

# オゾン曝露の血清中酵素への影響

鈴木 孝人 遠藤 立一 長岡 滋

## 1 研究目的

オゾンおよび二酸化窒素の中毒学的攻撃点は Mueller<sup>1)</sup> によれば肺臓のみでなく、肺以外の臓器や血液さらに感覚器その他にも及んでいるが、その作用のメカニズムとして Buckley<sup>2)</sup> らはモルモットに二酸化窒素を曝露して各臓器中の aldolase, lactic dehydrogenase 活性を測定し、その活性値を対照群と比較したところ、肺のみでなく、他の臓器においても酵素活性変動が起こることから、二酸化窒素曝露によって生じた有害な surculating substance の存在の可能性を報告している。

酵素反応は生物体内におけるコントロールを行なうために非常に鋭敏に作用するので、生体内の臓器等に、もしオゾン曝露によって生じた surculating substance によるダメージが生じたとき、機能的変化、構造的変化または病理的变化が起こる前に、この酵素活性の変動が起こると考えられるので、オゾン等の大気汚染物質による傷害に対する sensitive indicator となると思われる。ゆえに、オゾン曝露によってどの程度血液中酵素活性値に影響を与えるかを検討することを目的とした。

## 2 実験方法

実験動物として SD-SLC 系ラットの 10 週令の両性を使用した。雄 (n=35, 平均体重400±25g), 雌(n=39, 平均体重241±23g)。曝露は温度25±2°C, 湿度40~60% にコントロールした清浄室内で、曝露チャンパー (約1×1×1 m) の中にラットを入れ、2分間に約1回の換気速度で清浄空気およびオゾン (5±0.2ppm) をそれぞれ3時間曝露した。オゾンは空気を原料として放電方式のオゾン製造機で生成した。清浄空気希釈した曝露オゾン濃度はエチレンケミルミネッセンス方式の機器によって実験中連続測定した。採血は無麻酔下で真空採血管 (抗凝固剤を含まぬもの) を用い、心臓穿刺法によって行なった。血液は採血後ただちに遠心機にかけ、回転速度 3000rpm/min で10分間遠心し血清と血球を分離した。血清はただちにアンプルに封入し、酵素活性の測定を行なうまで液体窒素中に保存した。

酵素活性はオリンパス ACA (ディスクリット U字管システム, Air Bubble 方式, 干渉フィルター測定方式) を用いて自動測定した。また測定項目・測定方法等は表1に示した。

病理学的検討は、剖検により採取した臓器を中性ホルマリン10%液で固定の後パラフィン包埋、HE染色を

表1 酵素活性測定法

測定項目	測定方法	反応条件	波長	試薬
GOT	Reitman-Frankel 法	24分 40°C	520m $\mu$	トランスアミナーゼワコー
GPT	Reitman-Frankel 法	24分 40°C	520m $\mu$	トランスアミナーゼワコー
ALP	Kind-King 法	24分 40°C	500m $\mu$	ALP-K テストワコー
LDH	Cabaud & Wróblewski 法	24分 40°C	500m $\mu$	LDH-B テストワコー

(注) 1 GOT: glutamic oxalacetic transaminase の略号

GPT: glutamic pyruvic tansaminase の略号

ALP: alkali phosphatase の略号

LDH: lactic dehydrogenase の略号

(注) 2 コントロール血清は下記の試薬を使用した。

GOT, GPT……Hyland (normal)

ALP, LDH……Versatol E-N

図1 GOT 活性値(♂) 図2 GOT 活性値(♀) 図3 GPT 活性値(♂) 図4 GPT 活性値(♀) 図5 ALP 活性値(♂)

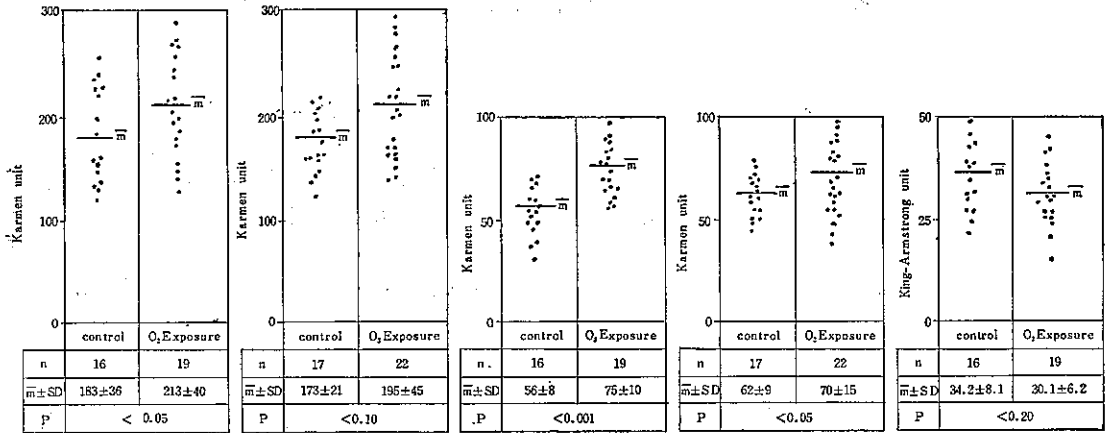
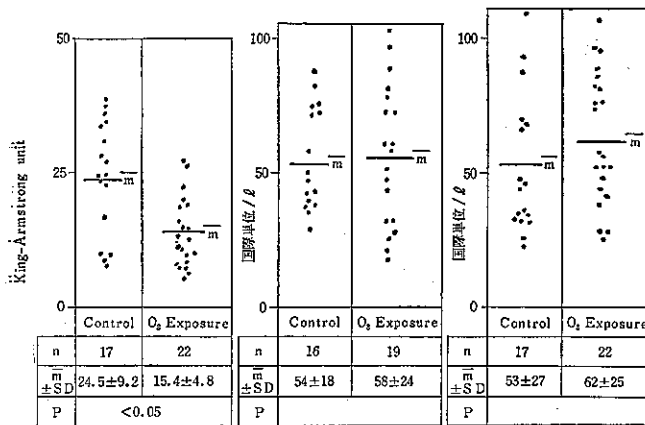


図6 ALP 活性値(♀) 図7 LDH 活性値(♂) 図8 LDH 活性値(♀)



用い、一部臓器についてはPAS、ズダンⅢ染色で鏡検した。

### 3 結果と考察

清浄空気群とオゾン曝露群の各酵素活性の測定結果は図1～8に示した。GOT(図1, 2)とGPT(図3, 4)の酵素活性は雌雄ともオゾン曝露群の活性上昇がみられた。ALP(図5, 6)の酵素活性は雌雄ともオゾン曝露群の活性低下がみられ、LDH(図7, 8)は雌雄とも活性値に差がみられなかった。

オゾン曝露ラット3匹の共通所見としては、(1)肝 肝細胞の空胞化3/3例、(2) 心筋の限局したロウ様変性1/3例、(3)腎 細尿管上皮の変性、腔内への血清様物の滲

出、うっ血、(4)脾 巨細胞の増加、(5)肺 限局性の散発性肺上皮の剥離脱落3/3例が認められた。また各臓器とくに呼吸器においては血管周囲結合組織に膨化が認められ、RES系の活性化も認められたが、胸腺は著変が認められなかった。

少数例であるので断言はできないが、オゾンは呼吸器末梢に変化を及ぼすのみでなく、理由は不明であるが、主要臓器に影響を及ぼしていると考えられる。

血清中の酵素活性は細胞内に比較してきわめて低く、血清中酵素の生理的意義は細胞中

で産出された酵素の輸送形とは考えられてははず、むしろ排泄または分解される過程の一つとして血清酵素の存在が説明されている。一般に臓器内における酵素量は血液中の数千倍の濃度に達する。このことから疾患時、障害時における血清中の酵素の増量は細胞内酵素の反映であることが想像される。

血清中の酵素は各臓器等由来のアイソザイムを含んでいる。例えばGOTは肝、心筋、骨格筋、腎、赤血球等に豊富であり、GPTは肝に非常に多量に含まれている。上記の病理的所見からオゾン曝露群には肝、腎の膜透過性亢進がみられ、図1～4に示したようにそれら臓器からの遊離によって活性値の上昇が生じたものと考えられる。または、大森ら<sup>3)</sup>はオゾンの赤血球系に対する

影響を検討しているが、ラットにオゾン (10ppm, 3時間) 曝露したとき、溶血の増加がみられると報告していることから考えて、赤血球中の GOT, GPT の量は血清中の GOT, GPT に比べ5~10倍量含まれているため、軽度の溶血によって活性値の上昇が生じたとも考えられる。ALPは肝疾患や骨疾患等によって活性上昇がみられる。本実験でも活性上昇が予想されたが、逆に低下している。またオゾン曝露したマウス (雌, オゾン3ppm,<sup>4)</sup> 3時間曝露) の血清ALP活性の低下を報告しているし、Scheel<sup>5)</sup> もウサギ (オゾン10ppm, 1時間曝露) で血清ALPの活性低下を報告している。彼等はオゾン曝露することによる膜透過性亢進によって活性低下が生じたと推定している。

大気汚染物質による血清酵素活性に及ぼす影響を調べる上で、アイソザイム別の酵素活性の変化を検討すれ

ば、大気汚染物質による全体的影響の程度を知ることができると思われる。

#### 参 考 文 献

- 1) Mueller, P. K. et al. J. Air Poll. Cont. Assoc. Vol. 19, No. 9, 670~676, 1969
- 2) Buckley, R. D. and Balchum, O. J. Arch. Environ, Health, Vol. 14, 687~692, 1967
- 3) 大森 薫他:大気汚染研究 Vol. 8, No. 3, 422, 1973
- 4) 楠本繁子他:大気汚染研究 Vol. 7, No. 2, 197, 1972
- 5) Scheel, L. D. et al. J. Appl. Physiol, Vol. 14, 67~80, 1958