

## 6. 低濃度長期曝露の行動毒性への影響

研究協力者：櫻田尚樹、嵐谷奎一（産業医科大学産業保健学部）

### （1）研究要旨

MCSの動物モデルとして行動毒性モデルが検索手段のひとつとして検討されている。ここでは、アンビロメーターを用いて、曝露期間内での自発運動活性の一種である移所運動活性の変化を検討した。なお、行動毒性モデルとしては、ホルムアルデヒド曝露による中枢神経刺激薬に対する感受性亢進の有無が検討されており、昨年はこれに準じて3ヶ月終了時点において中枢刺激薬として antidepressant の bupropion hydrochloride (10mg/kg) の皮下投与を行い移所運動活性を測定したが、マウスを多数必要とするため、今年度は自発運動活性のみを評価した。その結果、1, 2, 3ヶ月いずれの時期においても、C3H/HeN マウス、C57BL/6 マウスとも自発運動活性は、ホルムアルデヒド曝露の影響を受けなかった。しかし、両系統のマウスを比較すると、C3H/HeN マウスはいずれのタイミングにおいても測定器にセットした直後は探索行動を取り高い運動量を示した後、時間とともに活動量が低下するのに対し、C57BL/6 マウスは、測定器にセットした時点から比較的活動量が低くまた時間的な変化も少ないといったマウスの系統差が観察された。また、昨年度曝露途上で一部のマウスにくしゃみ様の動きが観察されるようになったので、今年度は2ヶ月曝露時と3ヶ月曝露終了時点で定量的に評価を試みた。その結果、2ヶ月時点においてもホルムアルデヒド濃度依存的なくしゃみの増加が観察され、3ヶ月時点ではその影響がさらに顕著なものとなった。また、C3H/HeN マウスにおいてOVA感作したアレルギーモデルにおいてはOVA非感作群に比較しさらに有意にくしゃみの増加が観察された。

### （2）研究目的

MCSの動物モデルとして行動毒性試験が行われ中枢神経刺激薬に対する感受性亢進の有無が報告されている。昨年は中枢刺激薬として antidepressant の bupropion hydrochloride (10mg/kg) の皮下投与を行い移所運動活性を測定したが、マウスを多数必要とするため、今年度は自発運動活性のみを評価した。さらに昨年に引き続き曝露中に観察されたくしゃみを定量化し、曝露の影響を評価するとともに、非浸襲的なくしゃみ測定を通して他の測定項目との比較指標とする。

### （3）研究方法

#### 1) 移所運動活性の測定

曝露開始1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月終了時点において明期に無刺激の自発運動活性を、群大式アンビロメーターを用いて測定した。

#### 2) くしゃみの評価

前述のように曝露中にくしゃみ様の行動が特に高濃度曝露群で観察されたので、2ヶ月曝露時と3ヶ月曝露終了時点で定量的に評価した。（なお、1ヶ月時点では明確なくしゃみは観察されなかったため定量化しなかった。）すなわち、移所運動活性同様に明期に、それぞれのマウスをアクリルボックスにいれ、目視でそれぞれ15分ずつ行動とくしゃみ様の発声を聞きながら観察した。

### （4）結果と考察

#### 1) 移所運動活性

図1に曝露1ヶ月時点における移所運動活性の経時変化を示す。一般にマウスは測定器にセッ

トされた時点で環境変化に順応するために探索行動をとり運動活性は一時的に高まるが一時間程度で落ち着いてくる。図1に示すようにこの順応反応は一ヶ月の時点ではいずれの濃度群においても相違は認めなかった。ただ、C3H/HeNマウスはOVAの有無にかかわらず測定器にセット後、急速にカウントが低下する傾向を示すのに対し、C57BLマウスは、セット直後のカウントはC3H/HeNより低値を示しその後もあまり急速な低下を認めず、マウスの系統による相違が認められた。

図2には曝露2ヶ月時点での移所運動活性を、図3には3ヶ月曝露終了時点での自発移所運動活性を示すがいずれもホルムアルデヒド曝露による大きな変化は認めなかった。

## 2) くしゃみの回数

曝露2ヶ月時でのC3H/HeNマウスのくしゃみの回数を図4に示す。この時点ですでに、曝露濃度依存的なくしゃみの増加が観察された。曝露終了時点でのくしゃみの回数は図5に示すように、回数はさらに増加し濃度依存性をきれいに認めた。また、C3H/HeNマウスにおいて、図6に示すようにOVAの感作により、非感作群に比べ有意な増加を認めた。また、曝露2ヶ月と3ヶ月終了時の個々のマウスでの変化を図7に比較しているが、曝露期間の増加にしたがって、くしゃみ回数が増加していることが認められた。

次に、くしゃみ回数だけでなく、くしゃみの発症率と曝露濃度の関係を比較してみると、表1、2に示すように曝露濃度の増加にしたがい、くしゃみ発症率も有意に増加することが観察された。

さらにOVA感作により発症率も増加していることが認められた。しかし、先のくしゃみ回数においても、この発症率においても昨年度のC3H/Heにおける観察値より低下傾向を認め、その他の指標の解釈の関係においても注意を要すると思われる。

## (5) 結論

移所運動活性の測定においては、今年度は自発運動活性のみを評価したがホルムアルデヒドの曝露影響は観察されなかった。ただしC3H/HeNマウスとC57BL/6マウスの比較においては系統差が見受けられた。

また、昨年同様にくしゃみの定量化を行ったが、曝露2ヶ月時ですでに濃度依存的なくしゃみの増加を観察し、曝露期間の増加にしたがってくしゃみ回数の増加が認められた。また、OVA感作群においてはさらにくしゃみの増加が見受けられた。

## (6) Abstract

Behavioral changes after repeated formaldehyde exposure in mice

Naoki Kunugita, Keiichi Arashidani

School of Health Sciences, University of Occupational and Environmental Health, Japan.

We examined a spontaneous activity after repeated formaldehyde exposure in mice. Spontaneous locomotion activity in the groups under the doses of 2000ppb was not altered during the exposure period.

We also observed that frequency of sneeze in each animal. The frequency of sneeze increased dose-dependently at two month. At the end of exposure for three month, the frequency of sneeze furthermore increased. The frequency in the groups of mice previously sensitized with OVA is significantly high in comparison with non-sensitized mice. It is necessary to examine further relationships between the sneeze and other phenomena.



写真1 群大式アンビュロメーターを用いて、自発行動活性の一種である移所運動活性を経時的測定した。

図1 曝露1ヶ月後における自発運動量

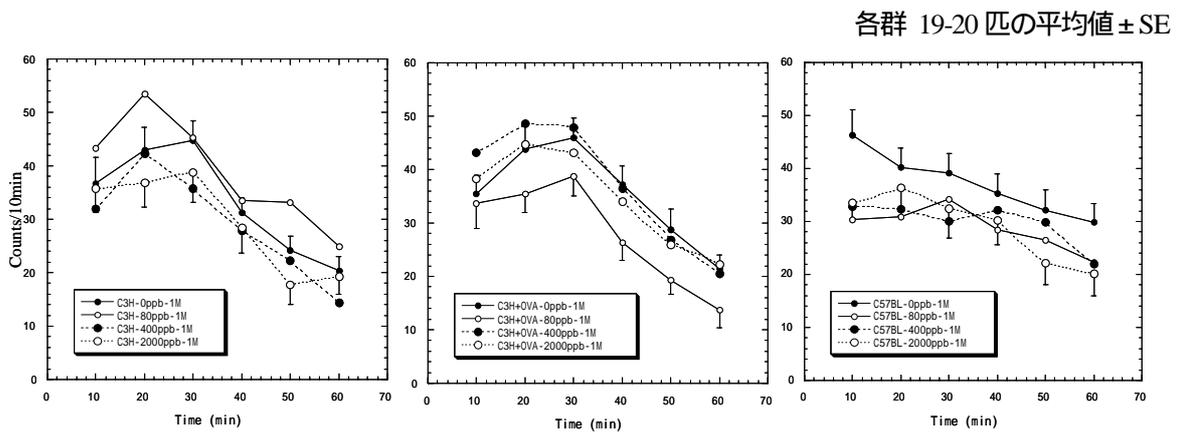


図2 曝露2ヶ月後における自発運動量

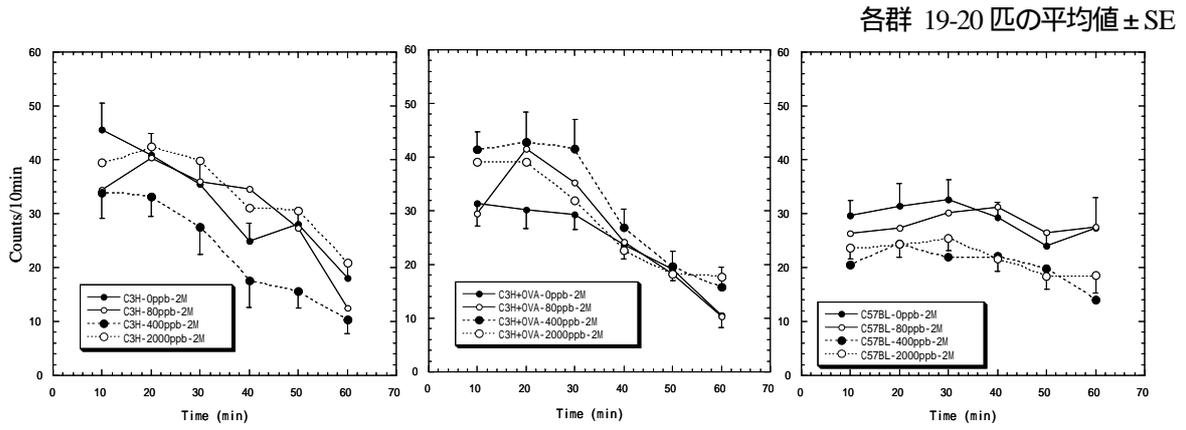
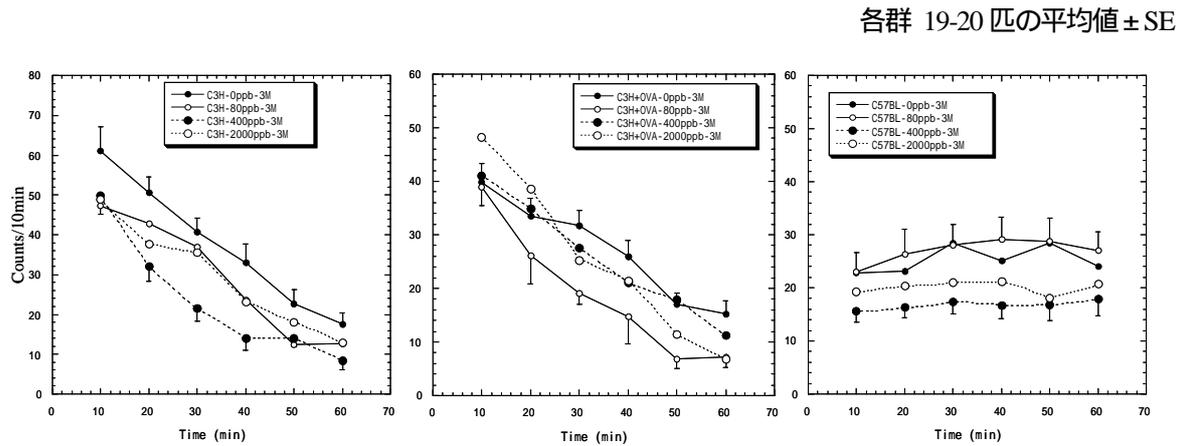
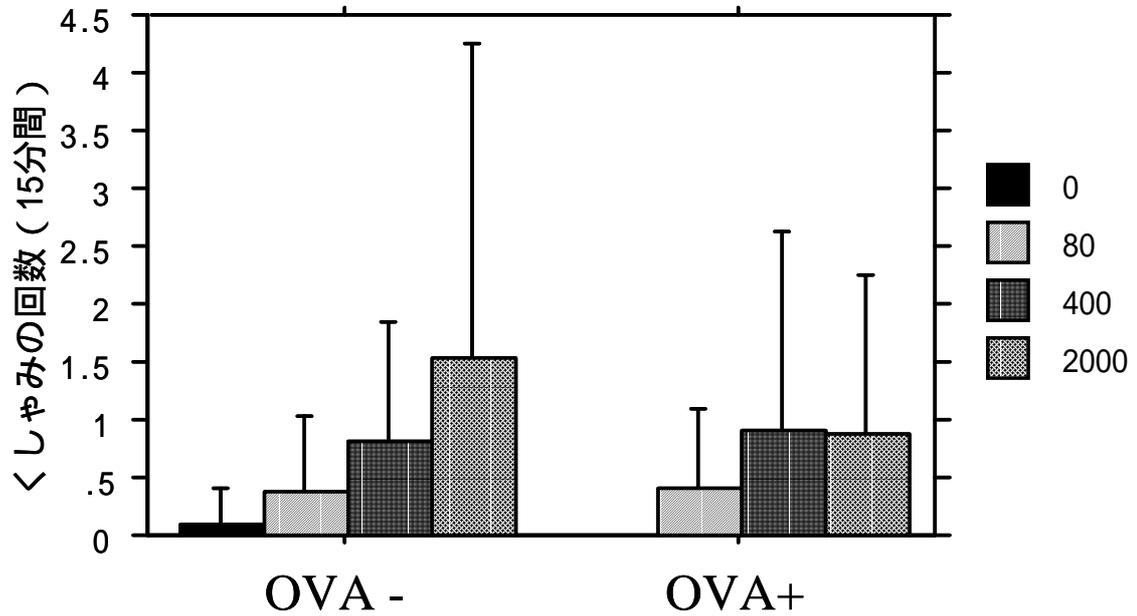


図3 曝露3ヶ月終了時における自発運動量



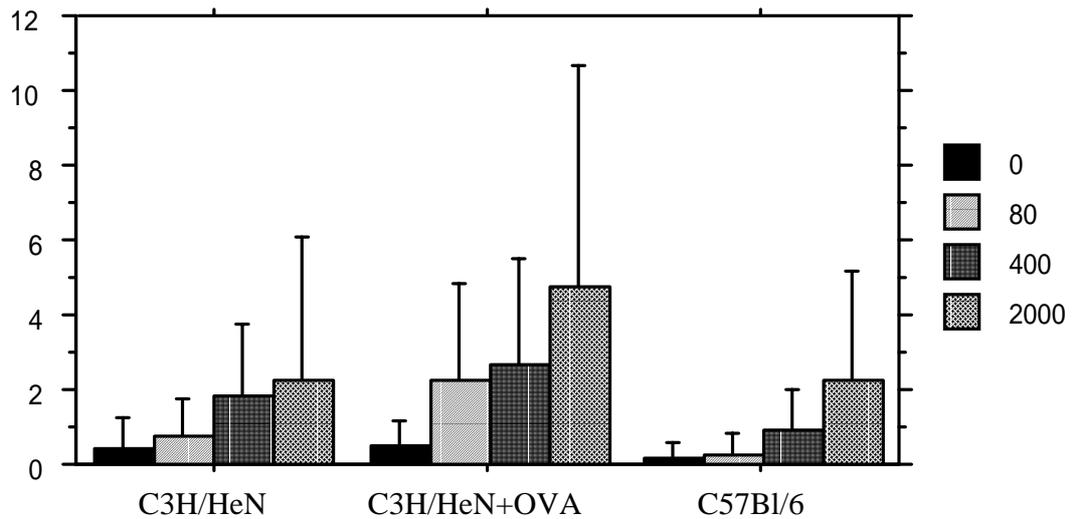
## 図4 曝露2ヶ月時点でのくしゃみ回数

2ヶ月時はC3Hのみのカウント(平均値±SD)



## 図5 曝露終了時点でのくしゃみの回数

平均値±SD





## 表1 曝露濃度とくしゃみ発症率(%)の関係

C3H/HeN(OVA-) (3ヶ月曝露終了後)

くしゃみ回数 /15分間	0~3	4~7	8~11	12~	合計 匹数
0 ppb	100	0	0	0	21
80 ppb	100	0	0	0	21
400 ppb	73.7	26.3	0	0	19
2000 ppb	84.6	5.1	5.1	5.1	39
合計匹数	89	7	2	2	100

カイ2乗検定:  $p < 0.05$

## 表2 曝露濃度とくしゃみ発症率(%)の関係

C3H/HeN(OVA+) (3ヶ月曝露終了後)

くしゃみ回数 /15分間	0~3	4~7	8~11	12~	合計 匹数
0 ppb	100	0	0	0	19
80 ppb	77.8	16.7	5.6	0	18
400 ppb	73.7	15.8	10.5	0	19
2000 ppb	50.0	33.3	5.6	11.1	18
合計匹数	56	12	4	2	74

カイ2乗検定:  $p < 0.05$