

で示した。使用したマウスは、コントロールマウス、FA曝露マウス共に5匹ずつである。それらのマウスから得られたスライスは、コントロール11枚、FA11枚であった。

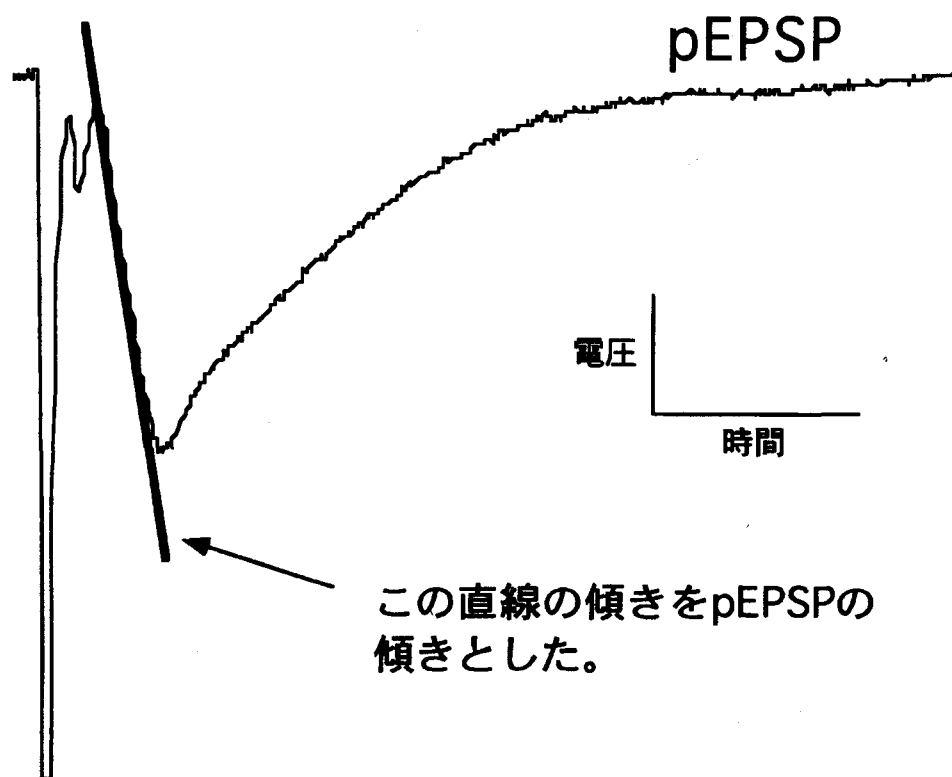


図6 pEPSPの傾きの説明

### 3-3) 免疫組織化学法

ホルムアルデヒド 2000ppb を12週間吸入させたマウス5匹と、対照群として清浄空気を吸入させたマウス5匹を用いた。ネンプタールによる深い麻酔状態において、大動脈起始部に挿入したカニューレから固定液(組成:4%パラホルムアルデヒド、0.1%グルタルアルデヒド、0.2%ピクリン酸、0.1Mリン酸緩衝液)を灌流した。脳を取り出し、振動刃マイクロトーム(ライカ社)を用いて、海馬を含む連続切片(厚さ40 $\mu$ m)を作成した。各種抗体を用いて切片を免疫多重蛍光染色し、共焦点レーザー顕微鏡(ライカ)により海馬の神経細胞およびグリア細胞を観察した。各種抗体による免疫染色性を、対照群と曝露群で比較した。

し、振動刃マイクロトーム(ライカ社)を用いて、海馬を含む連続切片(厚さ 40 $\mu$ m)を作成した。各種抗体を用いて切片を免疫多重蛍光染色し、共焦点レーザー顕微鏡(ライカ)により海馬の神経細胞およびグリア細胞を観察した。各種抗体による免疫染色性を、対照群と曝露群で比較した。

### 3-4 脳波測定と解析

マウスをペントバルビタール(50mg/kg)で麻酔後、脳固定装置に頭部を固定した。頭皮切開後頭骨を露出し、両側の運動野と運動感覚野(Cavinessらのアトラス参照)に歯科用ハンドドリルで穴を開けた。銀ボール電極を大脳皮質硬膜上に置き、微小コネクタに接続して歯科用セメントで頭骨に固定した。術後1週間後、観察箱に移し、環境に慣れさせるため20分の観察ののち、30分間の脳波測定を行った。曝露前の脳波を測定したのち、曝露を開始した。12週間の曝露終了後、マウスを曝露チャンバーから観察箱に移し、曝露前の測定時同様の手順で30分間の脳波測定を行った。脳波測定は、曝露群3匹、対照群3匹ともに、午前10時から午後3時の間すなわち明期に行った。図7は慢性ソケットを装着しコネクタに接続されたマウスである。ソケットとセメント部分は1グラム未満であり、マウスにとっての重量の負荷は少ないと考えた。

30分間の測定中、マウスは、探索様、グルーミング等の行動をした。グルーミング、摂食行動時以外の脳波を、周波数解析した。



図7 ソケットを装着し、観察箱内で自由行動するマウス

#### 4. 研究結果

##### 4-1) 反回抑制の減少

実験は、まず、2000ppb 群、80ppb 群と対照群とのペアパルス抑制の比較を行った。そして、歯状回でのペアパルス比に違いが見られたので、400ppb のくしゃみ様反応を有するマウスのペアパルス比を調べた。

歯状回における対照群と 2000ppb 曝露群のペアパルス応答の例を図 8 に示す。20ms 間隔でペアパルス刺激をした時、対照群のペアパルス比は小さいが、2000ppb 曝露群では、1 に近かった。結果を図 9 に示す。対照群では 5-20ms の刺激間隔では、ペアパルス比がほぼ 0 に近く、強いペアパルス抑制が示唆された。80ppb 群は対照群と差がなかったが、400、2000ppb 濃度で曝露された群では、くしゃみを多くしていた個体に、対照群と比較してペアパルス比の有意な増加が認められた。くしゃみが少ない個体のペアパルス比は、対照群と差がなかった (図 10)。

歯状回とはことなり、CA1 領域では、2000ppb 曝露群と対照群のペアパルス比に差は認められなかった (図 11)。

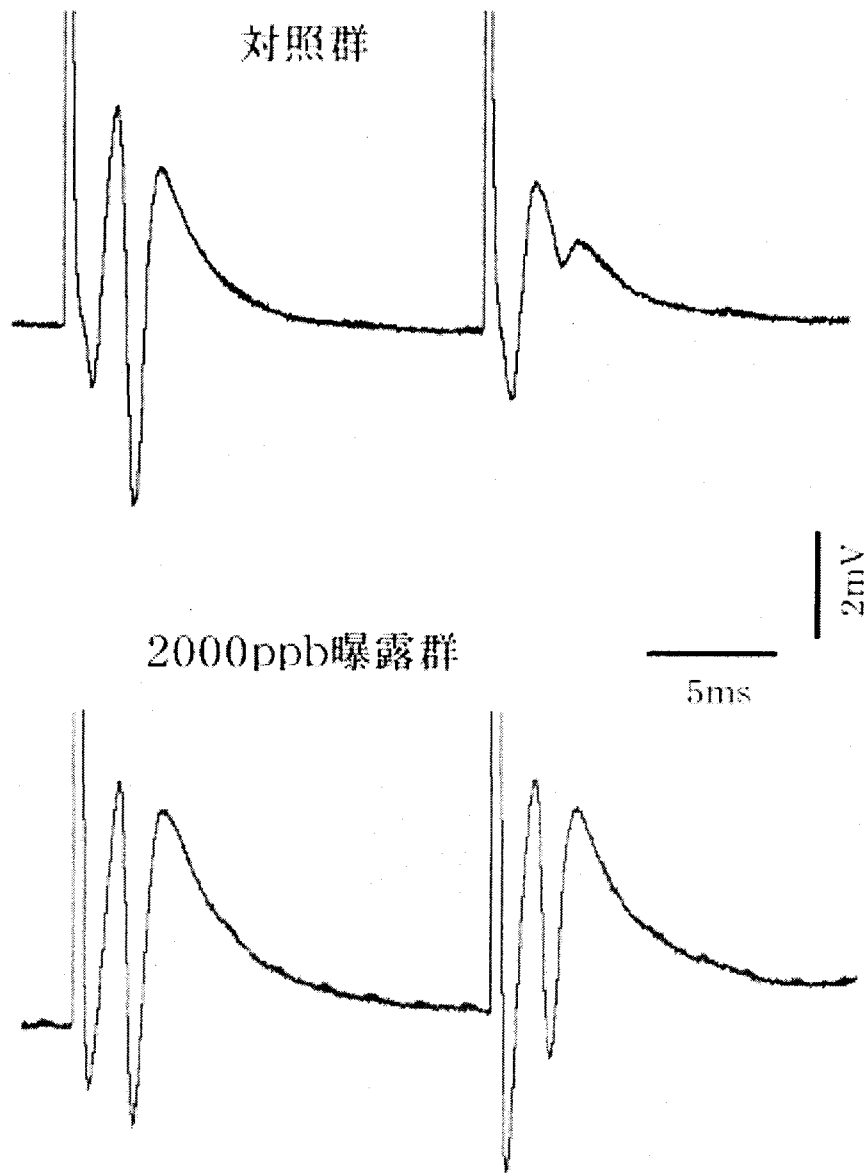


図8 対照群とホルムアルデヒド曝露群マウスの歯状回でのペアパルス応答

20ms 間隔で刺激すると、対照群ではペアパルス抑制が強い（2 回目の刺激に対する応答が抑制されている）が 2000ppb ホルムアルデヒド群ではペアパルス抑制は弱くなっている（2 回目の刺激に対しても応答が記録される）。

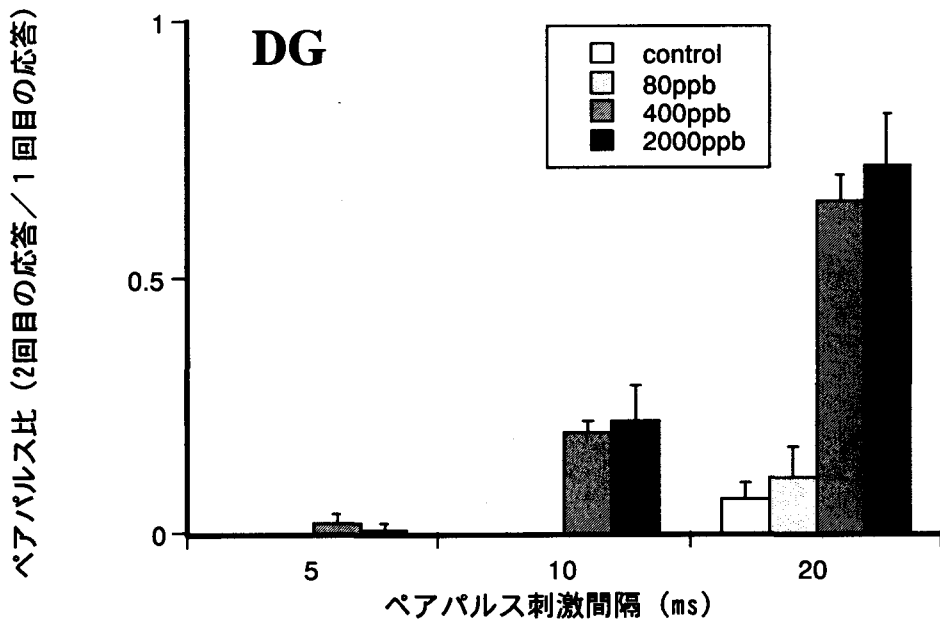


図9 ホルムアルデヒド曝露群における短い刺激間隔に対するペアパルス比の変化

400、2000ppb 群はくしゃみを頻回していたマウスについて集計。くしゃみを頻回しているマウスのペアパルス比は増加している（ペアパルス抑制が弱い）。