

5. 考察

5-1) 抑制系への影響

400ppb 以上の低濃度ホルムアルデヒドをマウスに12週間吸入曝露すると、歯状回の顆粒細胞でペアパルス抑制が減弱する傾向にあることがわかった。刺激間隔は5-20msであったので、反回抑制の減弱が考えられた。反回抑制の減弱は興奮性の増加につながる。ペアパルス抑制の減弱は、フロン代替化合物である1-ブロモプロパンの長期吸入曝露でみられた歯状回の変化と類似していた。1-ブロモプロパンの場合は、グルタミン酸のNMDA型受容体の活性化亢進による過興奮が強く示唆された。今回の実験は、細胞外記録であり個々の細胞から生じる電流の合計を計測するものであること、かつ、受容体拮抗剤など使用した薬理学的実験をしていないので、抑制減弱のメカニズムについては、推測の域を出ないが次のようなことが考えられる。ペアパルス抑制の減弱の程度が刺激間隔に依存している傾向にあるので、GABA受容体の活性化によるCl⁻コンダクタンスが関与する抑制性シナプス電流/電位のキネティクスが変化している可能性が考えられる。抑制性シナプス電流/電位の減衰が速ければ、顆粒細胞の興奮の制御時間が短くなり、今回の結果のようにペアパルス抑制は弱くなるであろう。キネティクスの変化は、GABA受容体の脱感作・サブユニット構成・受容体蛋白の構造変化などシナプス下膜側の問題か、または、GABA合成能の変化・GABA小胞放出量の変化・1小胞あたりのGABA量の変化などのGABAニューロン軸索終末の機能変化によると考えられる。また、海馬CA1では、対照群と2000ppb曝露群のペアパルス比に差が見られなかったことから、領域特異的な反応の結果とも考えられる。くしゃみを多くした個体でペアパルス抑制の減少傾向がみられたことから、歯状回のみの変化というより、嗅覚についての神経連絡を持つ、鼻腔、嗅球、皮質、視床下部、扁桃体、海馬等全体に変化している可能性もあり、他の研究課題との結果の統合・解釈が必要である。形態学的には顕著な変化が見られなかったことは、ホルムアルデヒドの曝露停止により、抑制の減弱が回復する可能性を示唆しており、本態性多種化学物質過敏状態のモデル作成上、重要な点と考える。

5-2) シナプス可塑性への影響

2000ppbのホルムアルデヒド曝露に関しては、海馬CA1領域におけるLTPを抑制する傾向にあると考えられる。つまり、曝露により、シナプスの可塑的变化が阻害されるので、個体レベルでの記憶学習行動が阻害される可能性が示唆される。

2000ppb曝露により、マウス海馬CA1領域におけるLTP誘導が抑制される機構に関しては、現在の所、明らかにはなっていない。LTPの誘導には、シナプス後細胞の脱分極、グルタミン酸受容体の一種であるNMDA受容体のMg²⁺ブロックの解除、NMDA受容体を通

しての細胞内への Ca^{2+} 流入、CaMKII 等の Ca^{2+} 依存性蛋白質の活性化及び、その活性化に伴う様々な細胞内蛋白質のリン酸化、DNA の転写、発現過程の活性化による新たなる蛋白質の合成、等々の過程が存在する。ホルムアルデヒドが直接、若しくはその代謝産物が、これらのどの過程を阻害、抑制するかは今後行う予定である。

また、2000ppb 曝露により LTP が抑制されるので、2000ppb 濃度に対する LTP は良いバイオマーカーになると予想される。さらに、2000ppb 曝露により、くしゃみをするマウスが増加した。そのくしゃみ群における LTP 増強度は、非くしゃみ群における LTP に比べて小さかった。従って、くしゃみと、LTP 増強度の減少とは並行して生じ、結局、くしゃみが、ホルムアルデヒド曝露の海馬シナプス可塑的变化抑制効果に対する良いバイオマーカーになるであろうと期待される。

5-3) 形態への影響

ホルムアルデヒド吸入による、海馬の神経細胞構築、神経細胞の形態、および神経細胞内にある機能分子の局在への影響を、免疫細胞化学染色を用いて形態学的に検討したが、いずれにおいても明らかな変化は認められなかった。中枢神経系における形態学的な異常の存在は、神経細胞の再生不能性から鑑みて、一般に不可逆的かつ重度の傷害を意味するが、今回の結果から、そのような大きな損傷は起こらなかったと言える。しかし、併せて行った電気生理学的検討から、機能面における影響が明らかになった。この見かけ上の不一致は、形態学変化と機能的変化の間の関係に本来的に存在する可能性として説明可能である。すなわち、機能的な変化は、形態学的な検出感度以下でも十分起こりうると考えられる。たとえば、よく知られているシナプス伝達の可塑的变化（長期増強、長期抑制）は、少なくとも比較的初期の過程においては、形態学的変化を伴わずに起こりうると考えられている。また、われわれが 1-プロモプロパンの長期曝露による影響を、本実験と同様の手法で行った結果においても、今回と同様に、形態学的異常を伴わない機能的な変化を認めた。その際に注目すべきことは、12週間曝露の後に4週間通常のを吸入させるクリアランス実験を行った結果、ペアパルス比が正常に復帰した点である。すなわち、もし形態学的な変化を伴った不可逆的な損傷が起きていれば、クリアランスによって正常に復帰することは説明が困難であるが、可逆的な機能異常にとどまっていたために、復帰が可能であったと考えられる。今回の結果も、形態学的な変化に至る以前の可逆的な機能異常が起こっていると考えられる。

ただし、今回検討を加えなかった他の機能分子に、何らかの免疫染色性の変化が起きていることも否定できない。この点については今後の課題である。

以上を要約すると、2000ppb の低濃度ホルムアルデヒドの12週間吸入曝露によって、

調べたかぎりにおいては海馬の神経細胞に明らかな形態学的異常を認めなかったが、電気生理学的解析により明らかとなった機能的異常との関連性を、今後さらに検討していくことが必要である。

5-4) 脳波の検討

ホルムアルデヒドを濃度 2000ppb で 12 週間曝露した時の中枢神経系への影響を、脳波でモニター可能かどうか検討するために、今回、脳波の周波数解析を行った。脳波は、ヒトの場合、無侵襲で脳の機能情報がある程度得ることができる点に利点がある。たとえば、てんかんのような過剰興奮の証明や、睡眠レベルや意識レベルのモニターとしては有用な測定手段である。しかし、今回の実験では、マウス自由行動中の運動野・運動感覚野の自発脳波の周波数分布に傾向はつかめなかった。低濃度ホルムアルデヒドを長期曝露して、マウスの自発脳波を測定する場合には、個体数を増やし、測定条件の検討を議論すべきと思われる。

6. 結論

ホルムアルデヒド 2000ppb を 12 週間吸入したマウスの歯状回において、ペアパルス抑制の減弱、海馬 CA1 において LTP の形成不全などの傾向がみとめられた。この変化は、シナプス伝達効率の変化を示し、神経細胞の情報処理への影響を示唆するものである。一方、明らかな形態学的異常は認められなかった。このことは、電気生理学的解析により明らかとなった機能的異常が、形態学的所見として現れるような不可逆的損傷に至る前の段階であることを示唆している。今回の実験結果は、再試を必要とし、さらに 2000ppb 未満の濃度での実験、くしゃみ様反応との連関などを検討する必要がある。本態性多種化学物質過敏状態のモデル作成のための低濃度の曝露影響マーカーが、海馬および歯状回から得られたと考えられる。

7. Abstract

Effects of long-term inhalation of low concentration formaldehyde on neuronal information processing focused on paired pulse responses and a long-term potentiation in the hippocampal formation

Yukiko FUETA, Kiyohisa NATSUME, Takaichi FUKUDA

(University of Occupational and Environmental Health, Fukuoka 807-8555 Japan)

Olfactory information is transmitted from the olfactory bulb to the limbic system, thalamus and cerebral cortex in the central nervous system. Hippocampus is a part of the limbic system and is involved in emotions, learning and memory. In this study we tested the effects of long-lasting inhalation of a low concentration of formaldehyde (FA) on neuronal function and cell morphology. Paired-pulse inhibition of population spikes represents a recurrent inhibition, which considerably controls the excitability of excitatory neurons. The paired-pulse inhibition of granule cells of the dentate gyrus decreased in sneezing mice when they inhaled a FA concentration of 400ppb and 2000ppb. The paired-pulse inhibition did not change in the non-sneezing mice. There was no change in the paired-pulse inhibition in hippocampal CA1. Synaptic plasticity is observed as a change of synaptic responses after a high frequency stimulation or θ -burst stimulation. We analyzed a long-term potentiation (LTP) of population excitatory postsynaptic potentials (pEPSP) induced by θ -burst stimulation applied to input afferents of the hippocampal CA1 area of mice inhaled 2000ppb. Induction of LTP was decreased in mice that inhaled FA. An immunohistological examination was performed on the hippocampus of mice who had inhaled 2000ppb FA. There was no change in cell morphology stained by propidium iodide and in the distribution of GAD67, GAD65, synaptotagmin and GAT-1. Our results suggest that the long-term inhalation of low concentration of FA is capable of influencing information processing in the hippocampal area.