

大気汚染と鼻副鼻腔

—O₃ 曝露の家兎鼻副鼻腔に及ぼす影響について、その病理組織学的研究—

池松 武臣 中沢 幸明 遠藤 立一
長岡 滋 齋藤 英雄 梅村 慎一郎
(日本大学医学部) (日本大学歯学部)

1 はじめに

大気汚染物質の中でオゾン、硫黄酸化物、窒素酸化物等が人体ならびに諸種動物の呼吸器系に影響を及ぼすことが多くの研究の結果明らかとなってきた。これらガスのうち硫黄酸化物、窒素酸化物が鼻副鼻腔に影響を及ぼしているとの報告はなされているが、オゾンの鼻副鼻腔に及ぼす影響については未だその報告をみない。

鼻副鼻腔は既知のごとく呼吸の門戸であり、塵芥や微生物を含む汚染空気がまず最初に接触するところである。呼吸する上で重要な位置にある鼻副鼻腔が、大気汚染の一つの指標とされている O₃ にいかの影響を及ぼすか興味ある問題である。O₃ が生体に有害とされる今日、O₃ の生体に対する影響をさらに解明する目的で我々は O₃ 曝露の家兎鼻副鼻腔に及ぼす影響を光顕的・電顕的レベルより追求したので報告する。

2 実験方法

表 1 に示すごとく 3 ヶ月齢 SPF ダッチ家兎および 3 ヶ月齢、12 ヶ月齢 ダッチ家兎を使用した。SPF 家兎を対照群とし、非 SPF 家兎を対照群と実験群に分けた。さらに実験群を O₃ 曝露後、それぞれ直後、24 時間後、3 日後、7 日後、14 日後の 5 段階に分けた。ただし生後

3 ヶ月齢は 14 日目、生後 12 ヶ月齢は 1 日目を中止した。曝露方法は、空気を原料として放電方式のオゾン製造機にて O₃ を生成し、2 分間に約 1 回の換気速度で清浄空気および O₃ (5 ppm) を発生させた曝露チャンパー内に家兎を入れ、3 時間曝露した。曝露後それぞれの段階でネブタール麻酔を行い、股動脈切開にて放血殺したのち、断頭後一部は鼻粘膜を損傷することなく剝離し、ただちに走査型・透過型電顕用に分け固定した。試料は、走査型電顕では pH 7 リン酸緩衝液で洗浄し、2.5% グルタルアルデヒド液に入れ、再び pH 7 リン酸緩衝液にて洗浄後、1% オスミウム酸にて固定した。固定後 pH 7 リン酸緩衝液にて洗浄後、十分脱水を行い、酢酸イソアミルにて再固定した。固定終了後走査電顕用日立 HCP-1 臨界点乾燥装置にて試料を乾燥させ、真空蒸着装置 (日立 HUS-4) にて蒸着を行い、日立 HHS-2 R 型走査電顕にて観察した。

次に透過型電顕では、まず 2.5% グルタルアルデヒド液に固定し、0.1M リン酸緩衝液にて洗浄後、1% オスミウム酸で固定を行い、エチルアルコール、無水エタノールにて十分脱水し、カプセル重合後日立製 Ultra-Microtome MT2-B にて薄切したのち、2 重染色を行い、日立 HU-12A 型透過型電顕にて観察した。その他

表 1

飼育家兎		対照群	O ₃ 5ppm 曝露直後	O ₃ 5ppm 24時間後	O ₃ 5ppm 3日後	O ₃ 5ppm 7日後	O ₃ 5ppm 14日後
		生後 3 ヶ月家兎 15 羽 平均体重 1.7kg	($\begin{smallmatrix} 3 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 1 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 3 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 1 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 3 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 1 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 3 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 1 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 3 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 1 \end{smallmatrix}$)
生後 12 ヶ月家兎 20 羽 平均体重 3.3kg	($\begin{smallmatrix} 4 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 2 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 4 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 2 \end{smallmatrix}$)	—	($\begin{smallmatrix} 4 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 2 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 4 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 2 \end{smallmatrix}$)	($\begin{smallmatrix} 4 \\ \uparrow 2 \\ \downarrow 2 \end{smallmatrix}$)	
SPF 家兎	生後 3 ヶ月 5 羽 平均体重 2.0kg	($\begin{smallmatrix} 5 \\ \uparrow 3 \\ \downarrow 2 \end{smallmatrix}$)	—	—	—	—	—

の検体は光顕にて検鏡するため10%中性ホルマリン液固定後、トリクロール酢酸にて脱灰を行い、パラフィン包埋後マイクロームにて4~6μに薄切、HE, PAS染色して検鏡した。

3 実験成績

対照群, 実験群の組織学的所見は次のとおりである。まずSPF対照群では鼻腔膿汁はほとんど認められず, 上皮層, 基底膜においても変化なく, 呼吸部上皮下に

表2 対照群, 病理所見

動物		鼻腔膿汁	上皮層			基底膜変性	上皮下層			細胞浸潤			血管		腺組織	
			線毛脱落	上皮剥離	増殖		充血	浮腫	腺分泌亢進	リンパ球	プラズマ	白血球	拡張	充血	増殖	萎縮
SPF 生後3カ月家兎	1	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	±	-	-
	2	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
	3	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	±	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	-	±	-	-
	5	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	+	-	-
生後3カ月家兎	1	±	+	+	-	±	±	-	±	±	+	-	±	-	±	-
	2	±	+	±	-	-	±	-	±	-	+	-	±	-	±	+
	3	±	-	-	-	-	+	-	±	-	±	-	+	-	+	-
生後12カ月家兎	1	#	+	+	+	+	+	±	±	-	-	±	+	±	+	-
	2	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	±	±	-	-
	3	±	-	-	-	±	±	-	-	±	-	-	+	±	-	-
	4	±	-	±	-	+	+	-	±	-	-	-	+	±	+	-

変化のないもの(-), 極軽度の変化(±), 軽度の変化(+), 中等度の変化(±±), 強度の変化(±±±),

表3 O₃ 5 ppm 3時間曝露群病理所見

動物		鼻腔 膿汁	上皮層			基底 膜変性	上皮下層			細胞浸潤			血管		腺組織		
			線毛 脱落	上皮 剥離	増殖		充 血	浮 腫	腺分泌 充進	リンパ 球	プラズ マ	白血 球	拡 張	充 血	増 殖	萎 縮	
生後3ヵ月家兎 曝露後	直後	1	+	+	+	-	+	±	-	-	-	-	-	±	-	-	
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	±	+	-	-	-	±	±	-	-	-	-	-	+	-	-
	1日目	1	+	±	+	-	+	±	-	±	-	-	-	+	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	-	-
		3	-	+	+	-	±	+	-	-	-	-	+	±	+	-	-
	3日目	1	±	+	-	+	±	-	+	±	-	-	±	+	±	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	+	±	±	±	±	±	-	-	-	-	±	+	+	-	-
	7日目	1	±	+	-	-	±	±	±	±	-	-	-	±	±	±	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	+	±	+	-	±	-	-	±	-	+	±	±	±	+	-
生後12ヵ月家兎 曝露後	直後	1	±	±	+	+	±	±	-	-	-	-	±	±	-	-	
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		3	±	-	±	±	+	±	-	-	-	-	±	+	-	-	
		4	±	±	-	±	±	±	+	-	-	-	-	-	-	±	-
	3日目	1	-	±	+	-	±	±	±	+	+	±	-	±	±	-	-

表3 (つづき)

動物		鼻腔 膿汁	上皮層			基底 膜変性	上皮下層			細胞浸潤			血管		腺組織		
			線毛 脱落	上皮 剝離	増 殖		充 血	浮 腫	亢 進 腺 分泌	リン パ 球	プ ラ ズ マ	白 血 球	拡 張	充 血	増 殖	萎 縮	
生後12ヵ月家兔 曝露後	3 日 目	2	+	卅	+	-	-	-	+	+	卅	-	-	-	-	-	
		3	+	卅	±	-	±	卅	-	+	±	卅	-	±	+	-	
		4	±	+	+	-	+	卅	±	-	-	-	±	±	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7 日 目	1	卅	-	-	卅	-	+	+	-	+	+	卅	±	+	-	-
		2	-	-	-	+	-	±	±	-	±	±	卅	-	-	-	-
		3	±	卅	-	+	+	±	-	-	±	±	±	-	-	±	-
		4	+	卅	-	-	卅	+	+	±	-	-	-	±	±	±	-
	14 日 目	1	+	-	-	-	-	+	-	-	±	+	+	-	-	-	-
		2	+	+	-	-	-	-	-	+	卅	+	卅	±	±	±	-
		3	卅	-	-	-	-	+	±	-	-	-	-	±	-	-	-
		4	卅	-	-	-	±	-	±	+	±	-	±	+	-	-	-

いて2例に極軽度の充血がみられるほかは細胞浸潤もなく、腺組織にも著変は認められなかった。次に非SPF対照群では、やはりばらつきが目立ち、鼻腔膿汁は極軽度であるが、7例（生後3ヵ月齢3例，生後12ヵ月齢4例）中4例に、また上皮下層において充血をきたしていたものがやはり極軽度ではあるが7例中4例にみられたが、これらを一応正常像と定めた(表2)。

O₃ 曝露群

直後所見としては、鼻腔膿汁が7例中2例に中等度認められるほかは対照群と大差なく、上皮層において線毛脱落が7例中2例に認められた。また上皮下層では中等度の充血をきたした所見が7例中3例にみられた。

曝露後1日目と3日目の所見はほぼ同じで呼吸部上皮層の線毛脱落が軽度認められたもの7例中2例、強度認められたもの7例中2例であった。上皮下では軽度の充血、細胞浸潤をきたしていたものが7例中3例にみられた。

曝露後7日目では7例中4例に中等度の白血球浸潤がみられ、血管拡張および充血が7例中2例に起っていた。

曝露後14日目所見は、鼻腔膿汁が4例中2例に軽度認められるも、上皮層、基底膜は対照群と同様な所見であり、ただ上皮下層に軽度の白血球浸潤をきたしていたものが4例中3例にみられた(表3)。

以上各群の鼻腔呼吸部の上皮層、上皮下の変化、細胞浸潤の強さを比較してみると、上皮層では曝露直後より

図1 鼻腔呼吸部上皮層の比較

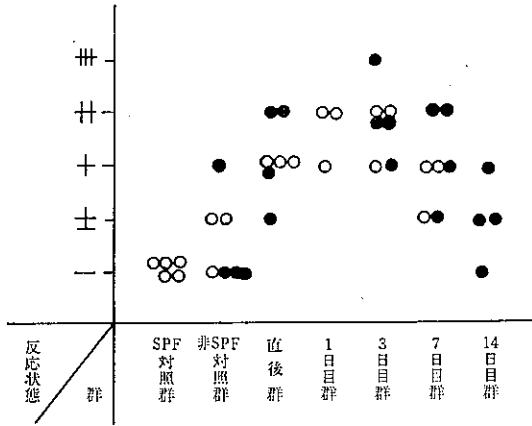


図2 鼻腔呼吸部上皮下層の比較

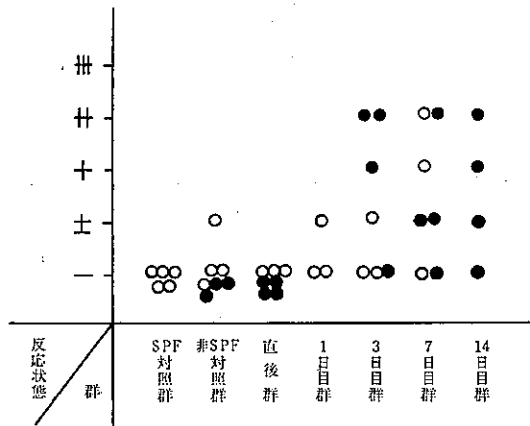


図3 鼻腔呼吸部細胞浸潤の比較

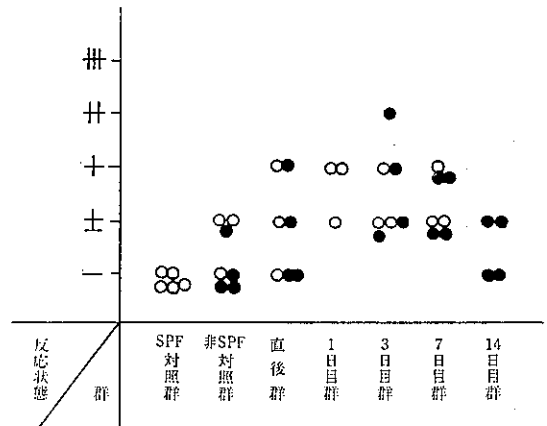
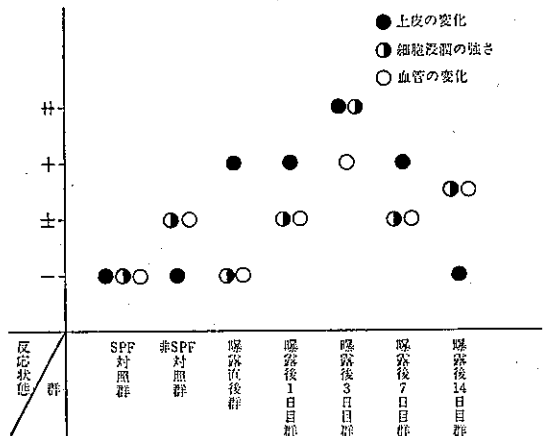


図4 各群の組織所見の比較



変化が現われ、3日目をピークとして7日頃まで反応が続き、以後下降する傾向にある(図1)。

上皮下においては、曝露後3日目に軽度の変化を起し、漸次弱まっていく傾向にある(図2)。

細胞浸潤は3日目まで著変なく、3日目以後7日目まで軽度の出現を呈している(図3)。

これをまとめると、曝露後1日目で軽度な変化を、3日目で刺激反応を思わせる中等度の変化を示し、この変化の状態は以後7日目、14日目と変化は弱まり、あたかも回復期のような像を呈していた(図4)。

4 まとめ

O。曝露群は対照群に比して、鼻腔膿汁については量の差はあるが多量認められ、上皮層では主に呼吸部粘膜に線毛脱落、上皮剝離等の著変を認め、上皮下では軽度

の細胞浸潤を呈し、血管の変化では拡張および充血がみられ、それらはいずれも急性炎症所見であった。以上は中隔呼吸部、鼻腔甲介の所見について述べてきたが、嗅部、上顎洞粘膜には著変なく、対照群と大差なかった。

オゾン曝露家兎鼻腔は、曝露される以前より何らかの炎症を呈していたが、曝露後特に呼吸部粘膜に反応性変化を起していることからオゾンによる影響と考えるのが妥当と思われるが、オゾンというガス体が circulating substance を起す点、オゾン濃度の点、飼育環境等に問題があるので、さらに実験を加え検討を重ねていく方針である。また今後は、低濃度の長期間または間歇的曝露による実験を行い、大気汚染と上気道との関係を、より現在の大気中の環境条件に近づけた形で究明していくことが重要と思われる。

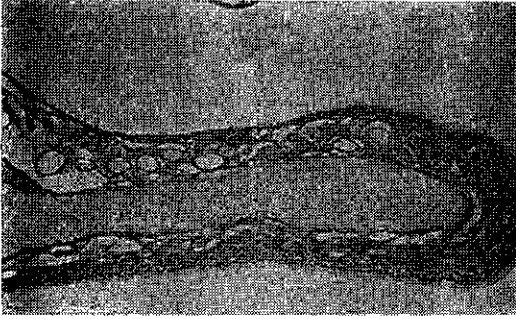


写真 1 家兎鼻甲介 (SPF 家兎) 対照群 $\times 6.3$
HE 染色

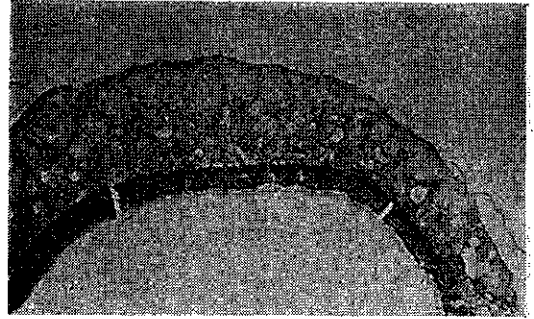


写真 5 密集した膜部神経線維, 曝露後 7 日目
 $\times 16$ HE 染色



写真 2 鼻甲介 (非 SPF 家兎) 対照群 $\times 16$
HE 染色

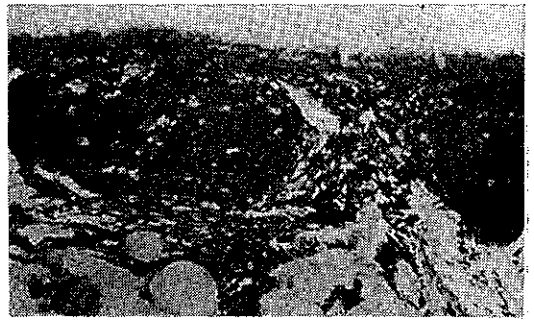


写真 6 鼻中隔底部細胞浸潤 曝露後 7 日目
 $\times 16$ HE 染色



写真 3 鼻甲介の細胞浸潤及び膿性粘液付着
曝露直後 $\times 16$ HE 染色

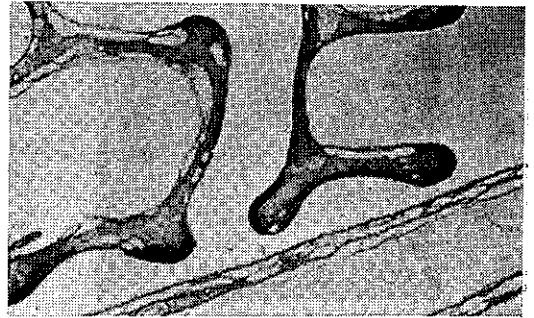


写真 7 上顎洞粘膜と鼻中隔粘膜, 細胞浸潤
曝露後 14 日目 $\times 6.3$ HE 染色

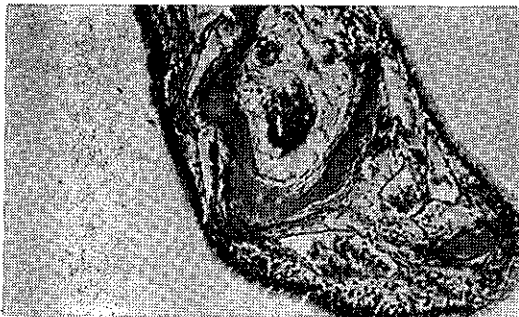


写真 4 鼻甲介充血 曝露後 24 時間目 $\times 16$
HE 染色

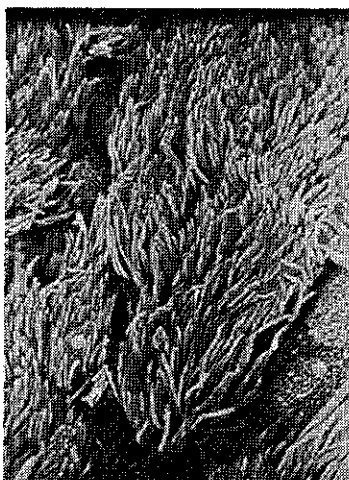


写真 8 鼻中隔呼吸部繊毛 (SPF 家兎) 対照群 走査型電顕 $\times 2,000$



写真10 鼻中隔呼吸部繊毛上皮 (SPF 家兎) 対照群 透過型電顕 $\times 1,500$

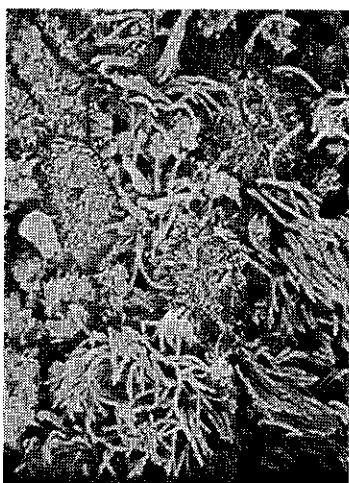


写真 9 鼻中隔呼吸部繊毛の離開脱落 曝露後 24時間目 走査型電顕 $\times 2,000$

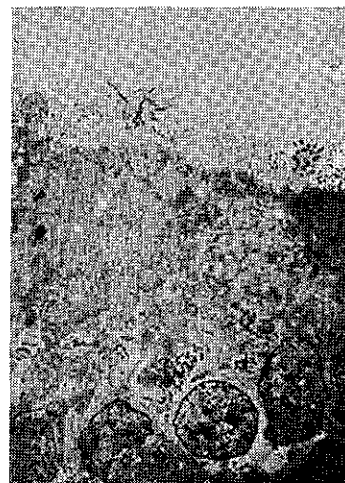


写真11 鼻中隔呼吸部繊毛上皮繊毛の乱れ, 離開脱落 曝露後24時間目 透過型電顕 $\times 1,000$