

2. 低濃度のホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅覚系の形態学的解析

研究者：市川眞澄（財）東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所）

研究協力者：林 洋（財）東京都医学研究機構東京都神経科学総合研究所）

（1）研究要旨

低濃度の揮発性物質による脳・神経系への影響をあきらかにするため、嗅覚系ニューロンに与える影響を調べるた。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覚系を形態学的に解析した。

これまで、嗅上皮を観察した結果、一部変性過程を示すものもあるが、全体としては軽微なものであり、機能的障害を起こしているとは考えにくい。

本年度は、嗅球ニューロンへの解析を主に、さらに大脳辺縁系における解析も着手した。

OMPの免疫細胞化学染色により嗅細胞の軸索である嗅神経が特異的に染色される。したがって、嗅球の神経細胞層および糸球体が染まる。染色像で見える限り、各グループ間で差はなく、2000ppbグループでも嗅神経は嗅球に正常に投射しているものと考えられる。嗅球におけるTHに対する抗体を用いて、嗅球糸球体に存在するドーパミンニューロンを観察した。この結果、0ppbに比べて曝露群で陽性ニューロンの数が増える傾向が見いだされた。嗅球におけるドーパミンニューロンの機能は明らかでないが、刺激依存的に増加し嗅覚情報を調節していると考えられる。

さらに、Ca²⁺結合タンパク質のParvalbumin, Calbindin, Calretininの抗体を用いて、解析した。嗅球外叢状層に存在するParvalbumin陽性のGABAニューロンの数が、曝露群で増加する傾向が見いだされた。個体間の差がおおきいので、さらに定量的解析が必要である。いずれにしても、これらのニューロンの活動が高まっている可能性が示唆される。Calbindin, Calretininでは差は認められなかった。

嗅球のドーパミンニューロンおよび外叢状層のGABA抑制ニューロンの一部が曝露群で増加している結果を得た。これは、持続的に刺激が嗅球に入力するため、これを抑制する必要から、嗅球の活動が高まりこれらの免疫陽性ニューロン数が増加したものと推測される。これらニューロンの活動の増強が動物の脳にどのような影響を与えているか推測の域を出ないが、少なくとも嗅球においては、ホルムアルデヒドの持続的な刺激を解除するような脳内メカニズムが働いていると思われる。

扁桃体におけるホルムアルデヒド曝露の影響をCa²⁺結合タンパク質の抗体を用いて、解析した。その結果、扁桃体皮質核のParvalbumin陽性ニューロンが曝露群で増える傾向が認められた。扁桃体のParvalbumin陽性ニューロンはGABAニューロンであるとの報告がある。したがって、扁桃体においても、ホルムアルデヒド曝露によりGABAニューロンの活動が高まっていることが示唆される。しかしながら、扁桃体GABAニューロンの役割はほとんど明らかになっていない。あくまでも、推測であるが、ホルムアルデヒドによる扁桃体GABAニューロンへの作用がさらにストレスとして働いている可能性もある。

(2) 研究目的

低濃度の揮発性化学物質が脳・神経系に影響を及ぼす可能性は、本態性多種化学物質過敏症の原因の一つと考えられ、多方面から指摘されているが、明確な証拠はない。

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、その情報は嗅覚系を經由して高次脳中枢へと運ばれる。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その影響を直接を受けることである。そこで、ホルムアルデヒドの脳・神経系への影響を明らかにするには、嗅覚系への影響を明らかにする必要があると考えられる。この理由から、本研究は、低濃度ホルムアルデヒド(80,400,2000 ppb)長期曝露により、嗅覚系にどのような影響を与えるかを形態学的に解析するものである。嗅覚系は、嗅上皮から嗅球さらに高次の大脳辺縁系に存在する幾つかの神経核群より構成される(図1,2)。平成13年度までの研究により、嗅覚系の感覚器である嗅上皮では、2000 ppb濃度のもので微絨毛の脱落と言った軽微な障害があるものの機能障害を引き起こすとおもわれる形態変化は認められなかった(図3,4)。一方、嗅球ニューロンの予備的な解析から、嗅球の糸球体に存在する傍糸球体ニューロン(図5)のうち、ドーパミンニューロンの機能亢進を示唆する結果をえた。そこで、平成14年度は、低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の影響を、ドーパミンニューロンを含め嗅球のニューロンで解析した。また、嗅球からさらに高次中枢への影響を明らかにするために、嗅球の大脳辺縁系投射部位である梨状葉および扁桃体におけるニューロンを解析することを開始した。

(3) 研究方法

低濃度ホルムアルデヒド(0,80,400,2000 ppb)を3ヶ月間曝露したマウス(C3H/HeN)(各曝露群5匹)を、組織標本用に固定し、嗅球および大脳辺縁系を含む脳部位を4.0mmの厚さの連続横断切片を作成した。この切片を6グループ(内訳は、(1)ドーパミンニューロンのマーカーであるチロシン水酸化酵素(TH)をもちいた免疫細胞化学、(2)Ca結合タンパク質のうち、Parvalbuminの抗体を用いた免疫細胞化学、(3)Ca結合タンパク質のうち、Calbindinの抗体を用いた免疫細胞化学、(4)Ca結合タンパク質のうち、Calretininの抗体を用いた免疫細胞化学、(5)Nissl染色、(6)保存用)に分け、解析をおこなった。

平成13年度の標本を用いて、嗅球糸球体のサイズを計測し、シナプスの可塑性の解析をおこなった。

(4) 嗅球ニューロンの解析

1) 嗅球の構造

光学顕微鏡で観察すると主嗅球は他の大脳皮質と同じように層構造を形作っている事がわかる。図5に示すように表層から嗅神経層(ONL)、糸球体層(GL)、外叢状層(EPL)、僧帽細胞層(ML)、内叢状層(IPL)、顆粒細胞層(GRL)とよばれる層により構成されている。嗅球を構成するニューロンは、嗅球から軸索を高次中枢に投射する出力ニューロン(中継ニューロンあるいは

投射ニューロンともよばれる)である僧帽細胞(MC)と房飾細胞、そして嗅球内に限局する介在ニューロンの顆粒細胞(gc)と傍系球体細胞(pgc)がおもなものである(図5)。その他に嗅球を構成する神経要素としては、嗅球に入力する線維である。代表は、嗅上皮に存在してにおいを受容する嗅細胞の軸索である嗅神経(ON)で、ほかには、高次中枢からの入力線維がある。これらの神経要素が組織的に構成され、6層構造が形成される。

嗅神経は嗅上皮の基底膜を通過した後、束となり篩板を貫いて嗅球に入り、主嗅球の表層を表面に平行に走行し、次第に束がほぐれてお互い混ざり込む。嗅球表層で嗅神経により構成される部位を嗅神経層と呼ぶ。嗅神経は束がほぐれた後、糸球体に入り枝分かれして糸球の形となる。また糸球体はまわりを小型の傍系球体細胞(直径6-8 μ m)で取り巻かれて、ユニットを形成している。このことから糸球体という名前がついた。嗅神経終末は糸球体内の他の神経要素とシナプスを形成する(図11)。糸球体の中には、僧帽細胞、房飾細胞および傍系球体細胞の樹状突起が存在し、それぞれが嗅神経終末とシナプスを形成している。傍系球体細胞は伝達物質としてGABAをもっており、中継ニューロンの興奮を抑制する機能を持つ。このように、糸球体は嗅神経からのにおい情報に関して、最初に情報処理をする部位である。糸球体の数はネズミでおおよそ1700・2000個といわれている。これらが、主嗅球に同心円状にほぼ一列に並んでいる

2)ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅球ニューロンの免疫細胞化学による解析

TH陽性(ドーパミン)ニューロン

糸球体を取り囲む傍系球体ニューロンの一部はドーパミンを共存させている。(THはドーパミン合成酵素群の律速酵素である)。ドーパミンの存在意義はいまだ不明であるが、GABAの抑制機能を修飾していると推測されてる。たとえば、嗅上皮を破壊したりあるいは鼻腔をふさぐなどして嗅神経の活動を抑制すると、TH量あるいはTH陽性細胞が減少することが知られている。したがって、嗅神経の活動をモニターするには、大変有効である。

そこで、TH抗体により免疫染色し、染色された細胞数を計測した(図6,7)。嗅球糸球体はほぼ一定の大きさと同心円状に並んでいる。嗅球背側のTH陽性ニューロンを1糸球体あたりの数で示した結果が図8である。0ppb群に比べて80,400,2000ppb曝露群で有為にTH陽性細胞が増加している。これは、曝露の結果THの合成が高まり免疫的に染色された細胞数が増加した結果と考えられる。THはドーパミン合成酵素である、したがって、ドーパミンの含有量も増加していると推測される。

Ca結合タンパク質含有ニューロン

Ca結合タンパク質はニューロンに存在し、Caの輸送あるいは細胞内のCaバッファーとしての役割を持つと言われている。また、脳内に広く特異的に分布するので、ニューロンのマーカーとしても用いられている。嗅覚系のニューロンでは、GABAニューロンと共存し、活動依存的にその発現が変化する事が報告されている。おそらく、ニューロンの活動を抑制的に調節する役割を持つものと考えられる。したがって、嗅覚系のニューロンの活動をモニターするのに有効であると考え、免疫細胞化学的に解析した。

Calbindin陽性ニューロンは糸球体および外叢状層に存在する。それぞれを計測した結果、ホ

ホルムアルデヒド曝露による影響は認められなかった(図9)。Parvalbumin 陽性ニューロンは外叢状層に存在する。このニューロンを計測した結果、曝露群で増加する傾向が認められた(図10)。

この結果、嗅球に存在する Ca 結合タンパク質含有ニューロンも、ホルムアルデヒド曝露の影響を受けている事があきらかになった。

3)ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅球系球体シナプスの電子顕微鏡による解析

平成13年度にサンプリングしたマウス嗅球をもちいて、嗅球のシナプスへのホルムアルデヒド長期曝露の影響を解析した。曝露0ppbおよび2000ppbのマウス嗅球の系球体に存在する嗅神経終末と嗅球2次ニューロンとの間に形成されるシナプスの後膜肥厚の長さを計測した(図11)。この結果、2000ppb曝露群のシナプスが小さくなっていることが明らかになった(図12)。

一般的に、活動依存的にシナプスのサイズは大きくなることが知られている。したがって、今回の結果、曝露群でシナプスが小さくなっていた説明は難しいが、一つは、刺激がくり返されることにより、シナプスの数を増やすことによりサイズを増大することと同じ効果を得ている可能性がある。いずれにしても、さらなる解析が必要である。

4)まとめ

嗅球のドーパミンニューロンおよびCa結合タンパク質含有ニューロンが低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の影響を受け、その細胞内発現量を増加させている事が明らかになった。これらのニューロンは、GABAと共存していることから、抑制的に働いている。したがって、嗅球における抑制機構が高まっていると考えられる。持続的な曝露によるホルムアルデヒドの刺激を抑制する機構が働いている可能性を示唆するものである(図13)。

(5)大脳辺縁系ニューロンの解析

1)大脳辺縁系

大脳辺縁系は大脳を中心である大脳新皮質の縁を構成する部位の総称である。主なものは、海馬、梨状葉、扁桃体などである。このうち、嗅球から投射するものは、梨状葉、扁桃体である(図14)。そこで、これらの部位のホルムアルデヒド長期曝露の影響を解析することを開始した。

2)Ca結合タンパク質Parvalbumin陽性ニューロンの解析

Ca結合タンパク質のうちparvalbuminの免疫細胞化学法により、曝露の影響を解析した。扁桃体内嗅球から投射する部位は扁桃体皮質核である。そこで、扁桃体皮質核と梨状葉皮質で、Parvalbumin陽性ニューロンの数を計測した。表に単位面積当たりの陽性ニューロン数を各マウスごとに、±(細胞数が0・5)、+(6・10)、++(11・15)、+++ (16以上)の標記で示してある(図15)。扁桃体皮質核および梨状葉ともに曝露された個体で、Parvalbumin陽性ニューロンの数が増加する傾向を示す。ホルムアルデヒド曝露の影響が認められる。

3) Ca 結合タンパク質 Calbindin 陽性ニューロンの解析

Ca 結合タンパク質のうち Calbindin の免疫細胞化学法により、曝露の影響を解析した。扁桃皮質核と梨状葉皮質で、陽性ニューロンの数を計測した。表に単位面積当たりの陽性ニューロン数を各マウスごとに、± (細胞数が 0・10)、+(11・20)、++(21・30)、+++ (31以上) の標記で示してある (図16)。扁桃皮質核では、わずかに曝露された個体で、陽性ニューロンの数が増加する傾向を示すが、梨状葉では差は認められなかった。

4) まとめ

Ca 結合タンパク質陽性ニューロンの免疫細胞化学的解析により、ホルムアルデヒド長期曝露の影響が、大脳辺縁系とくに扁桃体に影響を及ぼしている可能性が明らかになった。扁桃体は、本能行動、特に摂食や情動に強く関わっている。また、視床下部との神経連絡も密であることから、自律機能や内分泌機能への影響も考えられる。今後、詳細な解析が必要とされる。

(6) 考察

ホルムアルデヒドの低濃度長期曝露により、嗅球のドーパミンニューロンおよび外叢状層の GABA 抑制ニューロンの一部が曝露群で増加している結果を得た。これは、持続的に刺激が嗅球に入力するため、これを抑制する必要から、これら抑制性嗅球ニューロンの活動が高まり免疫陽性ニューロン数が増加したものと推測される。これらニューロンの活動の増強が動物の脳にどのような影響を与えているか推測の域を出ないが、少なくとも嗅球においては、ホルムアルデヒドの持続的な刺激を抑制機能により解除するような脳内メカニズムが働いていると思われる。

扁桃体におけるホルムアルデヒド曝露の影響を Ca^{2+} 結合タンパク質の抗体を用いて、解析した。その結果、扁桃皮質核の Parvalbumin 陽性ニューロンが曝露群で多くなる傾向が認められた。扁桃体の Parvalbumin 陽性ニューロンは GABA ニューロンであるとの報告がある。したがって、扁桃体においても、ホルムアルデヒド曝露により GABA ニューロンの活動が高まっていることが示唆される。(図17)。

低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露は嗅覚系に影響を及ぼしていることが明らかになった。特に、扁桃体のニューロンに作用している可能性が高くなった。扁桃体ニューロンの役割はほとんど明らかになっていないが、扁桃体が情動に関わっていることは明らかである。あくまでも、推測であるが、ホルムアルデヒドによる扁桃体ニューロンへの作用がさらにストレスとして働いている可能性もある。今後は、行動学的研究を併用しながら、今回明らかになった形態学的変化の機能的意味を明らかにすることにより、化学物質の嗅覚系に対する作用を明らかにし、化学物質 嗅覚系 (嗅上皮—嗅球—大脳辺縁系 (扁桃体)) 視床下部 ストレスの発現という経路を明確にすることが可能となる。

(7) Abstract

Effect of prolonged low-level formaldehyde exposure on the olfactory system

Multiple chemical sensitivity (MCS) is a controversial disorder characterized by multi-organ symptoms in response to low-level chemical exposure. Formaldehyde is one of the more problematic chemicals. To determine the role of brain function in induction of MCS, we study morphologically the effect of prolonged low-level formaldehyde on the olfactory system. The olfactory system consists of olfactory epithelium, olfactory bulb, limbic system. Morphological analysis of olfactory system has been examined in mice after long-term (3 months) exposure of low-levels (0, 80, 400 and 2000 ppb) formaldehyde. The influence of the exposure was analyzed using immunocytochemistry and electron microscopy. Electron microscopic observation showed that the olfactory epithelium has not so much severe damage. Immunoreactivity of olfactory marker protein, a specific marker for olfactory cells, suggested that projection of olfactory epithelium to the olfactory bulb was normal even in 2000 ppb exposed group. These finding indicated that the olfactory epithelium of exposed animals has normal functions. Tyrosine hydroxylase (TH) immunoreactive dopamine neurons in the olfactory bulb of exposed group were more numerous than in those of control group. These results indicated that low-level formaldehyde may affects on neuronal function in the olfactory bulb. Furthermore, immunoreactivity of Ca binding proteins (parvalbumin, calbindine) showed that the cortical amygdaloid nucleus has more numerous Ca binding protein-immunopositive neurons in exposed animals than in control ones. The present study has revealed that the olfactory system has effects of prolonged low-level formaldehyde exposure. It is necessary to examine on the olfactory function by use of physiological or behavioral technique.

嗅覚系

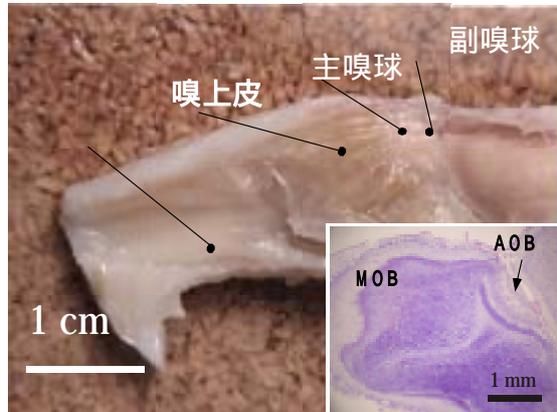


図 1

嗅覚系神経路

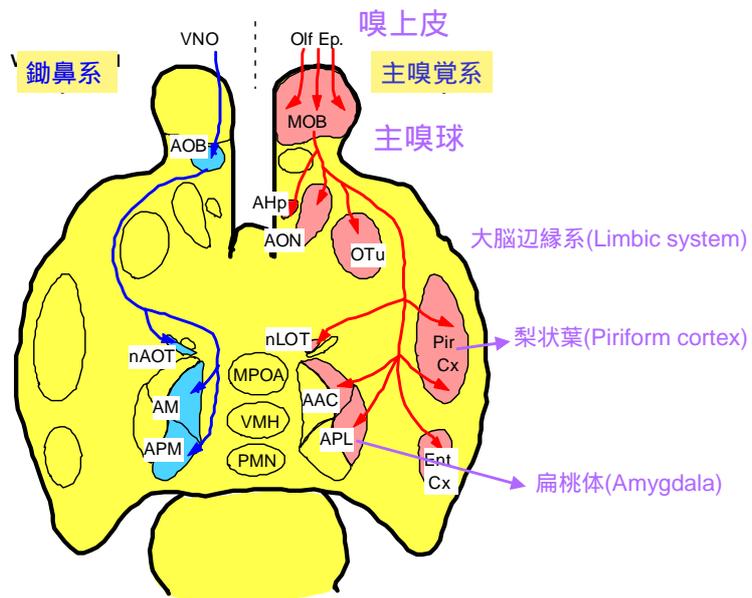


図 2

図 1 鼻腔の解剖図および嗅球の組織図(右下図)

嗅覚系の匂い受容器の嗅上皮と嗅球(主嗅球: MOB、および副嗅球: AOB)を示す。

図 2 嗅覚系神経路の概念図 右に主嗅覚系(一般の匂いに関わる神経路、通常嗅覚系と呼ぶ)。嗅上皮(olf Ep)、主嗅球(MOB)、大脳辺縁系(梨状葉、扁桃体)などから構成される。嗅上皮の受容細胞である嗅ニューロンは主嗅球に投射し、主嗅球の2次ニューロンは大脳辺縁系の様々な神経核に投射する。その代表は、梨状葉および扁桃体である。

ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅上皮 OMP (olfactory marker protein)

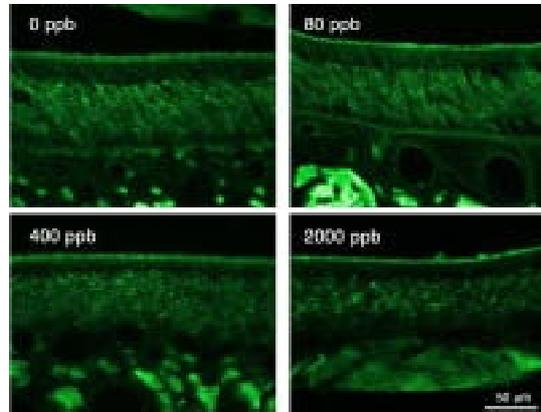


図 3

ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅上皮 電子顕微鏡像

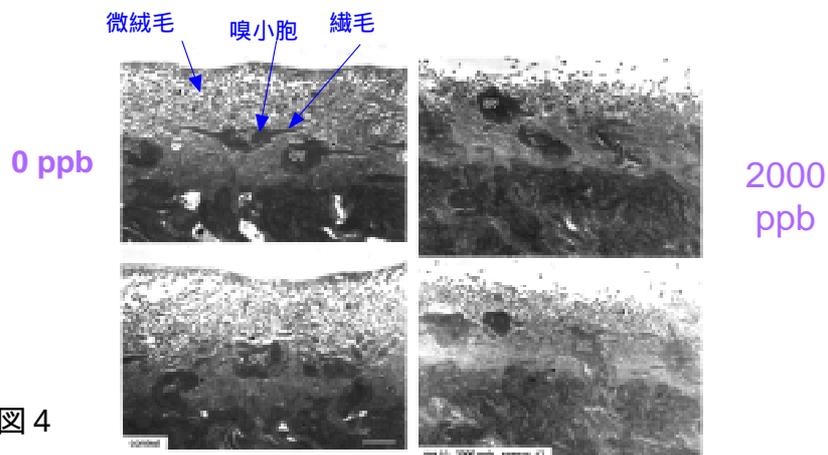


図 4

図3 ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅上皮を olfactory marker protein(OMP)で免疫染色した標本。OMPは嗅ニューロンのマーカーとして用いられる。OMPの染色性に各群(0, 80, 400, 2000 ppb)で差は認められなかった。嗅ニューロンの変性、脱落は認められない。

図4 ホルムアルデヒド長期曝露マウスの嗅上皮の電子顕微鏡像 0 ppb群(左図)に比べて2000 ppb群(右図)では、嗅上皮の支持細胞の微絨毛に多少の脱落が見られるものの、おおきな変化は認められない。曝露による直接の傷害は無いと推測できる。

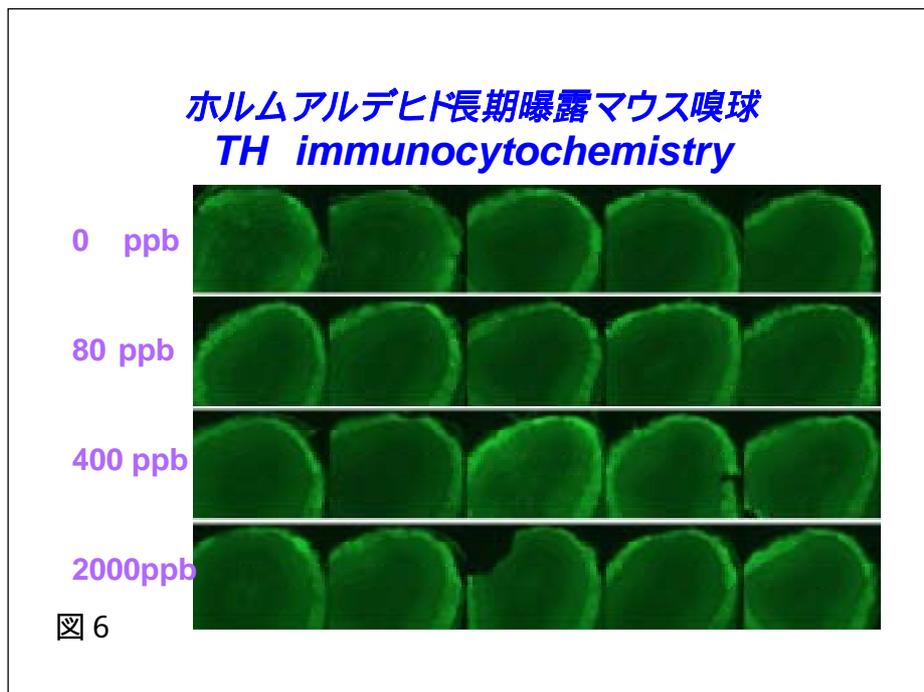
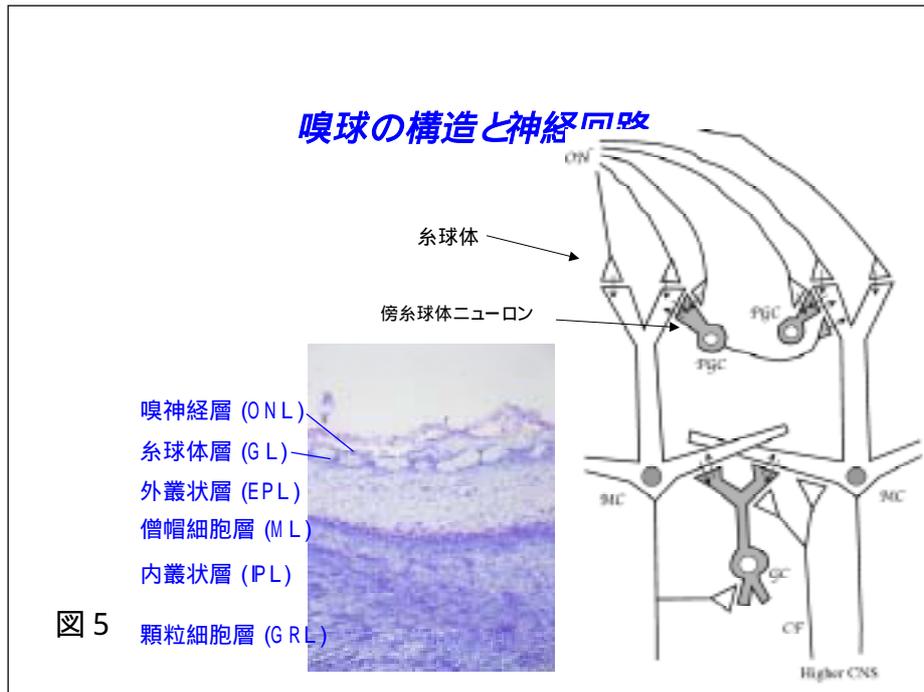


図 5 嗅球の構造と神経回路 主嗅球は神経層、系球体層、外叢状層、僧帽細胞層、内叢状層、および顆粒細胞層の6層から構成されている(左図)。ニューロンはおもに僧帽細胞(MC),傍系球体細胞(PGC)および顆粒細胞(GC)存在し、比較的簡単な神経回路を構成する(右図)。小型はシナプスおよびその方向性をしめす。僧帽細胞と傍系球体細胞および顆粒細胞との間には相反シナプスが形成される。ON: 嗅ニューロンの軸索、CF: 大脳辺縁系からのニューロンの投射線維。

図 6 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球のチロシン水酸化酵素(TH)の免疫細胞化学(Immunocytochemistry)像。各曝露群のそれぞれ5個体のマウス嗅球を示す。この倍率の観察では、差は認められない。

ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球 TH immunocytochemistry

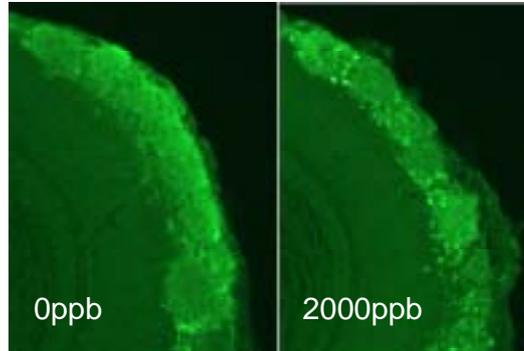


図 7

系球体全体の染色性と傍系球体ニューロンの数は一致しない
定量的解析が必要

ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球 TH Immunocytochemistry

TH陽性ニューロン数の
増加
↓
ドーパミン・GABA
ニューロンの活動増強
↓
抑制機能の強化

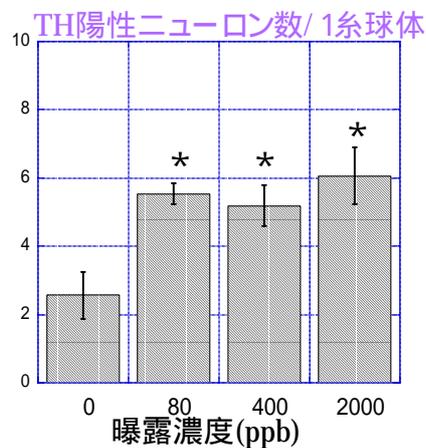
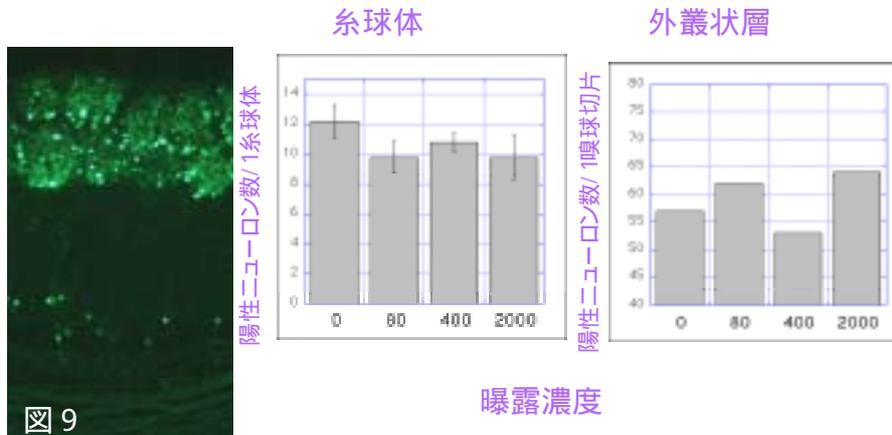


図 8

図 7 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球のチロシン水酸化酵素 (TH) の免疫細胞化学 (Immunocytochemistry) 高倍拡大像。0 ppb (左図) に比べて、2000ppb (右図) の嗅球で傍系球体細胞 (小型の明るく見える細胞) が多く観察される。

図 8 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球のチロシン水酸化酵素 (TH) 陽性ニューロンの定量的解析。TH 陽性ニューロンを計測し、系球体あたりで表示した。0ppb に比べて曝露群 (80, 400, 2000 ppb) で有意に増加していた。TH 陽性ニューロンの増加は神経伝達物質であるドーパミンやGABAの活動の高まりの反映と考えられる。すなわち、これら伝達物質は抑制性機能をもつことから、嗅球での抑制機能が高まっていると考えられる。

ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球
Ca 結合タンパク質 Calbindin



ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球
Ca 結合タンパク質 Parvalbumin

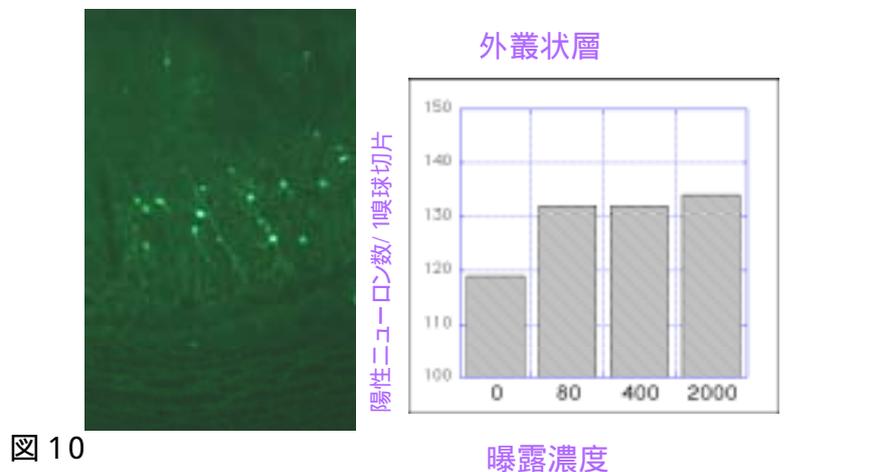
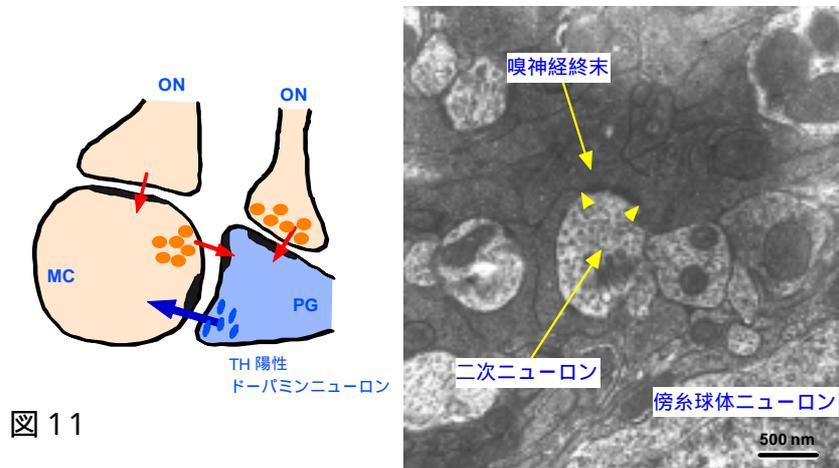


図9 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球の Calbindin 免疫細胞化学の解析 Calbindin 陽性細胞の量は各曝露群で差がなかった。曝露の影響を受けないことを示している。

図10 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球の Parvalbumin 免疫細胞化学の解析 Parvalbumin は曝露群で増加の傾向を示しているが、統計学的に有意な差は認められなかった。

低濃度ホルムアルデヒドに長期曝露されたマウス嗅球のシナプスは変化するのか？



低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の嗅球系球体シナプスへの影響

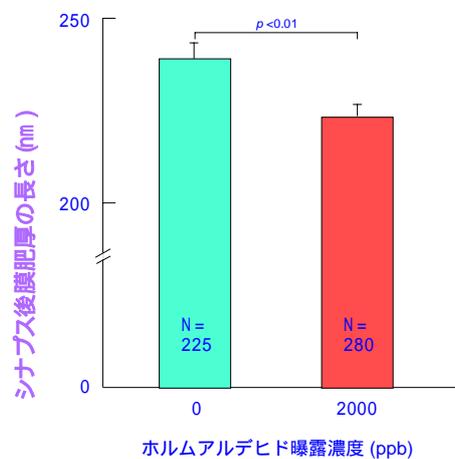
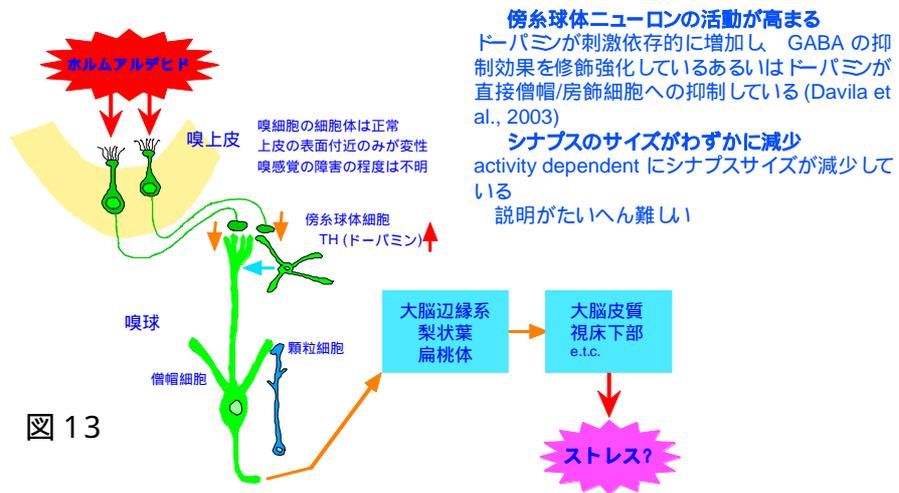


図 11 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球系球体のシナプスサイズの解析 嗅ニューロンの軸索(ON)は系球体でシナプスを形成する(左図: がシナプスを示す。)。右図は電子顕微鏡像。矢頭で示されるシナプス後膜肥厚のサイズを計測した。結果は図 12 に示す。

図 12 ホルムアルデヒド長期曝露マウス嗅球系球体のシナプスサイズの解析 曝露群(2000ppb)でシナプスのサイズが有意に小さくなっている。

嗅球ニューロンは、低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露の影響を受ける



大脳辺縁系

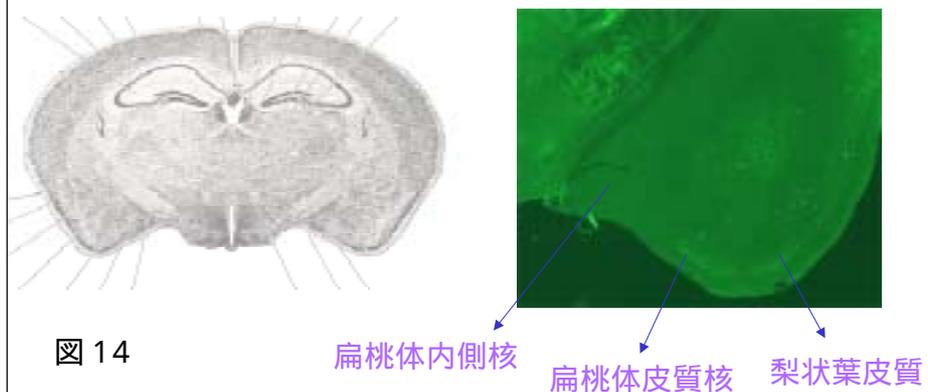


図 13 ホルムアルデヒド長期曝露のマウス嗅球への影響 嗅球のドーパミンニューロンおよび Ca 結合タンパク質含有ニューロンが低濃度ホルムアルデヒド長期曝露の影響を受け、その細胞内発現量を増加させている事が明らかになった。これらのニューロンは、GABA と共存していることから、抑制的に働いている。したがって、嗅球における抑制機構が高まっていると考えられる。持続的な曝露によるホルムアルデヒドの刺激を抑制する機構が働いている可能性を示唆するものである。

図 14 マウス脳の横断面切片 (左図) および大脳辺縁系 (右図)

ホルムアルデヒド長期曝露マウス大脳辺縁系 Parvalbumin

マウス 曝露濃度 扁桃体皮質核 梨状葉皮質

Mouse	ppb	CAH(Thal #1)	CAH(Thal #2)	PF(Thal #1)	PF(Thal #2)
93	0				
94	0	+	++	++	++
95	0	++	±	++	++
96	0	±		++	
97	0	++	++	+	++
98	50	++	++	+	++
99	50	+++	+++	+++	++
100	50	++	+++	+	++
101	50	+++	+++	+++	+++
102	50				
103	400	+++		+++	
104	400	+++	++	+++	+++
105	400	+++	+++	+++	+++
107	400	+++	+++	+++	+++
108	2000		+++		++
109	2000	+++		+++	
110	2000	++	+++	+++	+++
111	2000	+++	++	+++	+++
112	2000	++	+++	+++	+++

免疫陽性細胞数/
20x10³ μm²
± (0-5)
+ (6-10)
++ (11-15)
+++ (16<)

図 15

ホルムアルデヒド長期曝露マウス 扁桃体Calbindin

マウス 曝露濃度 扁桃体皮質核 梨状葉皮質

Mouse		CAH(Thal)	CAH(PF)	PF(Thal)	PF(PF)
93	0				
94	0	+		+	
95	0	+	±	+	+
96	0		++		+
97	0		++		++
98	50	++	+++	++	+
99	50	++	++	+	+
100	50	++	+++	+	++
101	50		+++		++
102	50				
103	400	+++		+	
104	400	++	++	++	+
105	400				
106	400	++	++	++	++
107	400	++	+++	+	++
108	2000	++	+++	++	±
109	2000	+++	++	+	++
110	2000	++	++	++	+
111	2000		+++		++
112	2000	+++		+	

免疫陽性細胞数/
20x10³ μm²
± (0-10)
+ (11-20)
++ (21-30)
+++ (31<)

図 16

図 15 ホルムアルデヒド長期曝露のマウス大脳辺縁系（扁桃体皮質核および梨状葉）の Parvalbumin の免疫細胞化学による解析 各曝露群のマウス（# 93・# 112）における Parvalbumin 免疫陽性細胞数を計測した。単位面積（20 × 10³ μm²）当たり陽性細胞数を ±（0・5）、+（6・10）、++（11・15）、+++（16<）で示した。扁桃体皮質核および梨状葉で曝露群の陽性細胞数が増加している。両神経核で曝露の影響を受けていることを示唆する。

図 16 ホルムアルデヒド長期曝露のマウス大脳辺縁系（扁桃体皮質核および梨状葉）の calbindin の免疫細胞化学による解析 各曝露群のマウス（# 93・# 112）における Calbindin 免疫陽性細胞数を計測した。単位面積（20 × 10³ μm²）当たり陽性細胞数を ±（0・10）、+（11・20）、++（21・30）、+++（31<）で示した。扁桃体皮質核で曝露群の陽性細胞数が増加する傾向にある。

大脳辺縁系ニューロンは、低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露の影響を受ける

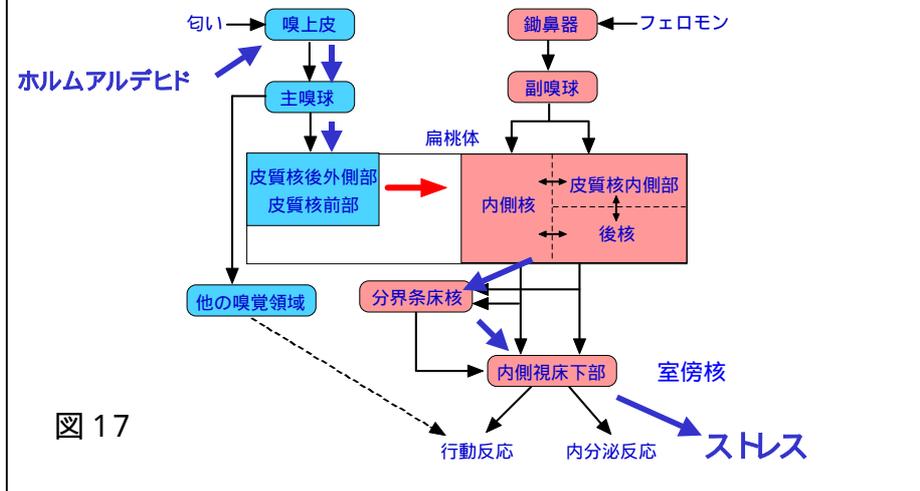


図 17

図17 ホルムアルデヒド長期曝露によるマウス嗅覚系への影響 低濃度ホルムアルデヒドの長期曝露は嗅覚系に影響を及ぼしていることが明らかになった。特に、扁桃体のニューロンに作用している可能性が高くなった。扁桃体ニューロンの役割はほとんど明らかになっていないが、扁桃体が情動に関わっていることは明らかである。あくまでも、推測であるが、ホルムアルデヒドによる扁桃体ニューロンへの作用がさらにストレスとして働いている可能性もある。今後は、行動学的研究を併用しながら、今回明らかになった形態学的変化の機能的意味を明らかにすることにより、化学物質の嗅覚系に対する作用を明らかにし、化学物質 嗅覚系（嗅上皮—嗅球—大脳辺縁系（扁桃体）） 視床下部 ストレスの発現という経路を明確にすることが可能となる。