 気または 1.0 ppm の O₃ に 4 時間曝露した後、曝露の 20 時間後にフルオレセインナトリウム
23 (FSCN) を投与した、血液脳関門の透過性を評価した。成体マウスに比べて高齢マウスにお
24 いて、ミクログリアの活性化と CD11b、F4/80、MHCII の提示が増加しており、これらの加
25 齢による違いは O₃ 曝露によって増強された。老齢マウスの脳皮質および辺縁系領域では、
26 O₃ 曝露後に反応性ミクログリアが増加し、アミロイド β タンパク質の発現が増加した。老
27 齢マウスの小脳では、O₃ 曝露後に浸潤性好中球、末梢性マクロファージ/単球、Ly6C⁺炎症
28 性単球が増加したが、成体マウスの小脳では増加はみられなかった。O₃ 曝露は、血液脳関
29 門を越えた FSCN の浸透、末梢免疫細胞の浸潤、ミクログリアの反応性グリオシスを増加
30 させた。

31 32 2.4.1.6. 睡眠

33 González-Piña *et al.* (2003) は、90 日齢の雄の Wistar ラットに、大気汚染レベルの高い都市
34 で観察されるベル型の日中パターン（7:00~19:00 に曝露）で O₃ を最大 0.5 ppm、12 時間曝
35 露した。O₃ 曝露中では、細胞外の 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA) レベルが背側皮
36 質で 28%増加し、レム睡眠が 56%減少した。また、O₃ 曝露終了後の暗期では、視床下部内

1 側視索前野で 5-HIAA レベルが 32%減少し、ノンレム睡眠が 22%減少、覚醒が 21%増加し
2 た。

3 Rubio and Paz (2003)は、Wister ラットに 1.0 ppm の O₃ を 24 時間曝露した。O₃ 曝露により
4 ノンレム睡眠が増加し、レム睡眠が減少すること、これらの影響がインドメタシンの曝露
5 前投与により軽減されることを報告した。

6 Alfaro-Rodriguez and Gonzalez-Pina (2005)は、雄の Wistar ラットを 0.5 ppm の O₃ に 24 時間
7 曝露した。O₃ 曝露により、レム睡眠時間の減少、ノンレム睡眠時間の増加、総睡眠時間の
8 減少がみられ、内側視索前野における細胞外アセチルコリン濃度が明期中に減少した。

9 10 2.4.1.7. 複合曝露

11 Thomson *et al.* (2007)は、Fisher344 ラットに清浄空気、0.4、0.8 ppm の O₃、5、50 mg/m³ の
12 都市大気粒子 EHC-93 のいずれかを単独で、あるいは 0.8 ppm の O₃ と 50 mg/m³ の EHC-93
13 を複合で 4 時間曝露した。O₃ 曝露によって大脳におけるプレプロエンドセリン-1 mRNA 発
14 現量の増加、プレプロエンドセリン-3 mRNA 発現量の減少、下垂体におけるプレプロエン
15 ドセリン-1、プレプロエンドセリン-3、エンドセリン変換酵素-1 mRNA 発現量の増加がみ
16 られた。大脳における NOS2 は、O₃ 曝露直後に減少したが、24 時間後には上昇した。TNF-
17 α の mRNA 発現量については、大脳では EHC-93 曝露によって減少し、下垂体では O₃、
18 EHC-93 いずれへの曝露によっても減少した。

19 Win-Shwe *et al.* (2013) は、DEP と O₃ を反応させ二次生成有機エアロゾル (SOA) を生成し、
20 8 週齢の雄の BALB/c マウスに DEP、または SOA (50 µg/50 µL/マウス) を鼻腔内投与した。
21 SOA の単回曝露の 24 時間後に、すべてのマウスから嗅球、海馬、および肺を採取し、神経
22 学および免疫学的バイオマーカーの mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR 解析と病理組織
23 学的検査により調べた。SOA に曝露されたマウスの肺では炎症誘発性サイトカイン、それ
24 らの転写因子とニューロトロフィン mRNA が著しく増加したが、脳では増加しなかった。
25 嗅球、海馬、肺の病理組織学的検査の結果、SOA に曝露されたマウスの脳、肺で変化はみ
26 られなかった。マイクロアレイのデータでは、炎症反応と代謝酵素遺伝子クラスターの変
27 化が脳と肺で観察された。

28 29 2.4.2. 2 週間から数カ月の曝露による神経系への影響に関する知見

30 2.4.2.1. 酸化・炎症

31 Martinez-Canabal *et al.* (2008)は、Wistar ラットに O₃ (0.25 ppm、4 時間/日、7、15、30 日
32 間) を曝露した。全ての O₃ 曝露群で海馬における脂質過酸化レベルが上昇し、COX-2 陽性
33 細胞数が対照群と比較して増加した。O₃ 及び成長ホルモンに 7、15 日間曝露した群では、
34 O₃ 単独曝露群と比較し、COX-2 陽性細胞数が減少した。

35 Rodríguez-Martínez *et al.* (2013)は、Wistar ラットに 0.25 ppm O₃ を 1 日 4 時間で 7、15、30、
36 60 日間曝露し海馬における変化を解析した。O₃ 曝露 30 日目では、カルボニル化タンパク質

1 と MnSOD 活性が増加し、GPX 活性が低下した。コハク酸脱水素酵素 (SDH) 活性は曝露 7
2 日目から 60 日目まで減少した。酸素消費量は 60 日目に減少した。ウェスタンブロッティ
3 ングにより、O₃ 曝露 60 日目にチトクローム c が増加し、O₃ 曝露 60 日目までは iNOS が増
4 加していた。Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α (PGC-1 α) の発現は、15
5 日、30 日、60 日後にそれ以前と比べて減少した。BCL-2 は、60 日後に、それ以前と比べて
6 増加し、BAX は、30 日、60 日後に、それ以前と比べて増加した。また、60 日後の曝露で
7 は、細胞の損傷、ミトコンドリアのクリスタの消失を伴うミトコンドリアの膨潤が観察さ
8 れた。

9 Gómez-Crisóstomo *et al.* (2014)は、雄の Wistar ラットに、空気または 0.25 ppm O₃ を 1 日 4
10 時間、0、7、15、30、60、または 90 日間曝露し海馬における変化を解析した。O₃ 曝露によ
11 り、30 日目と 60 日目に Forkhead box O (FOXO) 3A の活性化が増加し、すべての処理時間で
12 MnSOD の発現が増加した。さらに、曝露 7 日目から 90 日目までのサイクリン D2、15 日
13 目、30 日目、60 日目の FOXO 1A、曝露 30 日目から 60 日目までの活性化カスパーゼ 3 の増
14 加が認められた。

15 Rivas-Arancibia *et al.* (2015) は、雄の Wistar ラットに、空気または 0.25 ppm O₃ を 1 日 4 時
16 間、7、15、30、60、90 日間曝露した。O₃ は黒質におけるタンパク質酸化レベルの上昇、
17 活性化したアストロサイトやミクログリアの変化、細胞死を誘導することがわかった。
18 NF- κ B とチトクローム c は曝露 30 日まで、COX-2 は曝露 7 日から 90 日までの間、黒質で
19 増加した。

20 21 2.4.2.2. 神経伝達

22 Chen *et al.* (2003)は、30 日齢のアカゲザルに 0.5 ppm の O₃ を 8 時間/日で 5 日間曝露させ、
23 その後 9 日間ろ過空気でも回復させるサイクルを 11 回反復した。最終曝露の 3~5 日後に孤
24 束核を含む脳幹切片を用いて電気生理的観察を行った。O₃ 曝露により膜電位の脱分極、膜
25 抵抗の増加、脱分極通電に対するニューロンのスパイク応答の増加、迷走神経性知覚線維
26 の興奮性低下が生じていた。

27 Calderon Guzman *et al.* (2006)は、低栄養 (7%タンパク質) の餌料を摂取した Wistar ラッ
28 ト (21 日齢、雄) では O₃ (0.75 ppm、4 時間/日、15 日間) により脳の ATPase 活性及びグ
29 ルタチオン量が正常栄養群と比較して低下した。

30 31 2.4.2.3. 形態変化

32 Pereyra-Munoz *et al.* (2006)は、Wistar ラット (雄) に 0.25 ppm の O₃ を 4 時間/日で 15、30
33 日間曝露した結果、運動活動の低下、線条体の脂質過酸化、黒質脳細胞の傷害 (空胞化)
34 とニューロン数の減少、黒質および線条体におけるチロシン水酸化酵素の減少、黒質にお
35 けるドーパミン作動性ニューロン数の減少、線条体におけるドーパミンおよびサイクリック
36 AMP 調節性リン酸化タンパク質 32kD (DARPP-32) 陽性細胞の増加、黒質と線条体における

1 NOS2 及び SOD 発現の増加を観察した。O₃によるこれらの影響は、15 日間曝露と比較し、
2 30 日間曝露で増強する傾向がみられた。

3 Rodríguez-Martínez *et al.* (2016) は、雄の Wistar ラットに、空気または 0.25 ppm O₃ を、1 日
4 4 時間、7、15、30、60、または 90 日間曝露した。O₃ に 60 日および 90 日曝露したラットの
5 海馬では、Activating transcription factor 6 (ATF6)、Glucose-Regulated Protein (GRP)78、カス
6 パーゼ 12 が増加し、小胞体の超微細構造の変化やアポトーシスの増加がみられた。

7 8 2.4.2.4. 学習・記憶

9 Sorace *et al.* (2001) は、雄の CD-1 マウスに 0.3 または 0.6 ppm の O₃ 曝露を 30 日間曝露し、
10 曝露 4 日目と 19 日目、および曝露終了後 3 日目に 5 分間のオープンフィールド試験で行動
11 を評価した。オープンフィールド試験では、0.6 ppm の O₃ を曝露した雄マウスにおいて対
12 照群よりも横断行動が増加した。モリス水迷路では、0.3 ppm の O₃ 曝露により、足場の位
13 置変更に対する学習能力の低下がみられた。0.6 ppm の曝露では影響はみられなかった。

14 Guevara-Guzman *et al.* (2009) は、Wistar ラット (雌、卵巣摘出) に 0.25 ppm の O₃ を 4 時間
15 /日で 30、60 日間曝露した。O₃ の 30、60 日曝露により社会的認知に関する記憶が低下し、
16 O₃ の 60 日間曝露により嗅覚認知力が低下したが、17β-エストロジオールを同時投与するこ
17 とにより、いずれも回復傾向がみられた。また、O₃ の 30、60 日間曝露により、嗅球におい
18 て過酸化脂質量の顕著な増加、α、β エストロゲン受容体陽性細胞数、α、β エストロゲン受
19 容体発現、ドーパミン β ヒドロキシラーゼ陽性線維の減少がみられたが、いずれも 17β-エ
20 ストラジオールの同時投与により回復した。

21 Rivas-Arancibia *et al.* (2010) は、Wister ラットに 0.25 ppm O₃ を最長 90 日間曝露した。15 日
22 以上の O₃ 曝露により、海馬歯状回において脂質過酸化、p53 陽性細胞、活性化ミクログリ
23 アの増加、受動的回避試験における短期および長期記憶の低下、30 日以上でアストロサイ
24 トの増加、90 日以上で Neu-N 陽性細胞とダブルコルチン陽性細胞を生じさせることを報告
25 した。

26 Mokoena *et al.* (2015) は、雄の Flinders Sensitive Line ラットと Flinders Resistant Line ラット
27 に、空気または 0.3 ppm O₃ を 1 日 4 時間、15 日間曝露するとともに、複数の薬剤を投与し
28 た。O₃ 曝露により、記憶障害、不安や抑うつ様症状が誘発され、皮質や海馬のスーパーオ
29 キシドディスムターゼやカタラーゼの活性が低下し、うつ病で指摘されるような中枢性モ
30 ノアミンレベルの低下がみられた。メラトニン、デシプラミン、エシタロプラムの行動
31 および神経化学的作用は、O₃ の存在下で減弱した。

32 33 2.4.2.5. アミロイド

34 Akhter *et al.* (2015) は、6 週齢の雄と雌のアミロイドベータ前駆体タンパク質 (APP) /プレ
35 セニリン (PS1) 過剰発現 (APP/PS1) マウスと野生型マウスに、空気または 0.8 ppm O₃ を 1
36 日 7 時間、5 日間曝露、9 日間休憩の順で 8 サイクル曝露した。雄の APP/PS1 マウスでは O₃

1 曝露により水迷路で足場を見つけるまでの時間が長くなったが、雌の APP/PS1 マウスや野
2 生型では O₃ 曝露による変化はみられなかった。雌の APP/PS1 マウスは、雄の APP/PS1 マ
3 ウスと比較して、脳内のアミロイド β ペプチド 1-42 (Aβ42) および Aβ40 の濃度が高かった
4 が、O₃ 曝露は雄雌ともに脳内の Aβ 負荷には影響を及ぼさなかった。雄の APP/PS1 マウス
5 は、雌の APP/PS1 マウスに比べて、抗酸化物質（グルタチオンおよびアスコルビン酸）の
6 レベルが低く、O₃ 曝露により NADPH オキシダーゼの誘導、脂質過酸化、ニューロンのア
7 ポトーシスが增大した。野生型マウスでは、これらのパラメータに対する O₃ の影響は認め
8 られなかった。*in vitro* の研究では、O₃ に曝露された雄 APP/PS1 マウスの血漿および大脳皮
9 質/海馬で増加した脂質過酸化産物である 4-ヒドロキシノネナールが、神経芽細胞のアポト
10 ーシスを誘導した。

11 Hernandez-Zimbron *et al.* (2015)は、雄の Wistar ラットに、ろ過空気または 0.25 ppm O₃ を 1
12 日 4 時間、7、15、30、60、90 日間曝露した。O₃ 曝露 60 日目と 90 日目に、海馬のミトコン
13 ドリア画分に Aβ42 ペプチドが蓄積するとともに、Aβ40 の蓄積量が減少し、Presenilins 2 が
14 過剰発現し、ADAM *met allopeptidase domain 10* (ADAM10) の発現量が減少した。βアミロ
15 イドの免疫検査では、海馬細胞内に Aβ42 の沈着がみられ、Aβ42 とミトコンドリアマーカ
16 ーである OPA1 mitochondrial dynamin like GTPase (OPA1) および COX1 が共存していた。

17 Hernandez-Zimbron *et al.* (2016) は、雄の Wistar ラットに、空気または 0.25 ppm O₃ を 1 日
18 4 時間、7、15、30、60、90 日間曝露した。曝露 60 日目および 90 日目のラットの海馬細胞
19 の小胞体画分において Aβ42 ペプチド増加が観察された。また、投与 60 日目および 90 日目
20 では、シャペロンであるシンタリン 5 の過剰発現が観察された。

21 Rivas-Arancibia *et al.* (2017)は、雄の Wistar ラットに 0.25 ppm O₃ を、1 日 4 時間、7~90 日
22 間曝露した。O₃ 曝露により海馬の歯状回においてタンパク質の α-helix 構造が減少し、βシ
23 ート二次構造が増加するとともに、Aβ42 ペプチド陽性細胞が増加した。

24

25 2.5. 変異原性・遺伝子傷害性及び発がん性に関する知見の整理結果

26 変異原性・遺伝子傷害性及び発がん性については、*in vitro* および *in vivo* での研究が行わ
27 れている。

28 O₃ の数時間から 2 週間未満の曝露による影響については、変異原性・遺伝子傷害性につ
29 いて、*in vitro* 研究において、O₃ によるコメットアッセイにおける tail moment の促進や 8-ヒ
30 ドロキシグアニン (8-OxoG) の増加が報告されており、*in vivo* 研究においても肺における
31 DNA の切断や損傷が報告されている。

32 O₃ の 2 週間から数カ月の曝露による影響については、発がん性について、卵管がんのみ
33 O₃ 単独で発生がみられたとする報告があるが、他の研究では卵管がんの発生はみられな
34 かったとされている。肺がんその他の癌については、O₃ 単独での発がん効果、他の物質によ
35 る発がん促進効果のいずれもみられなかったことが報告されている。

36

2.5.1. 数時間から2週間未満の曝露による影響に関する知見

Bermudez *et al.* (1999)は、Sprague-Dawley ラットの雄 3 か月齢 (390-410g) に3日連続で 0.3 ppm の O₃、1.2 ppm の NO₂ を曝露した。BALF の細胞から抽出した DNA 鎖切断は、NO₂ + O₃ との複合曝露で対照群と比較して多かった。

Bermudez (2001)は、3 か月齢の雄 Sprague-Dawley ラットに 1.2 ppm の NO₂、0.3 ppm の O₃ を単独または複合曝露した。対照群と比較して、O₃ 単独曝露群で 25%、NO₂ との複合曝露群で 53%肺細胞 DNA 損傷の指標であるポリ ADP リボース合成酵素活性が増加した。

Bornholdt *et al.* (2002)は、雌 BALB/c マウスに 1、2 ppm の O₃ を 90 分間曝露させ、20～1,400 分間の回復期間において BALF を採取し、コメットアッセイ、肺組織中の 8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン (8-OxodG)、サイトカイン mRNA、excision repair cross-complementing-1 (ERCC-1) mRNA を測定した。コメットアッセイでは、O₃ 曝露後 200 分以内は tail moment が対照群よりも増加したが、200 分以降では影響はみられなかった。また、8-oxodG、ERCC-1 mRNA への影響はみられなかった。O₃ 曝露による変異原性をみるため、雌 MutaTM マウスに 2 ppm O₃ を 90 分/日で 5 日間曝露した結果、変異原性はみられなかった。

Jorge *et al.* (2002)は、pR2 プラスミドを 20 ppm の O₃ で 10～60 分間処理した後、293-KMT11 細胞に導入して増幅した。O₃ 処理により変異頻度が増加することを報告した。

Cheng *et al.* (2003)は、ヒト A549 細胞に 60～120ppb の O₃ を 1 時間曝露した。80ppb 以上の O₃ 曝露によりコメットアッセイで遺伝子障害性がみられることを報告した。また、80ppb の O₃ 曝露により 8-oxoguanine (8-OxoG) レベルが上昇し、その上昇はビタミン C および E による前処理により抑制された。

Zhang *et al.* (2017)は、Sprague Dawley ラットに NO 前駆体である L-アルギニンまたは NOS 阻害剤である N-ニトロ-L-アルギニンメチルエステル (L-NAME) の投与下で 2.0 ppm の O₃ を 30 分間/日で 12 日間曝露させた。O₃ 曝露により時間依存的に肺の炎症と肺の構造の破壊が確認され、L-アルギニンを加えると組織病理学的変化が減衰し、L-NAME によって炎症と組織修復が促進した。NOS の発現は L-アルギニンによって促進され、L-NAME によって阻害された。また、アルギナーゼの発現は L-NAME 処理によって促進された。さらに、O₃ 曝露で肺組織の 8-OxoG レベルが上昇し 8-オキソグアニン DNA グリコシラーゼ (OGG1) レベルが低下した。これらは L-アルギニン処理によって抑制され、L-NAME によって促進された。

2.5.2. 2週間から1年の曝露による影響に関する知見

Witschi *et al.* (1999)は、雌 A/J マウスに 0.12、0.5、1.0 ppm O₃ を 6 時間/日、5 日/週で曝露し、各濃度の O₃ 曝露マウスを 5 か月曝露群、9 か月曝露群、5 か月間 O₃ 曝露後に 4 か月間清浄空気曝露による回復群の 3 群で肺腫瘍を観察した。いずれの群においても、清浄空気のみでの曝露と比較して肺腫瘍発生率、平均腫瘍数に影響はみられなかった。

1 Kim *et al.* (2001)は、雌雄の B6C3F1 マウスに 0.5 ppm の O₃ を 6 時間/日、5 日/週で 12 週間
2 曝露し、病理組織学的検索を実施した。大部分の臓器で O₃ 曝露による腫瘍の発生増加はみ
3 られなかったが、雌の曝露群 10 匹中 3 匹に卵管腫瘍がみられた。

4 Hoogervorst *et al.* (2003)は、6-9 週齢の雄および雌の野生型、Xpa 欠損、Xpa 欠損/p52 ヘテ
5 ロ欠損の 3 種類のマウスに対して B[a]P を含む餌を与えるとともに週に 1 回、0.8 ppm の O₃
6 を 8 時間曝露させ、13 週間飼育した。また、13 週間の飼育後に対照飼料およびろ過空気条
7 件下で 6 か月間飼育した。その結果、B[a]P の経口曝露は、野生型マウスと比較して、Xpa
8 欠損および Xpa 欠損/p53 ヘテロ欠損マウスの発がん性を高めた。しかし O₃ 曝露は B[a]P 投
9 与による肺がんの誘発には寄与しなかった。

10 Kim *et al.* (2004)は、B6C3F1 マウスに 0.5 ppm の O₃ を 6 時間/日、5 日/週で 32 または 52 週
11 間曝露させるとともに 4-メチルニトロソアミノ-1-3-ピリジル-1-ブタノン (NNK) またフタル
12 酸ジブチル (DBP) を投与した。脾臓細胞における hypoxanthine-guanine
13 phosphoribosyltransferase (hprt) 遺伝子の変異は O₃ 曝露により増加し、NNK および DBP 単
14 独投与よりも O₃+NNK および O₃+DBP でより増加が大きかった。また変異の様式は同性塩基
15 対置換変異よりも異性塩基対置換変異のほうが頻度は高かった。

16 Kim and Cho (2009a)は、5~6 週齢の雌雄の B6C3F1 マウスに 0.50±0.02 ppm の O₃ を 6 時間
17 /日、5 日/週で 1 年間曝露させた。また、1.0 mg/kg-体重の NNK を週 3 回皮下投与、飼料中
18 5,000 ppm の DBP 投与を行い、肺や卵管などの器官における腫瘍を観察した。O₃ 単独曝露
19 群では腫瘍発生はみられず、NNK や DBP との複合曝露群においても発がん促進作用はみ
20 られなかった。

22 2.6. 生殖及び成長発達への影響に関する知見の整理結果

23 O₃ 曝露による生殖及び成長発達への影響については、妊娠期間中の曝露による影響、妊
24 娠期間中以外の曝露による影響が報告されている。

25 O₃ の妊娠期間中の曝露による仔動物への影響としては、胎児の肺におけるミトコンドリ
26 アの膨化と細胞質の空胞化、グリコーゲンの増加、上皮細胞とラメラ体の剥離、出生後の
27 体重増加遅延、卵白アルブミン (OVA) 感作した仔マウスにおける BALF 中乳酸脱水素酵素
28 (LDH) 活性の増加と肺における炎症反応の低減が報告されている。また、神経系への影響
29 や行動影響として、小脳壊死、プルキンエ細胞の減少や核変性、小脳におけるドーパミン
30 やノルエピネフリンなどの減少、孤束核におけるドーパミンやノルエピネフリンの合成酵
31 素の発現抑制、行動試験における学習能力の低下が報告されている。

32 O₃ の妊娠期間中の曝露による親動物への影響としては、妊娠率の低下、オキシトシンや
33 アセチルコリンに対する子宮収縮反応の増強、子宮動脈血管抵抗の低下、血糖値の低下、
34 遊離脂肪酸の増加、摂餌量の減少と体重の低下、気道抵抗の増加、インスリン抵抗性の上
35 昇及び耐糖能の低下、血中の炎症性サイトカインと HDL コレステロールの減少が報告され
36 ている。

1 妊娠期間中以外の曝露による影響としては、妊娠前の曝露による仔動物への影響として
2 海馬における NGF 濃度減少や線条体の脳由来神経栄養因子 (BDNF) 濃度増加が報告されて
3 おり、親動物への影響としては生殖細胞数や精子濃度の減少などが報告されているが、そ
4 れに伴う交尾成功率および新生児生存率には低下はみられなかった。

6 2.6.1. 妊娠期間中の曝露による仔動物への影響に関する知見

7 Rivas-Manzano and Paz (1999)は、雌の Wistar ラットに 1.0 ppm の O₃ を 12 時間/日で全妊娠
8 期間中曝露させ、生後第 0、12、60 日の仔の脳組織について観察した。胎仔期に O₃ 曝露を
9 受けた仔において、生後第 0 日に小脳の壊死、生後第 12 日にプルキンエ細胞層の減少、生
10 後第 60 日にプルキンエ細胞の核の変性が確認された。

11 Sorace *et al.* (2001)は、雌のマウスに繁殖ペアを形成する 30 日前から妊娠 17 日目まで 0.3
12 または 0.6 ppm の O₃ を曝露した。モリス水迷路では、仔マウスにおいて 0.3 ppm の O₃ 曝露
13 により、足場の位置変更に対する学習能力の低下がみられた。また、仔マウスの受動回避
14 試験では 0.3 ppm の O₃ 曝露により、獲得段階における仔の明室侵入までの時間が延長され
15 た。ホットプレート試験では壁際での立ち上がりの頻度が低下した。なお、0.6 ppm の曝露
16 では影響はみられなかった。

17 Gonzalez-Pina *et al.* (2008)は、妊娠 Wistar ラットに全妊娠期間にわたり 1 ppm O₃ を 12 時
18 間/日で曝露した。生後 0 日と 5 日の雄ラット小脳におけるドーパミン、ノルエピネフリン、
19 3,4 ジヒドロキシフェニル酢酸、ホモバニリック酸の濃度が減少したが、5-HIAA は生後 10
20 日に増加した。

21 Lopez *et al.* (2008)は、妊娠中の雌の Wistar ラットにろ過空気又は 1 ppm の O₃ を妊娠第 1
22 日から 12 時間/日で曝露させ、妊娠第 18 日の胎児の肺でミトコンドリアの膨化と細胞質の
23 空胞化が観察され、妊娠第 20 日ではグリコーゲンの増加、上皮細胞とラメラ体の剥離が、
24 妊娠第 21 日ではミトコンドリアの膨化と電子線密度の高い顆粒の出現が観察された。

25 Boussouar *et al.* (2009)は、妊娠中の雌の Sprague-Dawley ラットに環境大気又は 0.5 ppm の
26 O₃ を 12 時間/日で妊娠第 5~20 日に曝露した後、通常状態下または拘束ストレス負荷後に
27 解析された。胎仔期に O₃ 曝露を受けていないラットでは、拘束ストレスにより孤束核のチ
28 ロシン水酸化酵素タンパク質発現細胞が増加したが、胎仔期に O₃ 曝露を受けたラットでは
29 発現量の変動がみられなかった。

30 Sharkhuu *et al.* (2011)は、妊娠中の BALB/c マウスに 0.4~1.2 ppm の O₃ を 4 時間/日で 10
31 日間曝露した。妊娠期間中の O₃ 曝露は、仔マウスの体重増加遅延、雌における BALF 中
32 LDH 活性増加を生じさせ、OVA 感作した雌の仔マウスにおいて BALF 中の総細胞、マクロ
33 ファージ、リンパ球、好中球、好酸球の数を減少させた。

34 Miller *et al.* (2017)は、Long-Evans ラットの妊娠 5 日目および 6 日目の着床時に、ろ過空気
35 または 0.4、0.8 ppm O₃ を 1 日 4 時間曝露した。GD21 の仔ラットでは O₃ 曝露群で雄雌共に
36 対照群に比べて体重が少なく、除脂肪量および脂肪量ともに少なかった。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

2.6.2. 妊娠期間中の曝露による親動物への影響に関する知見

Campos-Bedolla *et al.* (2002)は、妊娠した雌の Wistar ラットに 3 ppm O₃ を 1 時間曝露した後、単離した子宮片をアセチルコリンおよびオキシトシンで処理した。O₃ は妊娠 5 日目のオキシトシン、妊娠 5 日目と 10 日目のアセチルコリンに対する反応を増大させた。

Sharkhuu *et al.* (2011)は、妊娠中の BALB/c マウスに 0.4~1.2 ppm の O₃ を 4 時間/日で 10 日間曝露した。妊娠期間中の O₃ 曝露は妊娠率を減少させた。

Miller *et al.* (2017)は、Long-Evans ラットの妊娠 5 日目および 6 日目の着床時に、ろ過空気または 0.4、0.8 ppm O₃ を 1 日 4 時間曝露した。母体において、妊娠日数 (GD)15 から GD21 にかけて対照群では血管抵抗が低下したが、0.8 ppm の曝露群では上昇し、GD21 では両群ともに同程度であった。また、GD21 において、O₃ 曝露群では対照群に比べて血清グルコースが低く、遊離脂肪酸濃度が高かった。

Miller *et al.* (2019)は、11 週齢の Long-Evans ラットに、妊娠 5 日目および 6 日目 (着床時期) において、0.4、0.8、1.2 ppm O₃ を 4 時間曝露した。また、胎盤由来の妊娠第 1 期の HTR-8/SVneo 細胞を O₃ (0.8 ppm×4 時間) に曝露したラットの血清に曝露した。妊娠ラットの着床前後の O₃ 曝露は、摂餌量の減少、体重の低下、気道抵抗の増加、インスリン抵抗性の上昇、耐糖能の低下、血中の炎症性サイトカイン (IFN- γ 、IL-6、IL-13) および HDL コレステロールの減少を生じさせた。HTR-8/SVneo のトロフォブラスト (栄養膜細胞) を O₃ 曝露した母体ラットの血清で処理すると、代謝能力、創傷閉塞、マトリゲル基底膜マトリックスからの浸潤が抑制された。また、O₃ 曝露した母体ラットの血清で処理した培養細胞は、空気曝露した母体の血清で処理した培養細胞と比較して、浸潤と血管新生の阻害因子である soluble fms-like receptor 1 (sFlt1) の放出が増加した。

2.6.3. 妊娠期間中以外の曝露による影響に関する知見

Jedlinska-Krakowska *et al.* (2006a、2006b)は、雄の Wistar Hannover ラットに 0.5 ppm の O₃ を 5 時間/日で 50 日間曝露した。O₃ 曝露により雄の生殖腺における生殖細胞の減少が生じること、精子濃度が低下傾向がみられることを報告した。ただし、交尾成功率および新生児生存率に低下はみられなかった。

Santucci *et al.* (2006)は、交配前の雌の CD-1 マウスに O₃ (0.3、0.6 ppm) の曝露を 30 日間行い、その後交配させ、O₃ (0.3、0.6 ppm) の曝露を継続して行った。O₃ 曝露した雌マウスの出生仔では、性別、体重、齢数をマッチングさせた個体との隔離誘発行動観察試験において、非曝露群と比べて凍り付く時間が長かった。また、出生仔の海馬における NGF 濃度の減少や線条体の BDNF 濃度が増加した。

2.7. その他の影響に関する知見の整理結果

O₃ によるその他の影響としては、皮膚における抗酸化物質の減少、創傷治癒の遅延などが報告されている。また、O₃ 曝露による薬物誘発肝臓障害の悪化、DNA メチル化の亢進、摂餌量の制限による O₃ 曝露による死亡の減少、が報告されている。

Weber *et al.* (1999)は、O₃ (1、10 ppm) の 2 時間曝露を行った。皮膚角質層のビタミン C、グルタチオン、尿酸含量が低下した。

Neuhaus-Steinmetz *et al.* (2000)は、IgE 高感受性である BALB/c マウスと低感受性である C57BL/6 マウスの O₃ 曝露による影響を比較した。BALB/c マウスにおいて O₃ 曝露による IgE 産生が増加し、この IgE 濃度依存的に皮膚過敏性が上昇した。

Elsayed *et al.* (2001)は、生後 1 か月の雄の Sprague-Dawley ラットを、自由摂餌 (FF : Freely-fed) 群、餌の 1 日平均摂取量を FF 群の 20%に制限した (DR : Diet-restricted) 群に分け 60 日間飼育した後、 4 ± 0.5 ppm ($7,848 \pm 981$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$) の O₃ を 8 時間曝露させた。餌の制限により DR 群のラットの体重は FF 群の 50%に低減した。高濃度 O₃ 曝露では、DR 群のラットは FF 群と比較して大幅に生存率が改善した (それぞれ 90%vs.8%)。

Valacchi *et al.* (2003)は、SKH-1 ヘアレスマウスに 0.8 ppm O₃ を 6 時間曝露させた。皮膚における HSP27、MMP-9、HO-1 の発現が上昇した。

Valacchi *et al.* (2004)は、SKH-1 ヘアレスマウスに 0.8 ppm O₃ を 6 時間/日で 6 日間曝露させた。皮膚における HO-1、COX-2、PCNA の発現が上昇した。

Lim *et al.* (2006)は、SKH-1 ヘアレスマウスに 0.5 ppm の O₃ を 6 時間/日で 9 日間曝露した。18 月齢では 8 週齢と比較して、O₃ 曝露により創傷治癒の遅延がみられること、O₃ 曝露による皮膚創傷組織における過酸化脂質と酸化タンパク質の増加がより大きく、NF- κ B 阻害因子 (IkB) α と TGF- β タンパク質の増加がみられないことを報告した。

Fortino *et al.* (2007)は、SKH-1 ヘアレスマウス (8 週齢と 18 ヶ月齢) を 0.25 ppm の O₃ に 6 時間/日、紫外線(0.3 MED) またはタバコ煙に 4 日間曝露した。高齢マウスでのみ皮膚におけるメタロプロテイナーゼの活性が上昇した。

Aibo *et al.* (2010)は、アセトアミノフェン (APAP) を投与し薬物誘発肝臓障害を生じさせた C57BL6 マウスに 0.25 または 0.5 ppm の O₃ を 6 時間曝露した。O₃ 曝露は、APAP 誘発性の肝組織傷害の悪化、血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の増加、肝組織における好中球の蓄積増加を引き起こした。

Miller *et al.* (2018)は、10-12 週齢の雄の Long-Evans ラットに 1.0 ppm の O₃ に 4 時間曝露させた。O₃ 曝露は BALF 中タンパク質と肺抵抗を増加させ、DNA シトシン-5-メチルトランスフェラーゼ活性および DNA メチルトランスフェラーゼ 3a/b 遺伝子発現を減少させた。DNA の損傷、修復、維持のためのメチル化を示す増殖細胞核抗原の発現が上昇した。アペリン遺伝子のプロモーターでは、メチル化の増加とヒドロキシメチル化の減少が観察され

1 た。これらのエピジェネティックな修飾は、O₃ によるアペリン発現の低下と肺水腫の発生
2 を伴っていた。

3 3. PANの影響に関する知見の整理結果

4 PAN 曝露による影響については、数時間から 2 週間未満の曝露による影響として、肺炎
5 とそれによる死亡、自発的な活動の低下、肺細胞における DNA の損傷、遺伝子変異が報告
6 されており、2 週間から数カ月の曝露による影響として、体重の減少、気管支肺炎とそれ
7 による死亡、上皮過形成、行動異常、成長遅延、が報告されている。いずれも数 ppm から
8 百 ppm を超える濃度において影響がみられた報告である。

9 3.1.1. 数時間から 2 週間未満の曝露による影響に関する知見

10
11 Campbell *et al.* (1967)は、複数の週齢と系統のマウスに 97~175 ppm の PAN を 2 時間曝露
12 し、LC₅₀ により年齢や温度と湿度による感受性の違いを評価した。PAN 2 時間曝露による
13 曝露 4 週間後の LC₅₀ は約 3.5 月齢 A-strain マウスで 106 ppm であった。2~5 月齢の A-strain
14 マウスへの 76~169 ppm PAN 2 時間曝露では、死亡は曝露直後と 2 週目にピークがあり、
15 曝露 4 週間後では 296 匹のうち 209 匹が死亡した。PAN の感受性は年齢とともに増加し、4
16 週間後 LC₅₀ はそれぞれ若齢で 145~150 ppm, 高齢で 100~110 ppm であった。温度は 17.7°C
17 の方が 32.2°C よりも感受性が低く、4 週間後 LC₅₀ はそれぞれ 125 ppm, 85 ppm であった。
18 湿度は PAN の致死率にほとんど影響しなかった。C57BL と BALB/C 雄マウスでも若齢で死
19 亡の遅延が観察された。C57BL マウスでは、曝露温度が高いほど致死率が高かった。

20
21 Campbell *et al.* (1970) は、75~149 日齢の雄の C57BL マウスに、2.8、3.7、5.5、6.4、8.6
22 ppm PAN を 6 時間曝露させ、自発的な回し車での活動を測定した。いずれの濃度において
23 も、曝露開始後 6 時間と 24 時間の活動を大幅に抑制した。高濃度の曝露では、低濃度と比
24 べて行動低下がより早期に観察され、6 時間曝露により活動が半減した濃度は 4.5 ppm であ
25 った。

26 Krusysse *et al.* (1977) は、4~9 週齢の Wistar ラットに、ろ過空気または PAN を曝露した。
27 78~151 ppm PAN の 4 時間曝露によりラットに死亡がみられ、LC₅₀ は 95 ppm であった。

28 Thomas *et al.* (1981) は、6~16 週齢の雌マウス (Sprague-Dawley CF1、C57BL/6、CD2F1)
29 を 2.94~5.64 ppm の PAN に 2 または 3 時間、または 1.47 ppm PAN に 3 時間/日、5 日/週、2
30 週間曝露した。PAN の 2 または 3 時間曝露により、化膿性レンサ球菌エアロゾルの吸入に
31 よって引き起こされる肺炎による死亡率が増加した。過剰死亡率は 8 から 39% の範囲であ
32 り、生存期間は 2.4~7.9 日減少した。4.97 ppm PAN への単回曝露では、肺洗浄液中の総細
33 胞数は増加したが、肺胞マクロファージの ATP のレベルは減少した。PAN の 2 週間曝露で
34 は、遊離した肺細胞の総数が減少し、肺胞マクロファージの ATP レベルが大幅に減少した
35 が、化膿性レンサ球菌エアロゾル吸入による死亡率や生存率には変化はみられなかった。

1 PAN 曝露後、鼻腔および気管における非繊毛細胞の隆起および脱落、過剰な粘液がみられ
2 た。

3 Kligerman *et al.* (1995)は、6 週齢の雄 B6C3F1 マウスに 0、15.4、39.2 または 78.0 ppm の
4 PAN を 1 時間曝露した後、肺細胞を取り出して培養し、姉妹染色分体交換および染色体異
5 常についての評価を行った。78.0 ppm の曝露では DNA 損傷の増加が認められたが、細胞毒
6 性（細胞分裂阻害）についても生じており、非特異的な DNA 鎖の切断の可能性が考えられ
7 た。より低い濃度では、姉妹染色分体交換、染色体異常または DNA 損傷の増加はみられな
8 かった。

9 DeMarini *et al.* (2000)は、4 週齢の雄 B6C3F1 BigBlue (lacI トランスジェニック) マウスに
10 清浄空気、13.4、39.2、78.0 ppm の PAN を 60 分曝露させ、24 日後に肺組織を取り出し、
11 lacI 遺伝子の変異パターンを観察した。78.0 ppm の PAN 曝露で遺伝子変異がみられた。

12

13 3.1.2. 2 週間から数カ月の曝露による影響に関する知見

14 Dungeforth *et al.* (1969) は、6~8 週齢、雄の A-strain マウスに、ろ過空気または 15 ppm
15 PAN を 6 時間、6 か月間曝露した。曝露マウスでは体重が減少し、曝露期間中に主に細菌
16 性の重度滲出性気管支肺炎で 18%が死亡した。PAN によって生じた合併症ではない病変は、
17 過形成性気管支炎、細気管支炎、および非感染性肺炎であった。気管支における最も
18 顕著な特徴は、壁内の腺房構造の形成であり、気管および主幹気管支では、約 50%のマウ
19 スで扁平上皮の上皮過形成が観察されたが、試験期間中、腺腫は発生しなかった。また、
20 気管支の脱落および斑状の軽度中心性肺気腫がみられた。

21 Kruyse *et al.* (1977) は、4~9 週齢の Wistar ラットに、ろ過空気または PAN を曝露した。
22 曝露条件は、0、0.9、4.1、11.8 ppm PAN を 6 時間/日、5 日/週、4 週間、又は、0、0.2、1.0、
23 4.6 ppm PAN を 6.5 時間/日、5 日/週、13 週間、とした。4 週間曝露では、11.8 ppm の曝露に
24 より、行動異常、成長遅延、死亡率、ヘモグロビン含有量の上昇、ヘマトクリット値と赤
25 血球数、肺重量の増加、重度の炎症性変化、気道の上皮過形成および化生を引き起こした。
26 4.1 ppm では、軽度の行動障害、一過性の成長抑制、肺重量のわずかな増加、気道における
27 軽度の病理組織学的変化がみられた。0.9 ppm では変化はみられなかった。13 週間曝露で
28 は、4.6 ppm の曝露により、11.8 ppm の 4 週間曝露と同様の変化をもたらしたが、死亡は生
29 じなかった。1.0 ppm の 13 週間曝露で、鼻腔内の粘膜栓が観察された。0.2 ppm では変化は
30 みられなかった。

31