

5. ホルムアルデヒド曝露後の自発運動量の観察、およびホルムアルデヒドあるいはトルエン吸入曝露によるマウスのくしゃみ様症状の定量

研究協力者 櫻田尚樹、笛田由紀子、嵐谷奎一（産業医科大学産業保健学部）

（1）研究目的

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、アンビュ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と3ヶ月曝露終了時の中枢刺激薬による感受性亢進の有無について検討した。

また、ホルムアルデヒド曝露により、濃度依存的にくしゃみ様症状の増加が観察されたので、この症状がホルムアルデヒド特異的な現象なのかトルエン曝露群との比較から検討した。くしゃみの機序の解明を目指してホルムアルデヒド曝露終了後にカプサイシンを点鼻してくしゃみの誘導の差異を比較した。

（2）研究方法

1. 移所運動活性の測定：曝露開始1ヶ月、2ヶ月の時点で無刺激の自発運動活性を、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、それぞれ群大式アンビュロメーターを用いて測定した。なお、測定は明期の午前10時頃から午後4時頃までの時間に行った。アンビュロメーターはマウスを入れるバケツ型の容器の底の中心に釘を立て、中のマウスが移動することでバケツが傾くのをマイクロスイッチで検知して数値化する簡単な構造で、動物の自発運動活性のうち移所運動活性を評価する機器である。

2. くしゃみの定量法：2ヶ月、および3ヶ月曝露終了時点において、各マウスを一匹用個別ケージに入れ、15分間目視にてくしゃみをカウントした。

さらに3ヶ月曝露終了時点の観察においては、無髄神経線維であるC線維よりサブスタンスPやタキキニンなどの神経ペプチドを放出し咳嗽刺激を引き起こすことが知られておりカプサイシンを10mM, 10 μ lを点鼻し、点鼻10分後から15分間のくしゃみの誘導の差異を観察した。

（3）研究結果

1. 移所運動活性：図1に曝露1ヶ月時点における、測定器にセットされた時点から最初の1時間の移所運動活性を示す。各群間に相違は認めなかった。

同様に図2には曝露2ヶ月時点での移所運動活性を示す。最初の1時間の合計カウントは、分散分析の結果、群間において差違を認め、2000ppbだけがコントロール群より有意に高いカウント数を示した。図3に3ヶ月曝露終了時点での移所運動活性の変化を示す。今回はマウスを測定機器に入れて最初の30分間の順応時間をおいた後に、bupropion (10mg/kg) を皮下投与し引き続き1時間の行動量の変化を観察した。その結果、最初の30分間の順応期間中の

自発運動活性は先の2ヶ月時点と同様に2000ppb群において高い値を示した。bupropion 刺激後はいずれの群も運動量の増加を認めたが、その経時変化はいずれの群でも同様であった。図4にbupropion 刺激後1時間のカウント合計を示しているが、多重比較検定の結果、2000ppb群のみが0ppbコントロール群より高値を示した。またルームコントロールにおいたマウスは0ppbコントロール群とほぼ同様の反応を示しとくに相違を認めなかった。

2. くしゃみの変化：

1) **ホルムアルデヒド曝露**：曝露2ヶ月時でのC3H/HeNマウスのくしゃみの回数を図5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6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。加えてOVAの感作により、非感作群に比べ有意な増加を認めた(平成13年度)。これらの結果は、平成14年度においても図7に示すように繰り返し同様に観察された。一方、淡白抗原であるOVAで免疫した群と異なり、ホルムアルデヒド曝露開始の前にトルエンの前曝露を500ppm、昼間に6時間、連続3日間吸入曝露で実施した群においては、ホルムアルデヒド曝露単独群と相違を認めなかった(図8：平成14年度)。

2) **トルエン曝露**：トルエン単独50ppm12週間曝露時のくしゃみの回数を図9にホルムアルデヒド2000ppb群と一緒に示す。2000ppbホルムアルデヒド曝露群は他の4群いずれに対しても有意なくしゃみの増加を認めた。しかし、ホルムアルデヒド曝露群をのぞいた4群間に関しては、群間に差を認めなかった。すなわちトルエン曝露はマウスにくしゃみを誘発することはなかった。

3) **カプサイシン点鼻の影響**：OVAで免疫感作した群においては、これまでの観察同様にホルムアルデヒド曝露によるくしゃみの誘発が増幅されている傾向が示された。これらマウスに、ごく微量のカプサイシンを点鼻したところ、無処置コントロールマウスでは有意なくしゃみの誘発が引き起こされたが、ホルムアルデヒド曝露群、およびOVA感作群ではくしゃみの有意な増加は認めなかった(図10)。

(4) 考察

昨年度までの観察で、ホルムアルデヒド曝露により比較的鋭敏に観察される指標としてくしゃみが見出されたが、今年度の観察でも再現性よく観察された。一方、12週間曝露実験を行ったトルエンによつては50ppmとホルムアルデヒドに比較しては高い濃度においてもくしゃみの誘発は観察されず、化学物質による特異性が見出された。

ホルムアルデヒドにより誘発されるくしゃみは、その後のカプサイシン刺激では増幅されなかった。このことは、2000ppbという比較的low濃度のホルムアルデヒドの長期的な曝露が、C線維に対する刺激として働き、その結果サブスタンスPなどの分泌が促されくしゃみを誘発しているが、さらにカプサイシン刺激を加えてもコントロール状態と異なりC線維よりのさらなる神経ペプチドの分泌を促すことがなかったものと考えられる。

図 1 最初の60分間のカウント合計(曝露1ヶ月)

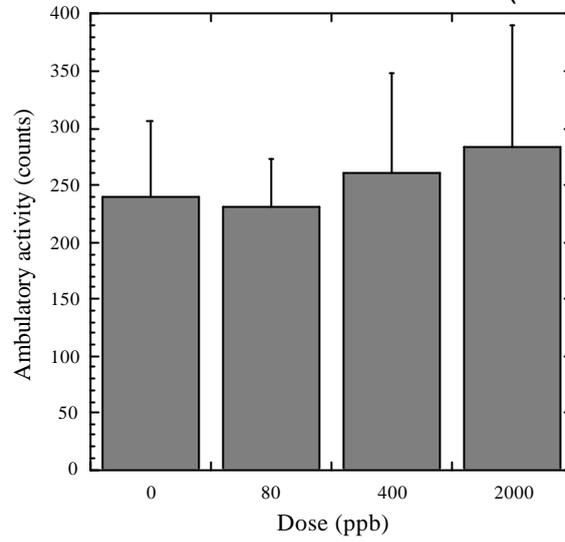


図 2 最初の60分間のカウント合計(曝露2ヶ月)

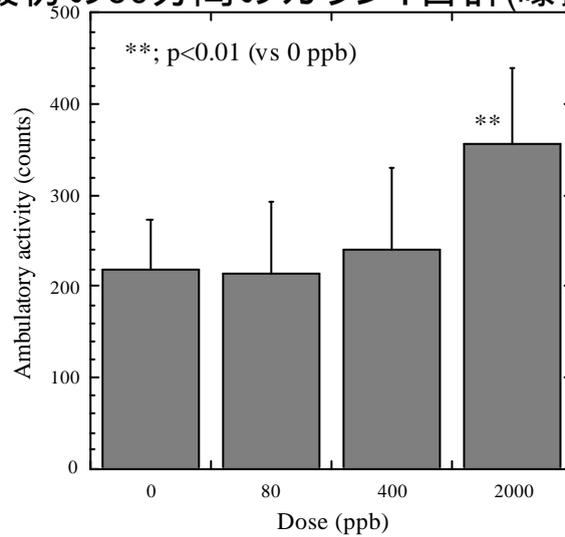


図 3 Bupropion投与前30分間のカウント合計

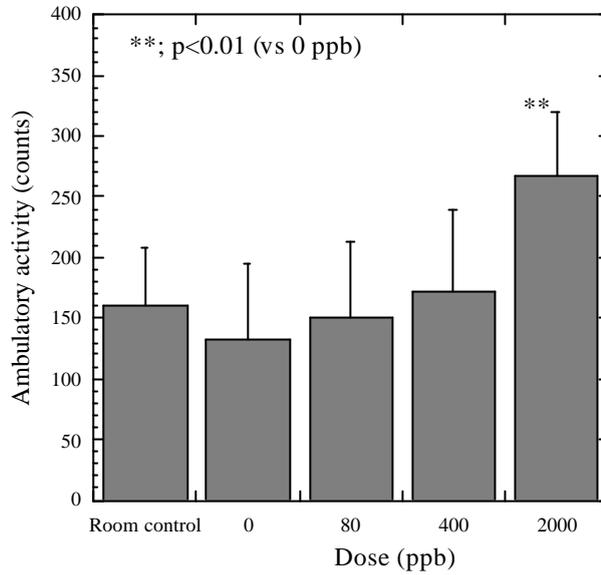


図 4 Bupropion投与後40分間のカウント合計

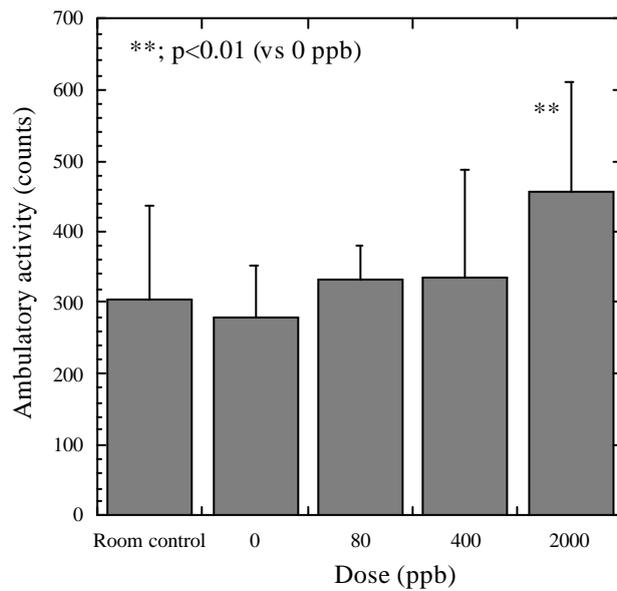


図5 曝露2ヶ月時点でのくしゃみ回数

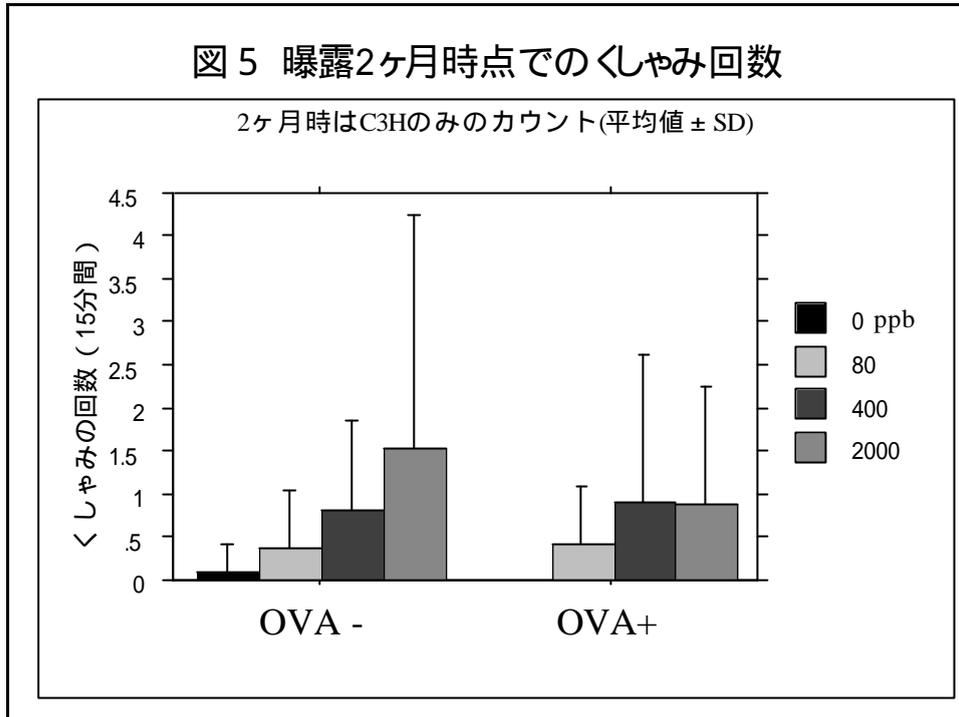


図6 曝露終了時点でのくしゃみの回数

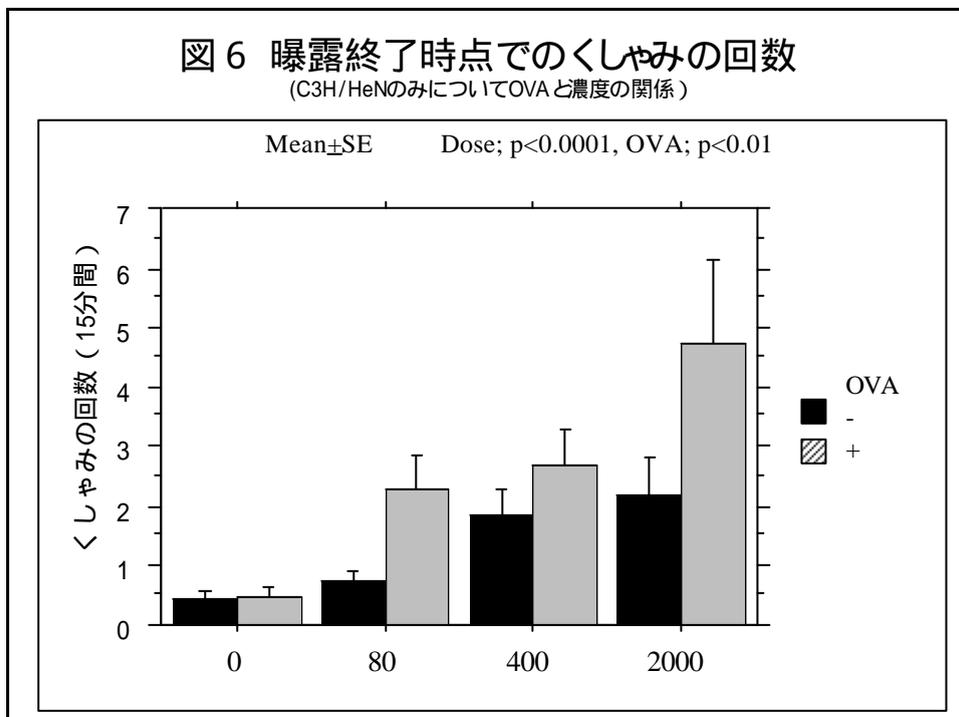


図7 OVA感作処理マウスの曝露終了時点でのくしゃみの回数

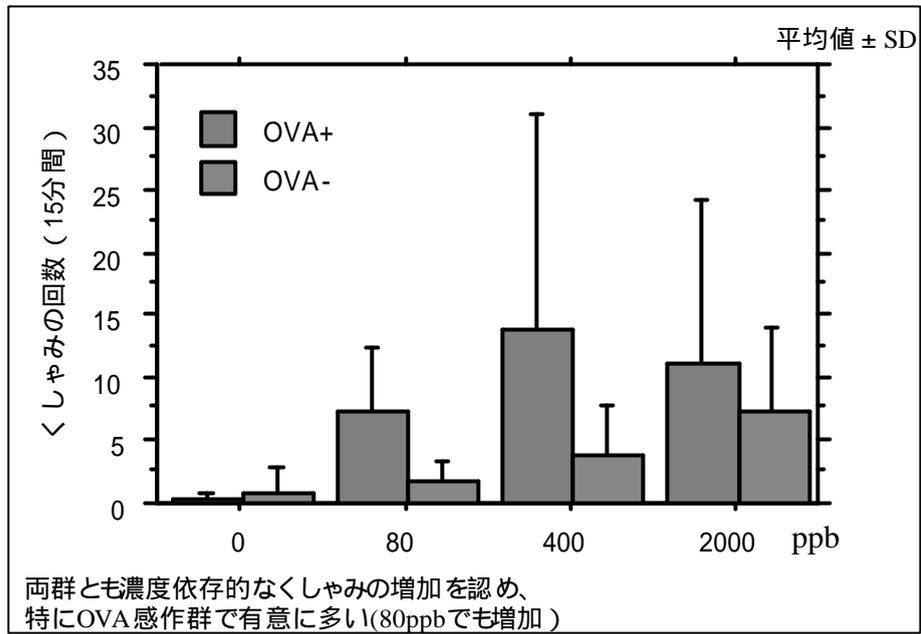


図8 トルエン前処理マウスの曝露終了時点でのくしゃみの回数

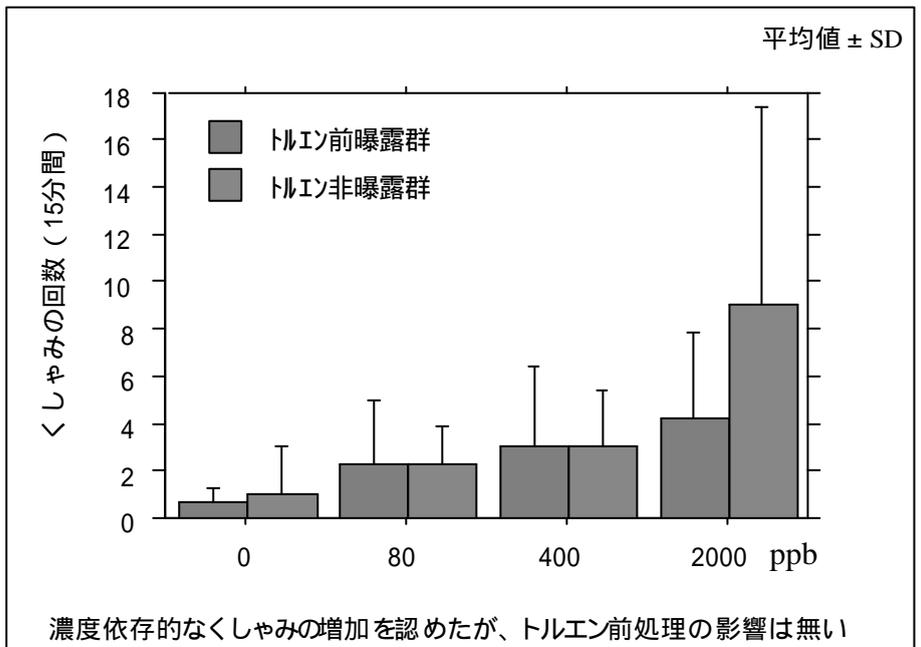


図9 くしゃみ (トルエン)

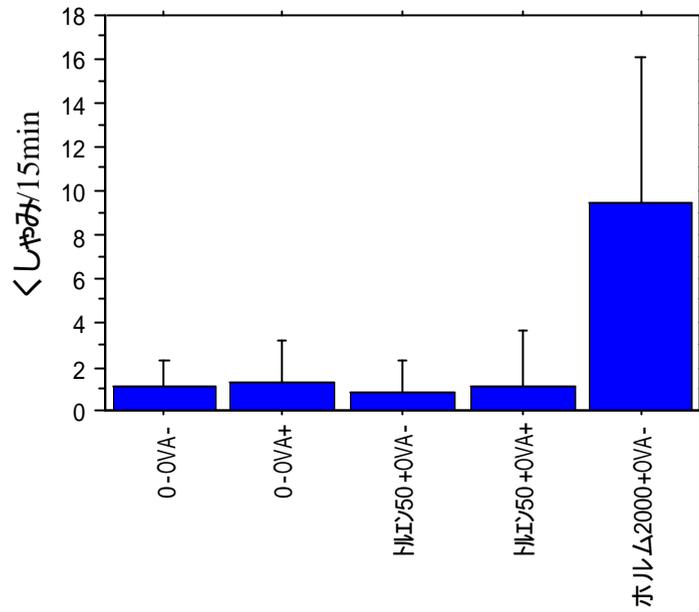


図10 カプサイシン点鼻によるくしゃみの影響

