

ビタミンCが一過性の受動喫煙時の動脈機能に及ぼす影響

東 亜弥子^{1,2}, 三浦 哉³, 石川 みづき²

Effect of vitamin C ingestion on the vascular endothelial function exposed to transient passive smoking

Ayako Azuma^{1,2}, Hajime Miura³ and Mizuki Ishikawa²

¹四国大学全学共通教育センター, 〒771-1192 徳島県徳島市応神町古川字戎子野123-1 (Center for Faculty-wide General Education, Shikoku University, 123-1 Ebisuno, Furukawa, Ojin-cho, Tokushima 771-1192, Japan)

²徳島大学大学院総合科学教育部, 〒770-8502 徳島県徳島市南常三島町1-1 (Graduate School of Integrated Arts and Science, Tokushima University, 1-1 Minamijyosanjima, Tokushima 770-8502, Japan)

³徳島大学大学院社会産業理工学研究部, 〒770-8502 徳島県徳島市南常三島町1-1 (Laboratory for Applied Physiology, Faculty of Integrated Arts and Science, Tokushima University, 1-1 Minamijyosanjima, Tokushima 770-8502, Japan)

Received: August 17, 2018 / Accepted: December 15, 2018

Abstract As well as active smoking, passive smoking is associated with a high risk of developing cardiovascular disease. The antioxidant vitamin C may inhibit the unfavorable effects of passive smoking. In this study, we investigated the effects of vitamin C ingestion on changes in the flow-mediated dilatation (FMD) at the brachial artery in patients exposed to transient passive smoking. The study participants included seven healthy adult males who were examined by high-resolution ultrasonography of the brachial artery before and after 15-minute of passive smoking. FMD was used to examine the endothelial function. Randomized crossover controlled trial, measurements were performed on two different days 120-minute after the oral administration of 1000mg of ascorbic acid (VC trial) or a placebo (P trial). Although the FMD values decreased after passive smoking in both trials, the FMD values of the VC trial were higher than those of the P trial, with significant differences between the trials observed immediately and 30-minute after passive smoking. The results of this study suggested that the ingestion of vitamin C may suppress the decrease in the vascular endothelial function caused by transient passive smoking.

Jpn J Phys Fitness Sports Med, 68(2): 153-157 (2019)

Keywords : passive smoking, antioxidants, vitamin C, vascular endothelial function

緒 言

受動喫煙とは、室内またはこれに準ずる環境において、他人のタバコの煙を吸わされることである。わが国の喫煙率は徐々に減少し、習慣的に喫煙している成人の割合は、平成28年の時点で18.3%である¹⁾。しかしながら、海外では屋内禁煙化が進む一方、日本では飲食店等の屋内において喫煙可能な店舗がまだまだ多く、国民は受動喫煙のリスクにさらされている。

タバコの先端から立ち上がる副流煙、および喫煙者が吐き出す呼出煙の混合物である環境タバコ煙 (environmental tobacco smoke: ETS) は、4000種類以上もの化学物質が含まれ、単位重量あたりの有害物質の含有量は、主流煙よりも多いといわれている²⁾。受動喫煙により、肺がん、循環器疾患、および乳児突然死症候群などが引き起こされることが指摘され³⁾、わが国における受動喫煙

関連による年間死亡数は、15000人にも上ると推測されている⁴⁾。これまで、慢性的な喫煙者および受動喫煙者は、非喫煙者と比較して血管内皮機能が低いこと⁵⁾、また、30分の短時間であっても、受動喫煙は血管内皮機能、あるいは冠血流予備能を低下させることが報告されている⁶⁾。

一方、天然に存在するビタミンCは、活性酸素種および反応性窒素種を除去する抗酸化物質として働き、ヒトを含めたその生合成ができない生物種において恒常性の維持を担い、食品添加物としても広く利用されている水溶性ビタミンである⁷⁾。Stamatelopoulosら⁸⁾は、喫煙前に2000 mgのビタミンCを摂取することで、喫煙後の血管内皮機能の低下を抑制することを報告している。

近年、分煙対策などにより、学校をはじめとした公共施設においては受動喫煙の対策に取り組んだことにより、受動喫煙に曝露することは少なくなったが、いまだに短時間であっても受動喫煙に曝される環境がある。

ETSの曝露により、血漿中のビタミンCレベルが低下することについては明らかとなっている⁹⁾。ビタミンCの摂取により、血管内皮機能の低下の抑制に繋がる可能性が推察されるが、この点については検討されていない。そこで、本研究では非喫煙者を対象に、一過性の受動喫煙時に抗酸化剤であるビタミンCの経口摂取が、血管内皮機能に及ぼす影響を検討した。

方 法

被験者 被験者は、服薬および喫煙習慣のない健常人男性7名であり、彼らの身体特性については、Table 1に示す通りである。本研究は、徳島大学総合科学部人間科学分野に帰属する研究倫理委員会の承認を得たものであり（承認番号：第150号）、被験者には事前に文章および口頭にて研究の目的・趣旨、参加の拒否・撤回・中断などについて説明し、承認を得たのちに研究を開始した。

条件およびプロトコール 全ての被験者は、プラセボ（P）条件およびビタミンC（VC）条件を、無作為にクロスオーバー試験にて実施した。P条件は、プラセボとして乳糖（バブルスター（株）、神奈川）を、VC条件は、ビタミンC原末（小林薬品工業（株）、東京）を、それぞれにカプセルに入れて使用し、ミネラルウォーターにて経口摂取させた。すべての被験者には、実験前日から、飲酒、カフェイン摂取、激しい運動を制限すると同時に、ビタミンCを含有する栄養機能食品、健康食品、医薬品を原則として摂取しないように指示した。日本人の食事摂取基準2015年版では、摂取量、血液中濃度、体外排泄量が総合的に検討された結果、ビタミンCは食品摂取が基本であるとされ、サプリメント類からの1000 mg/day以上の摂取は推奨されていない¹⁰⁻¹²⁾。これらのことから、本研究では1000 mgを経口摂取量として設定した。また、経口摂取による血漿中のビタミンC濃度は、約120分後に最大限になることから¹¹⁾、摂取のタイミングを受動喫煙の120分前とした。

各被験者は、それぞれを経口摂取し、120分間の座位安静後、15分間の受動喫煙を同姿勢で行なった。ウォッ

シアウト期間として、少なくとも1週間以上の間隔を空けて、ほぼ同一時刻に実験を実施した。なお、本研究で使用したタバコは、Seven Stars（日本タバコ産業（株）、東京、タール14 mg）であり、受動喫煙の環境を作り出すために、喫煙者1名を被験者の90°の角度に約1.5 m離して配置し、15分間で3本喫煙することにより受動喫煙環境を作り出した。

測定項目および測定方法 超音波画像診断装置（ユネクスEF18G, ユネクス株式会社, 名古屋）を用いて、収縮期血圧（systolic blood pressure: SBP）、拡張期血圧（diastolic blood pressure: DBP）、心拍数（heart rate: HR）および上腕動脈の血流依存性血管拡張反応（flow-mediated dilation: FMD）を測定した。被験者は、仰臥位安静姿勢において、右腕を体側方向肩の高さに伸ばし、その前方に置かれた肘置き台および手台に腕を固定し、右腕前腕に駆血用カフを、左腕上腕に血圧計測用カフを巻いた。両手首に心電クリップを装着し、HRを測定した。初めに、右腕上腕の動脈走行を触診にて確認した後、プローブを血管と平行になる位置に設定し、ベースラインの動脈径（brachial artery baseline diameter: Di base）を計測した。次いで、SBPおよびDBPを測定してSBP値の+50 mmHgの圧で5分間駆血した後、解放後の動脈径を連続的に計測し、その最大値（brachial artery maximal diameter: Di max）を得た。FMDは、以下の式を用いて算出した。

$$\text{FMD}(\%) = (\text{Di}_{\text{max}} - \text{Di}_{\text{base}}) / \text{Di}_{\text{base}} \times 100$$

すべての測定は、室温23~25°Cに設定された体積59.2 m³の部屋で、同一検者のもとで実施した。なお、FMD検査は120分間の座位安静後（Pre）、15分間の受動喫煙直後（Post 0）、30分後（Post 30）、および60分後（Post 60）にそれぞれ測定が行われた。

統計処理 本研究の結果は、平均値および標準偏差で示した。受動喫煙下における2群間の比較には、ビタミンC摂取の有無（P条件およびVC条件）と経時変化を主

Table 1. Physical characteristics of subjects.

Variable	
Age (yrs)	25.3 ± 6.6
Height (cm)	174.0 ± 4.0
Weight (kg)	67.5 ± 5.9
Body mass index (kg · m ⁻²)	22.3 ± 2.3

Values are mean ± SD.

効果として、2要因の反復測定分散分析を行った。交互作用および主効果が認められた場合には、Bonferroni法を用いて多重比較検定を行った。なお、統計処理はIBM SPSS Statistics Ver.24.0を用いて行い、いずれの統計処理も有意水準は5%未満とした。

結 果

各条件における受動喫煙前後のSBP, DBP, HR, Di_{base} , および Di_{max} の変化については、Table 2に示す通りであり、各条件間および条件内に有意な主効果および交互作用は認められなかった。

各条件のPre, Post 0, Post 30, およびPost 60のFMDの変化についてはFig. 1に示す通りである。P条件でのFMDは、 $9.0 \pm 1.0\%$, $5.0 \pm 0.6\%$, $5.9 \pm 0.6\%$ および $7.0 \pm 1.3\%$ 、VC条件では $8.9 \pm 1.0\%$, $6.0 \pm 0.8\%$, $6.9 \pm 1.0\%$ および $7.8 \pm 1.0\%$ であり、有意な交互作用が認められ ($F(3, 18) = 4.156$, $p < 0.05$, Fig. 1), Post 0とPost 30において、条件間に有意な差が認められた ($p < 0.05$)。また、Preと比較して両条件ともに、Post 0とPost 30では有意な低下が認められた ($p < 0.05$)。

考 察

本研究では、非喫煙者を対象に、一過性の受動喫煙時に抗酸化剤であるビタミンCの経口摂取が、血管内皮機能の指標であるFMDに及ぼす影響を検討したところ、受動喫煙により両条件ともに有意な低下が認められ (Fig. 1), この結果は、従来の報告と同様であった¹³⁾。タバコの煙を吸い込むことにより、これらに含まれる酸化剤、活性化された好中球から放出されるフリーラジカルにより、酸化ストレスが誘発される^{14,15)}。酸化ストレスの亢進により、一酸化窒素 (nitric oxide: NO) を合成する血管内皮型一酸化窒素合成酵素 (endothelial nitric oxide synthase: eNOS) は、電子の一部が漏出するアンカップリング反応によって、活性酸素を生成する¹⁶⁾。また、受

動喫煙への曝露は、血小板活性の増加、低密度リポタンパク質 (Low-density lipoprotein: LDL) コレステロールの酸化、インスリン抵抗性の増加により内皮細胞の損傷を引き起こし¹⁷⁾、血管内皮機能を慢性喫煙者に近いレベルにまで低下させることが報告されている^{5,18,19)}。受動的および能動的な喫煙は、NOの生物学的利用能の低下によりNOの供給を減少させ、炎症が促進することによって血管内皮に影響を及ぼすことが明らかになっている²⁰⁾。これらのことが、本研究において、受動喫煙によりFMDが有意に低下した要因ではないかと考えられる。

本研究での重要な所見は、受動喫煙前に1000 mgのビタミンCを摂取することで、受動喫煙後のFMDの低下が抑制された点である (Fig. 1)。同量のビタミンCを摂取すると、受動喫煙者は血漿中のビタミンC濃度が、非喫煙者と能動喫煙者の中間であることが報告されている²¹⁾。タバコの煙成分であるスーパーオキシド、過酸化水素、および肺内で二次的に生じるヒドロキシラジカルは、タンパク質、DNAを切断する¹⁶⁾。また、受動的および能動的な喫煙のいずれにおいても、血漿中の脂質過酸化物は増加し、生体膜の損傷などを引き起こすといわれている⁹⁾。これに対し、ビタミンCは、血漿中の強力な水溶性抗酸化物質であり、自らが酸化されることでラジカルの連鎖反応を防ぐ²²⁾。経口摂取により体内に取り込まれたビタミンCは、消化管から吸収され速やかに血中に送られ²³⁾、細胞のコラーゲン合成、骨形成、および炎症性サイトカイン産生抑制などの生理作用を示し^{24,25)}、LDLの酸化およびFMDの低下を抑制する²⁶⁻²⁹⁾。本研究において、受動喫煙前のビタミンC摂取が、体内で増加した活性酸素を捕捉することで、NOと相互作用し、FMDの低下が抑制されたのではないかと考えられる。しかしながら、1000 mgのビタミンCの経口摂取では、受動喫煙によるFMD低下を完全に抑制することができなかった。これは、受動喫煙によってヒトの血漿中ビタミンCが優先的に利用されること³⁰⁾、さらに、ビタミンA, C,

Table 2. Changes in SBP, DBP, HR, Di_{max} , Di_{base} , before and after passive smoking

	P trial				VC trial			
	Pre	Post 0	Post 30	Post 60	Pre	Post 0	Post 30	Post 60
SBP (mmHg)	115.6 ± 9.0	118.1 ± 6.0	115.7 ± 5.3	114.7 ± 4.7	115.3 ± 4.8	116.4 ± 7.3	114.3 ± 6.2	114.3 ± 5.7
DBP (mmHg)	63.9 ± 7.1	65.6 ± 5.1	65.4 ± 6.2	64.0 ± 8.4	64.9 ± 5.8	64.9 ± 6.3	65.3 ± 6.0	64.3 ± 6.8
HR (b·min ⁻¹)	57.9 ± 7.7	54.1 ± 6.8	56.0 ± 5.9	55.1 ± 1.1	60.9 ± 8.6	56.3 ± 8.6	55.3 ± 8.7	55.6 ± 9.1
Di_{base} (mm)	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.2	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	3.9 ± 0.2
Di_{max} (mm)	4.3 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.2 ± 0.1	4.2 ± 0.2	4.2 ± 0.2

Values are mean ± SD.

P trial, placebo ; VC trial, 1000mg of ascorbic acid

SBP, systolic blood pressure ; DBP, diastolic blood pressure ; HR, heart rate ; Di_{base} , brachial artery baseline diameter

Di_{max} , brachial artery maximal diameter

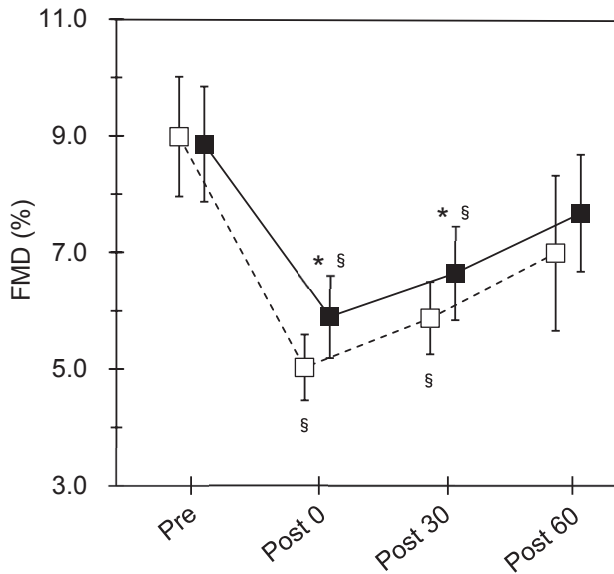


Fig. 1 Comparison of the change of flow-mediated dilatation (FMD) after transient passive smoking between vitamin C trial (■) and placebo trial (□).

Values are mean \pm SD.

* ($p < 0.05$): significantly different from placebo trial.

§ ($p < 0.05$): vs. Pre value.

およびEといったヒトの抗酸化能力が枯渇することが原因であると考えられる^{9,31)}。したがって、今後は経口摂取の量、他の抗酸化物質との組み合わせなども検討しながら、能動および受動喫煙への対策を進めることも重要であると考えられる。

本研究で得られた知見は、健康な若年成人男性が一過性の受動喫煙時に1000 mgのビタミンCを摂取した場合に限定されるために、女性、中高齢者、有患者などを対象にした検討や、ビタミンCの摂取量が異なる場合についての検討が必要である。また、栄養状態の正確な把握に加え、生体指標（血液、尿）を用いて総合的にビタミンC摂取の効果を評価することも必要である。さらに、本研究では、1000 mgのビタミンCの摂取が一過性の受動喫煙時に動脈機能に与える影響について明らかにしてきたが、今後、慢性的な受動喫煙によるFMDの低下にビタミンC摂取が及ぼす効果も検討していく必要がある。

結 論

本研究では、非喫煙者を対象とし、一過性の受動喫煙時に抗酸化剤を経口摂取することで、血管内皮機能低下を抑制できるか否かを検討した。その結果、FMDは受動喫煙直後に両条件とも低下したが、P条件と比較し、VC条件では高値を示し、受動喫煙直後および受動喫煙30分後に両条件間に有意な差が認められた。このことから、一過性の受動喫煙時にビタミンCを摂取することにより、FMDの低下が抑制されることが示唆された。

利益相反自己申告：

本論文発表内容に関連して申告すべきものはない。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、ご協力いただいた応用生理学研究室の方々、および対象者の方々に深く感謝申し上げます。

引用文献

- 厚生労働省健康局健康課. 平成28年国民健康・栄養調査結果の概要, 2017. https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/kekkgaiyou_7.pdf
- 鈴木幸男. 3. 受動喫煙による疾患と対策, B. 化学物質過敏症, 禁煙学 (改訂3版), 南山堂, 東京, 85-89, 2014.
- United States Department of Health and Human Services. The health consequences of involuntary exposure to tobacco smoke: A report of the surgeon general, 2006.
- 片野田耕太: 受動喫煙と肺がんについての包括的評価および受動喫煙起因死亡数の推計, 厚生労働省科学研究費補助金 循環器疾患・糖尿病等生活週間病対策総合研究事業 分担研究報告書: 6-14, 2016.
- Kato T, Inoue T, Morooka T, Yoshimoto N, Node K. Short-term passive smoking causes endothelial dysfunction via oxidative stress in nonsmokers. *Can J Physiol Pharmacol* 84: 523-529, 2006.
- Otsuka R, Watanabe H, Hirata K, Tokai K, Muro T, Yoshiyama M, Takeuchi K, Yoshikawa J. Acute effects of passive smoking on the coronary circulation in healthy young adults. *JAMA* 286: 436-441, 2001.
- 森下雄太, 田井章博: ビタミンC再生経路と酸化ストレス, *ビタミン*, 90: 398-401, 2016.
- Stamatelopoulos KS, Lekakis JP, Papamichael CM, Papaioannou TG, Cimboneriou A, Stamatelopoulos SF. Oral administration of ascorbic acid attenuates endothelial dysfunction after short-term cigarette smoking. *Int J Vitam Nutr Res* 73: 417-422, 2003.
- Valkonen M, Kuusi T. Passive smoking induces atherogenic changes in low-density lipoprotein. *Circulation* 97: 2012-2016, 1998.
- Levine M, Conry-CC, Wang Y, Welch WR, Washko WP, Dhariwal RK, Park BJ, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: Evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 3704-3709, 1996.
- Levine M, Wang Y, Padayatty SJ, Morrow J. A new recommended dietary allowance of vitamin C for healthy young women. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 9842-9846, 2001.
- Melethil S, Mason WD, Chang CJ. Dose-dependent absorption and excretion of vitamin C in humans. *Int J Pharm* 31: 83-89, 1986.
- 杉野 恵, 三浦 哉, 原 陵子: 一過性の受動喫煙が成人の

- 血管内皮機能に及ぼす影響, *保健の科学*, 55: 485-489, 2013.
- 14) Howard DJ, Ota RB, Briggs LA, Hampton M, Pritsos CA. Environmental tobacco smoke in the workplace induces oxidative stress in employees, including increased production of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7: 141-146, 1998.
 - 15) Raupach T, Schafer K, Konstantinides S, Andreas S. Secondhand smoke as an acute threat for the cardiovascular system: a change in paradigm. *Eur Heart J* 27: 386-392, 2006.
 - 16) 鈴木敬一郎. 5. 身体に役立つ活性酸素, 活性酸素の本当の姿, ナップ, 東京, 81-106, 2014.
 - 17) Barnoya J, Glantz SA. Cardiovascular effects of secondhand smoke: nearly as large as smoking. *Circulation* 111: 2684-2698, 2005.
 - 18) Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P, Robinson J, McCredie R, Donald A, Deanfield JE. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 334: 150-154, 1996.
 - 19) Papamichael C, Karatzis E, Karatzi K, Aznaouridis K, Papaioannou T, Stamatelopoulos K, Zampelas A, Lekakis J, Mavrikakis M. Red wine's antioxidants counteract acute endothelial dysfunction caused by cigarette smoking in healthy nonsmokers. *Am Heart J* 147: E5, 2004.
 - 20) Adams T, Wan A, Wei Y, Wahab R, Castagna F, Wang G, Emin M, Russo C, Homma S, Le Jemtel TH, Jelic S. Secondhand smoking is associated with vascular inflammation. *Chest* 148: 112-119, 2015.
 - 21) Tribble DL, Giuliano LJ, Fortmann SP. Reduced plasma ascorbic acid concentrations in nonsmokers regularly exposed to environmental tobacco smoke. *Am J Clin Nutr* 58: 886-890, 1993.
 - 22) 中村成夫: 活性酸素と抗酸化物質の化学, *日本医科大学医学会雑誌*, 9: 164-169, 2013.
 - 23) Goldenberg H, Schweinzer E. Transport of vitamin C in animal and human cell. *J Bioenerg Biomembr* 26: 359-367, 1994.
 - 24) 錦見盛光, 堀尾文彦. ビタミン総合辞典, 朝倉書店, 東京, 400-404, 2010.
 - 25) 村田 晃: ビタミンCの多様な作用と作用機作, *日本農芸化学会誌*, 64: 1843-1845, 1990.
 - 26) Stait SE, Leake DS. The effects of ascorbate and dehydroascorbate on the oxidation of low-density lipoprotein. *Biochem J* 320: 373-381, 1996.
 - 27) Fuller CJ, Grundy SM, Norkus EP, Jialal I. Effect of ascorbate supplementation on low density lipoprotein oxidation in smokers. *Atherosclerosis* 119: 139-150, 1996.
 - 28) Heitzer T, Just H, Munzel T. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers. *Circulation* 94: 6-9, 1996.
 - 29) Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 97: 22-28, 1996.
 - 30) Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce blood plasma: protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 277: 133-138, 1991.
 - 31) Yilmaz G, Isik Agras P, Hizli S, Karacan C, Besler HT, Yurdakok K, Coskun T. The effect of passive smoking and breast feeding on serum antioxidant vitamin (A, C, E) levels in infants. *Acta Paediatr* 98: 531-536, 2009.