

1. 低濃度長期曝露の脳-神経系への影響についての検討

1-1. 低濃度のホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅上皮の形態学的解析

研究協力者：市川眞澄（財）東京都神経科学総合研究所

1. 研究要旨

化学物質の低濃度長期曝露による嗅細胞に与える影響を調べるため、ホルムアルデヒド（0, 80, 400, 2000ppb）に3ヶ月間持続的に曝露した、マウスの嗅上皮を光学および電子顕微鏡で形態学的に解析した。この結果、2000ppb 曝露マウスの嗅上皮では、嗅上皮の厚さや嗅細胞の数に変化は認められなかった。しかし、嗅上皮表面の嗅細胞の嗅小胞や繊毛には変性が著しく、支持細胞表面にある微絨毛は脱落が顕著である。この結果から、細胞の壊死などの大きな変性はないけれども、嗅覚の感覚障害を引き起こしている可能性が高いと考えられた。

2. 研究補助者 林 洋（財）東京都神経科学総合研究所
岩崎則子（財）東京都神経科学総合研究所
瀧上 周（財）東京都神経科学総合研究所

3. 研究目的

嗅覚はいわゆる5感とよばれるもののひとつで、ニオイを感受する感覚系である。ニオイは化学物質により引き起こされるので、5感のうちでは味覚とともに化学受容系に分類される。このニオイ物質は吸気とともに鼻腔に取り込まれ鼻腔の奥にある嗅覚器に到達する。ここで、感覚細胞（嗅細胞）に受容され、その情報は脳へと運ばれる。このように、嗅覚器の特徴は、嗅細胞が外界に接していると云うことである。この理由から、外界の様々な物質に曝露されて障害を受ける可能性が高い。そこで、本研究プロジェクトでは化学物質の長期曝露による嗅細胞を含めた嗅覚器におこる変化、とくに形態学的変化を中心に、解析することを目的とする。

4. 研究方法

4-1) 曝露実験

C3H/He の雌マウスを9週齢で高濃度前感作（ホルムアルデヒド溶液 20mg/kg 体重を1回腹腔内投与する）ののち、10週齢より低濃度曝露を開始したグループと、前感作なしで低濃度曝露をおこなった2グループを作成した。各グループの低濃度曝露は、0, 2000ppb とし、各グループ5匹とした。曝露期間は3ヶ月とした。ほかに、完全コントロールとして別室飼育グループを5匹作成した。5匹のうち3匹は電子顕微鏡観察そして残り2匹は光学顕微鏡観察用標本とした。

4-2) 組織標本作製

各グループとも、低濃度ホルムアルデヒド3ヶ月曝露終了後灌流固定をおこない、鼻中隔上部から第一鼻口蓋部分の嗅粘膜を取り出した。

①光学顕微鏡観察

クリオスタットで嗅粘膜の凍結切片を作成し、組織染色（HE 染色、ニッスル染色）および免疫細胞化学染色をおこなった。免疫細胞化学染色は神経細胞を染めるために N-CAM 抗体、成熟嗅細胞を染めるため

に Olfactory marker protein (OMP) に対する抗体を用いておこなった。

②電子顕微鏡観察

嗅細胞の超微形態を観察するため、組織を樹脂に包埋し超薄切片を作成の後、電子顕微鏡を用いて観察した。特に、鼻腔表面に接する部位の観察を中心におこなった。

5. 研究結果

5-1) 嗅上皮の構造

嗅覚器は、鼻腔の深部に存在し(図1)、その組織は鼻粘膜とよばれ、いわゆる粘膜構造を示す。嗅粘膜の粘膜上皮は嗅上皮とよばれ、嗅細胞、支持細胞、基底細胞から構成される(図2)。

嗅細胞は受容細胞としての役割を有する。その形態は双極細胞型を示し、一方の突起は上皮の表面に達している。突起は樹状突起とも呼ばれ、微小管を含む。突起の先端は膨らみを有し、嗅小胞と呼ぶ。嗅小胞からは鼻腔にむかって数本から数十本の繊毛を発している。嗅小胞あるいは繊毛の表面に嗅受容体が局在する。細胞体からは軸索が基底部にむかって伸び、さらに基底膜を貫いて粘膜固有層で、束を形成し嗅球に向かう。

支持細胞の細胞体は比較的表層近くに存在し、表層には多くの微絨毛を有する。電子顕微鏡の観察では、細胞質は嗅細胞より暗調でミトコンドリアを多く含む。嗅細胞と支持細胞の間には、接装置(接着複合体)が認められる。

基底細胞は上皮の底部の基底膜に接して存在し、分裂能を有し嗅細胞を新生する、いわゆる幹細胞の役割を持つ。

嗅粘膜にはボウマン氏腺と呼ばれる腺組織があり、これから分泌される粘液により上皮表面は覆われている。嗅物質はこの粘液に溶けることにより受容される。

嗅細胞は、一般の上皮細胞同様つねにターンオーバーしている(図2)。嗅細胞の寿命はネズミでは2-3ヶ月と報告されている。新しい細胞は基底細胞の細胞分裂により生じ、樹状突起を表層に伸ばすとともに新しい軸索は嗅球に向かう。このように、嗅細胞は感覚細胞および上皮細胞でありながら、軸索を有する神経細胞としての役割ももつ、大変ユニークな細胞である。

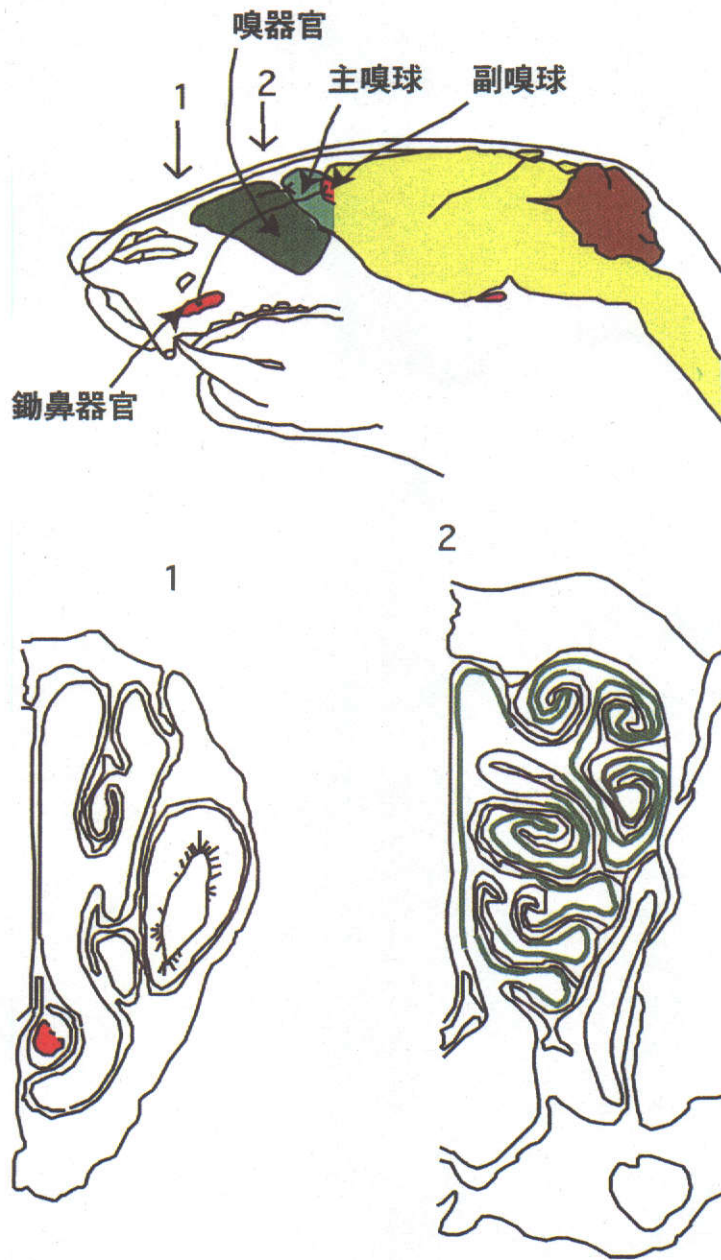


図1 嗅器官の概念図

(上図) ネズミの頭部を横から見たもの。嗅器官、鋤鼻器官、脳（主嗅球、副嗅球）の位置を図示してある。(下図) 鼻腔の構造。(左図) 上図の矢印1のレベルの横断面。鋤鼻器官（赤色で示す）の位置を描いてある。(右図) 上図の矢印2のレベルの横断面。嗅器官（嗅粘膜）（緑色で示す）の位置を描いてある。

図 1