

報 告

NO₂, SO₂混合暴露による有害性の検討
— 家兎のNO₂ 0.06ppm, SO₂ 0.04ppm 混合暴露実験 —

大 山 謙 一 川 井 利 雄 大 野 正 彦
(水質保全部)
宮 垣 融 川 原 浩 小 松 遵 至
(東海大学)
渡 辺 慶 一
(東海大学)

1 はじめに

低濃度大気汚染物質の生体影響を解明するために、62, 63年度、二酸化窒素 (NO₂)、二酸化硫黄 (SO₂) の混合暴露の研究を行ってきた。今回は、実験条件を都市域の実態に近づける目的で暴露濃度をさらに下げて実験を行った。

2 実験の方法

(1) 暴露物質及び暴露条件

暴露物質は、NO₂、SO₂であり、濃度はNO₂ 0.06 ppm, SO₂ 0.04ppmであった。暴露濃度の調整は、NO₂, SO₂それぞれ単独に濃度設定を行い、その後、設定量を混合してチャンバー内に導入した。使用した暴露装置は、1981年年報¹⁾で報告したものと同様である。

(2) 供試動物及び暴露期間 (表1参照)

前報²⁾と同様に行った。

(3) 検討の方法と採材臓器

前報²⁾と同様である。

(4) そ の 他

上記実験を補足するために、NO₂ 0.5ppm, SO₂ 0.3ppm, O₃ 0.3ppmの混合暴露実験をラット (ウイスター, 7週齢, 雄, SPF)を用いて行った。各群5匹ずつ, 24時間, または72時間暴露を行い, それぞれ暴

露直後群, 回復期間を24時間, 1週間おいた群, 及び対照群を設けて実験を行った (表2参照)。これら各群について光学顕微鏡, 電子顕微鏡による形態学的及び免疫細胞化学的検討を行った。

3 病理学的検討

(1) 検討の方法

家兎については, 光学顕微鏡, 電子顕微鏡 (走査型: SEM, 透過型: TEM) を用いての, 組織形態学的観察及び家兎とラットについて, 過酸化脂質を直接分解する酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Po), 細胞骨格成分であるマイクロチュブルを対象とした免疫組織化学による観察を行った。

(2) 検討材料

各暴露期間終了後 (ただし, ラットについては, 暴露後一定期間の終了後), 家兎については, 全身各臓器を, ラットは, 呼吸器系上皮のみを対象に病変の検討を行った。

(3) 結 果

ア 形態学的検討

家兎の全臓器中病変が見出されたのは, 呼吸器系器官 (気管, 気管支, 肺胞) のみであった。そこで, 呼吸器系器官の変化のみを記載する。

表1 家兎暴露期間及び動物数

	暴 露 期 間						計
	3日	1週	1カ月	3カ月	6カ月	1カ年	
暴露群	6	6	6	6	6	6	36
対照群	6	6	6	6	6	6	36
計	12	12	12	12	12	12	72

表2 ラット暴露期間及び動物数

暴露期間	24時間			72時間			計
	なし	24時間	1週間	なし	24時間	1週間	
暴露群	5	5	5	5	5	5	30
対照群	5	5	5	5	5	5	30
計	30			30			60

(ア) 光学顕微鏡による観察

軽微な変化はあるが、その変化は、暴露群、対照群ともに認められ、両群間の差異は見出しえなかった。

(イ) 電子顕微鏡による観察

TEMでは、3日、1週暴露群から全例ではないが、終末細気管支上皮細胞の線毛の短小化、脱落、無線毛細胞化、細胞頂部の膨隆、クララ細胞化が軽度ではあるが見られた。

SEMにおいては、暴露3日、1週群で気管上皮細胞の線毛の短小化が散見され、この変化は、1年暴露群では増強されていた。しかし、高濃度実験に比し、無線毛細胞の挙上(無線毛細胞が、腔内へせり上がるように突出する現象)はかなり軽度であった。細気管支上皮においては、3日、1週、1カ月暴露群で、線毛の短小化、消失が認められた。また、1年暴露群において、クララ細胞の著しい増加と膨隆が観察された。

全般に、線毛の短小化等の軽度な変化が暴露長期群まで残存する傾向が認められた。

イ 免疫組織化学的検討

免疫組織化学による細胞、組織の観察は、呼吸器系上皮(主に、気管、気管支、細気管支、肺胞の各上皮)でのGSH-Poの局在、及びマイクロチュブルの構成成分である α -チュブリンの挙動が、暴露とどのように対応しているかについて光学顕微鏡、電子顕微鏡を併用して行った。

(ア) 家 兎

終末細気管支上皮において、3日暴露群から無線毛のクララ細胞様細胞で α -チュブリンの減少が観察されたが、暴露期間との対応は不明確であった。GSH-Poについては、3日暴露群からクララ細胞様細胞や線毛の脱落したと思われる細胞でその増強が見られたが、暴露期間との対応は不確定なものであった。

肺胞領域においては、I型、II型肺胞上皮細胞、及びこれらの中間型の細胞で3日暴露群より、GSH-Poの増強が見られたが、高濃度暴露時にみられたII型肺胞上皮細胞中のミトコンドリア内の局在は、観察されなかった。

今回の実験では、高濃度時の結果と同様の変化が観察されたが、暴露期間との対応は不明確であり、変化もかなり軽度なものとなっている。

(イ) ラット

24時間暴露群の終末細気管支で、クララ細胞様細胞の頂部に α -チュブリンの免疫染色、及びGSH-Poの免疫染色が認められた。これは、72時間暴露でさらに増強された。高濃度暴露時においては、 α -チュブリンの消失が観察されたが、今回の実験では、消失するまでには至らなかったものと思われる。

肺胞領域では、72時間暴露群のII型肺胞上皮細胞に明確なGSH-Poの増強が認められた。これら一連の変化は、1週間の回復期間をおくとほぼ認められなくなった。

4 生化学的検討

(1) 方法

検討を行った臓器は、血清、肺臓、肝臓で採材部位は、肺臓は左側後葉、肝臓は辺縁部とした。

肺臓、肝臓については、リン酸緩衝液(50mM, pH 7.0)中でホモジナイズした後測定に供した。

検討した項目は、血清、肺臓、肝臓についてTBA法による過酸化脂質量、肺臓、肝臓について過酸化水素を基質とするグルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Po)活性、過酸化クメンを基質とするグルタチオンペルオキシダーゼ(GSH-Po-C)活性、NADPH産生酵素であるグルコース6リン酸デヒドロゲナーゼ(G6PD)活性、マレートデヒドロゲナーゼ(Malic enzyme: ME)活性、及び非タンパク性SH(NPSH)量であり、これらについてそれぞれ測定を行った。

(2) 結果

過酸化脂質量(TBA値)については、血清では対照群と暴露群の差は認められず、肝臓で、3日暴露群でやや低い値を示した。その他の期間、また、肺臓では、ほとんど差は認められなかった。

各防御系酵素の変動を見ると、肝臓で、GSH-Po、GSH-Po-C活性が、1カ月暴露群で対照群に比して、やや低下し、3カ月暴露群で回復するものの、6カ月、1年暴露群で有意($p < 0.01$)に低下した。

また、ME活性で、3日暴露群で対照群の60%程度に活性が低下($p < 0.05$)し、その後、期間を追うごとに回復し、6カ月で対照群と同じレベルとなった。G6PDについては、3カ月でやや低い値をとるものの、ほとんど対照群と同じレベルであった。

肝臓NPSH量は、1カ月暴露群で対照群より有意 ($p < 0.05$) に低い値となったが、他の期間については、対照群と同様の値を示した。

肺臓について、GSH-Po, GSH-Po-Cは、ともに対照群とほとんど同じレベルで推移した。また、ME, G6PDでは、1週暴露群のME活性が低下し、その後対照群と同じレベルに戻るが、1年暴露ではME, G6PDとも有意 ($p < 0.01$) に活性が低下した。

肺臓NPSH量については、各期間とも対照群とほぼ

同じ値を示した。

参考文献

- 1) 遠藤立一他：低濃度O₃暴露による有害性の検討—家兎の0.08ppmオゾン暴露実験第1報—，東京都公害研究所年報，1981. p.245.
- 2) 川井利雄他：NO₂, SO₂混合暴露による有害性の検討，東京都環境科学研究所年報，1990. p.175.