

E. 結論

以上のことから以下のような結論が導くことができると思われる。

フタル酸エステル類の測定は加熱脱着法、フィルター補修法のいずれも測定値に相関性は認められた。しかしながら、空气中フタル酸エステル類には粒子状物質に吸着したものとガス状物質として存在していることがみられ、粒子状物質中フタル酸エステル類は加熱脱着法では測定し難いことがみられた。

(3) TVOC測定装置の開発

分担研究者

松村年郎 国立医薬品食品衛生研究所
環境衛生化学部

A. 研究目的

TVOCと健康影響との関連性を解明する為には、瞬間連続型で、しかも、携帯可能なTVOC計が必要不可欠である。すなわち、SBS患者予備群宅或いはSBS患者宅でTVOC濃度を常時モニターし、症状発症とTVOC濃度との関連性を追究する必要がある。本研究においては、上述のような観点から、水素炎イオン化検出器を原理とした瞬間連続の携帯型自動計測器の開発を行う。

B. 研究方法

TVOC計としては、現在、光イオン化法(PID)、光音響法(PAS)、定電位電解法、熱線半導体法等の計測器が市販されている。しかし、どの計測器も炭素数に比例した応答が得られない欠点がある。一方、水素炎イオン化検出器法は炭素数に比例したイオン化電流が測定できるので、ガスクロマトグラフ等の検出器として汎用されている。本研究においては、この水素炎イオン化検出器を2個使用し、一方の検出器で総炭化水素、他方の検出器でメタンのみを検出し、両者の差からnon-CH₄炭化水素濃度(TVOC)を測定する自動計測器の開発を行う。本計測器について、種々の基礎実験を行うと共に性能評価試験を実施し、実用性を明らかにする。

C. 研究結果

C.1 本計測器の測定原理及び基本設計

本計測器はFIDの検出器2個(THC検出器及びメタン検出器)を備えたダブルバーナー方式を採用したTVOC計で、THC(総炭化水素)とメタンを同時に測定し、THCからメタンを差し引いた残りを

non-CH₄炭化水素(TVOC)として連続測定する計測器である。測定値はトルエン換算値として表示する。但し、1個のバーナーはメタンのみに応答(メタン検出器)し、他の炭化水素には応答しない特殊検出器を使用している。

本計測器は一般の住宅やオフィス内でTVOCを簡単に測定することを念頭に、重量約5kgに押さえ携帯性を持たせた。測定値は瞬間連続とし、平均値(5分、10分、30分、60分)は任意に選択できるようにした。

C.2 メタン検出器の応答感度

通常のFID検出器は、FIDのノズル先端で燃焼している水素炎中に炭化水素類が導入されると、水素炎中で複雑なイオン化を起し、炎の導電性が変化する。炎を挟んで対向した電極を設け、適当な電場をかけると炭化水素濃度及び炭素数に比例した微小電流が得られるので、これをエレクトロメーターで増幅し出力させる原理である。一方、メタン検出器は水素炎の外炎に炭化水素を供給した時、他の炭化水素より難燃性のメタンはイオン化電流として取り出すことができるが、燃焼性の炭化水素は外炎で燃焼され、イオン化電流として取り出すことができない。すなわち、メタン以外の炭化水素類は応答感度が極端に低いことになる。濃度20ppm程度以下の炭化水素類に対する相対感度は平均で11%であった。よって、本検出器はメタン以外の炭化水素類は殆ど検出しないことが確認できた。

C.3 性能評価試験

①繰り返し測定

トルエンの標準ガス(1mg/m³)を5回繰り返し測定を行った時の再現性試験はフルスケール(2mg/m³)の±2%以下であった。

②ゼロドリフト試験

合成空気(N₂ 80%, O₂ 20%)を1時間連続的に測定した時のドリフト試験はフルスケール(2mg/m³)の±3%/hr以下であった。

③スパンドリフト試験

トルエン標準ガス(1mg/m³)を1時間連続的に測定した時のスパンドリフトはフルスケール(2mg/m³)の±2%/hr以下であった。

C.4 本計測器とnon-CH₄計との比較測定

大気汚染関係で使用しているnon-CH₄自動計測器(ガスクロマトグラフ方式、メタンとnon-CH₄の分離方式)と本計測器の比較測定を行った。その結果、両者の測定値には高い相関(R²=0.971)が認められた。

D. 考察

炭化水素類を検出する場合、FID検出器の他に光

イオン検出器、光音響検出器、熱線半導体検出器等が報告されているが、これらの検出器は脂肪族炭化水素に感度が高いもの、或いは芳香族炭化水素に感度が高いもの等、一長一短がある。しかし、FID検出器はCarbon数に比例した応答感度が得られるため、TVOC計としては理想の検出器である。しかし、従来よりFID検出器を用いた場合、小型軽量のTVOC計を開発する場合、検出器、カラムの有無、燃料ガス容器（ボンベ）の問題等、様々な制約があった。今回は、ダブルバーナー方式の採用により、カラム無しでメタンとnon-CH₄の測定が可能であり、かつ、燃料の水素ガスはスプレー缶を使用することにより携帯が可能となり、高圧ガス取り締まり法の適用外となった。また、同様にゼロガス及びスパングスもスプレー缶を採用したことにより、重量約5kgと言う小型で、しかも、瞬間連続型の自動計測器を開発することができた。

本計測器は燃料の水素スプレー缶を常時2本をセットしており、5時間の連続稼働に耐え得る。本計測器によって得られる測定値は、我が国で使用されているnon-CH₄自動計測器（環境基準の標準測定法）と高い相関が認められ、十分その実用性が検証された。

E. 結論

- (1) メタン検出器は、メタン以外の炭化水素に対する応答は約10%程度であった。
- (2) 本計測器はTHC検出器とメタン検出器を使用したことにより、メタンとnon-CH₄の分離にカラムを必要としない、小型で携帯可能なTVOC計を開発することができた。
- (3) 本計測器の測定濃度範囲は0-2, 0-5, 0-10及び0-50mg/m³である。
- (4) ゼロ及びスパンドリフトはフルスケール(2mg/m³)の±3%以下であった。
- (5) 90%応答時間は約30秒以内であった。
- (6) 本計測器の重量は約5kgである。
- (7) 濃度出力は瞬間連続値が常時得られる方式とした。更に、5分、10分、30分、60分平均値がプリントアウト出来る機構とした。
- (8) 本計測器によって得られる測定値は環境基準の標準測定法であるnon-CH₄自動計測器の測定値と高い相関(R²=0.971)が得られた。
- (9) 本計測器を居住環境内に持ち込み、実態調査を行った。その結果、TVOC濃度は470-3700μg/m³の範囲で検出された。
- (10) 上述した結果から、本計測器は十分実用性があると判断された。

VI. 公衆衛生学的立場から見た化学物質過敏症について

分担研究者

内山 巖雄 国立公衆衛生院労働衛生学部

協力研究者

村山 留美子 国立公衆衛生院労働衛生学部

A. 研究目的

公衆衛生学的見地から化学物質過敏症（以下CSと略）への対応を考える場合に、現在どの程度CS様症状を経験した人がいるかについて把握することが必要である。そこで我々はMillerら¹⁾の調査票を石川ら²⁾が翻訳したものに若干の改良を加えて質問票を作成し、全国の20才以上の男女4,000人を対象に面接調査を行い、CS様症状を持つ者の出現頻度を調査した。

B. 研究方法

B.1 調査対象者及び調査期間

全国から層化2段無作為抽出した満20才以上の男女4000人を対象とした。調査は平成12年7月7～10日に行った。

B.2 調査内容及び調査方法

CSの特徴に関する項目はMillerらが作成した「Quick Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI)®」を石川ら²⁾が日本向けに翻訳した質問票を元に作成した。QEESI®はCSのスクリーニングのための調査票としてMillerらによって開発されたものであり、調査票は"Chemical Exposures", "Other Exposures", "Symptoms", "Masking Index", "Impact of Sensitivities"の5項目、各10問から成っている。今回は我々はこれらの全5項目計50問の質問を全て行うことが予算面で不可能であったため、この5問から、1999年にMillerら¹⁾が、カットオフ値を設定することで化学物質に感受性の高い人や対照群となる人を設定しようと報告した、"Chemical Exposures", "Other Exposures", "Symptoms"の3項目（石川らの翻訳版ではそれぞれ「化学物質曝露による反応」、「その他の化学物質曝露による反応」、「症状」）計30問について、石川らが翻訳したものに若干の変更を加えて調査票に使用した。調査結果は3項目の10問それぞれについて0-10の段階で回答してもらい、各項目ごとの合計を0-100のスコアとして算出した。またこの他にCSやシックハウス症候群の診断を受けたことがあるかを質問した。調査は一定の訓練を受けた調査員が調査対象者宅を訪問し、全項目について面接聞き取り調査を行った。調査は社団法人中央調査社に委託し、同社が毎月行

っている個人オムニバスサーベイにて行った。

3) 回収率

回答数は2851で(男性1271 女性1581)であった。回答率は71.3%であった。

C. 研究結果及び考察

C.1 化学物質過敏症やシックハウス症候群の診断の有無

実際にCSと診断されたことがあると回答した人は2851人中28人(0.8%)であり、シックハウス症候群と診断されたことがある人は15人(0.5%)であった。また、このうちCSとシックハウス症候群の両方の診断を受けている人は5人であった。また、アレルギーとの診断を受けたことのある人は17.1%であった。

C.2 CSの特徴に関する項目

①症状

20歳以上の日本人では、0-5のスコアを示した人が55.1%と半数以上を占め、CS様症状を持つ人は多くなかった。また、全くCS様症状がないと回答した人(スコア0)は全体の34.6%であった。

②化学物質曝露による反応

スコアが0-5となった人が63.2%と非常に多く、全体の52.2%と半数以上の人々が化学物質曝露による反応が全くない(スコア0)と回答した。

③その他の化学物質曝露による反応

化学物質曝露による反応と同様に、スコアが0-5である人が全体の78.1%と最も多かった。「全くない」と回答した人(スコア0)は59.5%であった。同質問項目には対象者から質問があった場合に調査者が挙げる参考事例の中にピザやコーラなどのアメリカ的な食が示されており、これらが日本人の生活と相容れず、回答しにくかったことが影響している可能性もある。

IV カットオフ値によるスクリーニング

Millerらは、本調査に用いたSymptoms, Chemical Exposures, Other Exposuresの3項目を用いて、各項目ごとの合計スコアについてそれぞれ、 ≥ 40 , ≥ 40 , ≥ 25 をhigh cutoff point(以下、カットオフ値とする)に設定し、このカットオフ値を満たした人を化学物質に対する感受性の高い群としてスクリーニングし得るとし、実際のMillerらの調査ではコントロール群の6.6%が3つのカットオフ値を、15.8%が2つのカットオフ値を満たしていた¹⁾。これに対して、我々の調査では、この基準の3つを満たしていたのは回答者全体の0.74%であり、2つを満たしていたのは2.1%と、Millerらの調査結果に比較して低くなった。先に述べたように、実際にCSと診断された

人も1%と以下と非常に少ないことを考えると、日本では今のところ化学物質に対して高感受性を持つ人は少ないとも考えられる。ただし、今回のカットオフ値は米国の例であり、日本の患者、あるいは化学物質に対する高感受性をもつ人ではスコアの分布が異なる可能性もあるために、今後日本の患者についての適切なカットオフ値の設定が行われる必要があると考えられる。

D. まとめ

20歳以上の日本人2851人について、Millerらの調査票及び同調査票を石川らが翻訳したものをを用い、CSについての調査を行った。その結果、実際に化学物質過敏症と診断されたことのある人は全体の約0.8%であった。また、Millerらの設定したカットオフ値(Symptom ≥ 40 , Chemical Exposures ≥ 40 , Other Exposures ≥ 25)を満たし、化学物質に対する高感受性を持つと考えら得る人は全体の0.7%であった。ただし、このカットオフ値は米国における調査によるものであり、この値で日本人の高感受性群を適切にスクリーニングしうるかを検討すると共に、日本における適切なカットオフ値の設定を行う必要があると思われる。

E. 参考文献

- 1) Miller C., Prihoda T. The environmental exposure and sensitivity inventory (EESI): a standardized approach for measuring chemical intolerances for research and clinical applications. *Toxicol. Ind. Health* 1999;15(3-4):370-385
- 2) 石川哲, 宮田幹夫 化学物質過敏症—診断基準・診断に必要な検査法—、アレルギー・免疫、1999; 6(7): 34-42

I. 室内空气中化学物質の免疫系に対する 影響評価に関する基礎的研究

1. 室内空气中のトルエン及びリポ多糖 (LPS) が 気道の自律神経系に及ぼす影響に関する基礎研究

愛知学泉大学家政学部
名古屋大学医学部小児科

鳥居 新平
坂本 龍雄

2. ホルムアルデヒド・パラジクロロベンゼン併用による 吸入暴露の毒性学及び免疫学的影響

国立医薬品食品衛生研究所療品部
国立医薬品食品衛生研究所総合評価室

五十嵐良明
鹿庭 正昭
鎌田 栄一

室内空気中のトルエンおよびリポ多糖（LPS）が気道の好酸球性炎症に及ぼす影響

分担研究者 鳥居新平 愛知学泉大学家政学部教授

研究要旨

ホルムアルデヒドが吸入アレルゲンに対する IgE 感作を促進するという報告がある。本研究ではオバアルブミン（OA）で IgE 感作した Brown Norway ラットに OA のブースター吸入を行い、トルエン吸入がブースター効果（OA 特異的 IgE 抗体の産生を増強する効果）に及ぼす影響を検討したが、有意な促進作用を見出すことができなかった。OA のブースター吸入は OA 吸入後の気道への好酸球浸潤を増強させたが、トルエンはこの反応に対しても修飾効果を示さなかった。

リポ多糖体（LPS）はグラム陰性細菌の菌体成分で、マクロファージなどの細胞に作用してサイトカイン等の産生を誘導し、DIC などの病態を引き起こす原因でもある。LPS の吸入は気道への好中球浸潤を惹起することが知られているが、今回、アレルゲン感作したラットに LPS を吸入させ気道内への好酸球浸潤の有無について検討した。Brown Norway 雄性ラットをオバアルブミン（OA）で感作し、2 週間後に LPS（E. coil, 0.1mg/ml）または OA（5mg/ml）を 30 分間吸入した。24 時間後に気管支肺胞洗浄液（BALF）を採取し、BALF 中の総細胞数および細胞分画を測定した。また、OA 非感作ラットに対しても LPS 吸入を行い、BALF 中の総細胞数および細胞分画を測定した。コントロール群と比較して、OA 感作群への LPS 吸入は BALF 中の好酸球数、単核球数のみならず、好酸球数も有意に増加させ、その増加は OA 吸入後のものにほぼ匹敵した。一方、OA 非感作群への LPS 吸入は、BALF 中の好中球数は増加させたが、好酸球数の増加は引き起こさなかった。この結果から、アレルギー患者への LPS 吸入暴露は、気道への好酸球浸潤を促進することを通して症状の増悪を引き起こす可能性を示唆していると考えられる。

分担研究者 鳥居新平（愛知学泉大学家政学部）
協力研究者 坂本龍雄（名古屋大学医学部小児科）
平田英彦（津島市民病院小児科）

A. 研究目的

近年、わが国では室内空気の化学汚染物質による「シックハウス症候群」、「化学物質過敏症」などと称される健康障害が国民の不安を引き起している。健康住宅研究会（1996 年設置）はトルエン、キシレン、ホルムアルデヒド、可塑剤、木材保存剤、防虫剤を優先取組物質に選出し、早急に対策を講じるよう提言している。トルエンは住宅建材の壁装材の可塑剤等に用いられており、新築住宅の室内空気中のみならず、微量ではあっても室内空気中に広範に検出される揮発性有機化合物である。人体に及ぼす毒性に関する研究が十分に行われているとは言いがたく、実際、ACGIH と産業衛生学会の労働環境における許容濃度はそれぞれ 100ppm、50ppm で、WHO ヨーロッパが住宅用ガイドラインとして示している総揮発性有

機化合物（TVOC）の基準値 0.3mg/m³、厚生省の室内ガイドライン値 0.26mg/m³ と比較すると大きな差異がみられる。この差異の科学的根拠は不明である。今回、トルエン曝露によるヒト気道のアレルギー性炎症への影響を解明する第一歩として、ラットモデルを用いて、トルエンのアレルゲン感作に及ぼす影響、トルエン曝露が気道のアレルギー性好酸球性炎症をどのように修飾するかを検討した。

LPS 吸入はヒト気道に好中球浸潤を惹起する。自験例では IgE 産生に関する high responder の Brown Norway ラットでも、また、low responder の Wistar ラットでも同様の気道反応が観察された。一方、好酸球浸潤はいずれでも認めなかった。しかし、Pedenら（J. Allergy Clin. Immunol. 104: 388-394, 1999）は、少量の LPS（1ug）を鼻腔内に投与すると 4 時間後の鼻汁好酸球が有意に増加したと報告している。健常者と比べると、この傾向はアレルギー性喘息患者で顕著であった。興味深いことに、LPS 投

与後の好中球の鼻腔内への浸潤は惹起されないか、もしくはきわめて軽微であった。また、Macariら(J. Immunol. 157: 1684-1692, 1996)は、LPSが好酸球に対する priming 作用を有し、アレルゲンの皮下投与による皮膚への好酸球浸潤を有意に促進すると報告している。今回、アレルゲン感作した動物モデルを用いてLPS吸入が気道内腔への好酸球浸潤を引き起こすか否かを検討した。

1. オポアルブミン(OA) IgE感作ラットへのOA吸入が引き起こすOA特異的IgE抗体産生増強(ブースター)効果に及ぼすトルエン暴露の影響

B. 研究方法

Brown Norway 雄性ラット(5週齢、SPF)を4群(A、B、C、D群:n=5)に分け、A、B、C群にOA 1mg、Al(OH) 3 100mgを含む生理的食塩水(1ml)を腹腔内に投与し、一方、D群にはAl(OH) 3 100mgを懸濁した生理的食塩水1mlを腹腔内に投与した。7日後、A、D群には生理的食塩水、B、C群にはOA(5mg/ml)を超音波ネブライザーを用いて、覚醒下で30分間吸入した。なお、C群にはブースター吸入の2日前と前日に18ppmトルエンを10分間、覚醒下で吸入した。18ppmトルエンの10分間吸入は、昨年の研究報告にあるように、全身麻酔・人工換気下のラットの気管支に有意な血漿漏出を惹起することができる用量設定である。ブースター吸入の7日後に血液を採取し、OAに対するIgE抗体価を48時間homologous PCA反応で測定した。

C. 研究結果

A、B、C群のOAに対するPCA閾値はいずれも512倍であった。一方、D群は×1血清でも有意なPCA反応を認めなかった。すなわち、OAに対するIgE感作はOAのブースター吸入、また、トルエン吸入とOAのブースター吸入の組み合わせによっても有意な上昇を認めなかった。今回用いた、Brown Norway 雄性ラットに対するOA IgE感作の方法は、均一で有意なIgE感作を得るうえで有用であった。

D. 考察

ホルムアルデヒドの場合、室内空気中のホルムアルデヒド濃度が上昇するにつれ、小児喘息の有病率が増加するという報告が散見され、また、ホルムアルデヒド吸入が吸入アレルゲンのIgE感作を促進するという動物モデルを用いた報告がある。本研究では、OA IgE感作ラットへのOA吸入が引き起こすOA特異的IgE抗体産生増強効果に及ぼすトルエン暴露の影響を検討したが、ホルムアルデヒドのような

IgE感作を促進する作用をトルエンに見い出すことができなかった。アレルゲンの初回感作の前にトルエン吸入を行い、IgE感作にどのような影響が及ぶかについては検討しておらず、今後の課題である。

2. OA IgE感作ラットへのOA吸入による気道への好酸球浸潤に及ぼすトルエン暴露の影響

B. 研究方法

研究内容1と同様に、3群(A、B、C群:n=5)のBrown Norway 雄性ラット(5週齢、SPF)をOA感作し、D群(n=5)はsham群とした。感作7日後に、A、D群には生理的食塩水、B、C群群にはOA(5mg/ml)を超音波ネブライザーで覚醒下で30分間吸入した。なお、C群にはブースター吸入の2日前と前日に18ppmトルエンを10分間、覚醒下で吸入した。ブースター吸入の7日後に、各群に超音波ネブライザーを用いてOA吸入(5mg/ml、30分間)を行い、16時間後、urethaneを腹腔内に投与して麻酔死し、気管支肺胞洗浄液(BALF)を採取した。BALFは総細胞数をカウントした後、サイトスピン標本(Diff Quick染色)を作成して細胞分画を決定した。

C. 研究結果

OA吸入後のBALF中への好酸球数はA群は $8.9 \pm 3.1 \times 10^4$ 個(mean \pm S.E.M)、B、C群はそれぞれ $22.4 \pm 4.3 \times 10^4$ 個、 $20.8 \pm 5.4 \times 10^4$ 個であった。OA非感作群であるD群では好酸球を認めなかった。すなわち、OAのブースター吸入はOA吸入後のBALF中の好酸球数を有意に増加させる($P < 0.05$, unpaired Student's t test)が、トルエン吸入はこの気道反応を有意に促進しなかった。

D. 考察

OAブースター吸入はOA負荷後の気道への好酸球浸潤を増強させたが、この処置が気道局所のOAに対するIgE感作を増強した可能性が示唆される。しかし、トルエンはこの反応に対しても修飾効果を示さなかった。

3. リポ多糖体(LPS)はアレルゲン感作したラット気道に好酸球浸潤を惹起するか

B. 研究方法

Brown Norway 雄性ラットを以下の4群に分け、LPSおよびOA吸入24時間後にBALFを採取し、BALF中の細胞分画およびmRNAの発現について検討した。OA感作は、1、2日目にOA 1mgとAl(OH) 3 100mgを腹腔内投与し、7日目にOA 5mg/mlを30分吸入させた

(図1)。

A 群：非感作非吸入群。

B 群：非感作ラットに LPS (E. coli, 0.1mg/ml) を 30 分吸入。

C 群：OA 感作したラットに LPS を 30 分吸入。

D 群：OA 感作したラットに OA (5mg/ml) を 30 分吸入。

C. 研究結果

(1) 細胞分画

A 群と比較して、C 群では好中球数、単核球数のみならず、好酸球数も有意に増加し、D 群の好酸球数と有意な差はなかった。一方、B 群では、BALF 中の好中球数は有意に増加したが、好酸球数の増加は観察されなかった(図2)。

(2) mRNA 発現

BALF 細胞の IL-5 mRNA は、A 群と比較して C、D 群では有意に発現が増強していたが、B 群での増強は見られなかった。IL-4 mRNA は各群間でばらつきが大きく有意な変化はなかったが、IFN- γ mRNA は A 群と比較して B、C、D 群で有意に発現が増強していた(図3上)。肺組織における eotaxin、VCAM-1、ICAM-1 mRNA の発現は、コントロール群と比較して、いずれの処置群においても有意な変化は見られなかった(図3下)。

D. 考察

アレルギー感作をしたラットの喘息モデルにおいて、LPS の吸入暴露は OA 吸入群と同程度の好酸球浸潤を引き起こした。その機序の一つとして、BALF 細胞及び肺組織中の mRNA 発現の検討から、IL-5 mRNA

の発現の増強が LPS 吸入によって認められたことにより、OA 吸入モデルと同様の IL-5 を介した好酸球浸潤メカニズムが働いた可能性が考えられる。一方、好酸球に対して特異的なケモカインである eotaxin に関しては、今回、mRNA の発現の増強が認められなかった。LPS 吸入により鼻汁中の好酸球浸潤が見られたアレルギー患者では、IL-8、GM-CSF が関与しているとの報告もあり、これらについての検討は今後の課題である。

E. 結論

LPS はアレルギー感作したラットの気道内への好酸球を惹起した。このことは、アレルギー患者への LPS の吸入暴露は、気道内への好酸球浸潤を促進することにより、喘息症状の増悪を引き起こす可能性を示唆している。

F. 研究発表

1. 学会発表

研究3は第37回日本小児アレルギー学会(2000. 11. 前橋)にて発表。

(倫理面への配慮)

本実験は、名古屋大学医学部動物実験指針に基づき、科学的で動物福祉への十分な配慮がなされた適正な条件で行われた。また、名古屋大学医学部動物実験委員会の承認を受けて行われた。

☒ 1

Methods

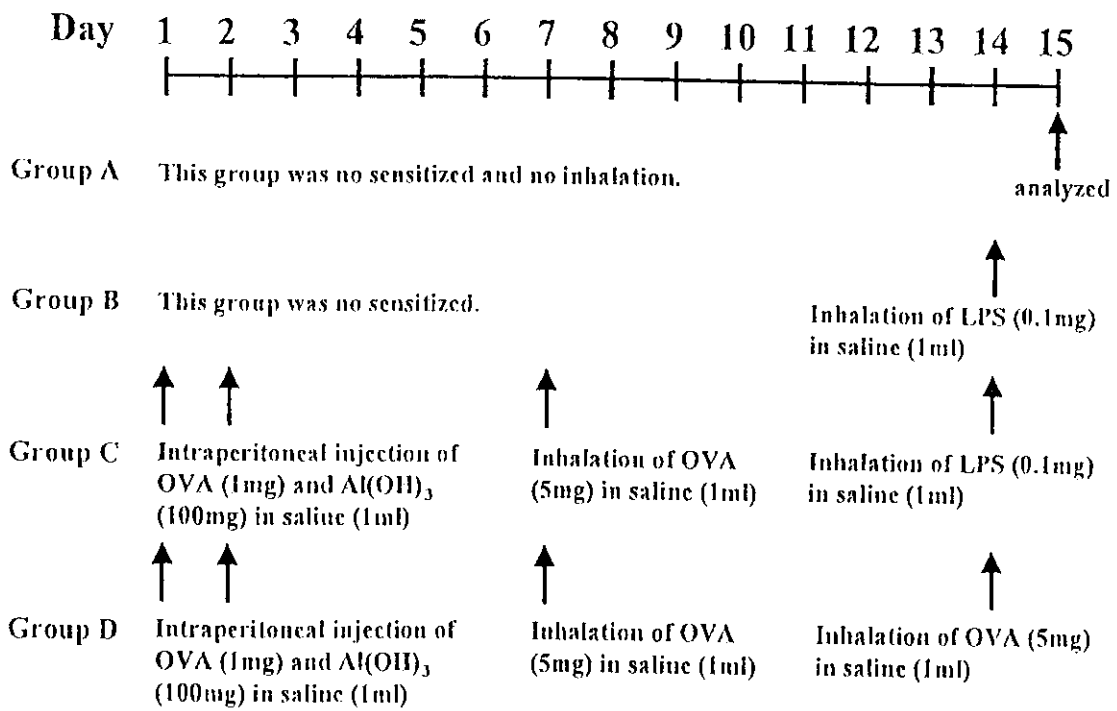
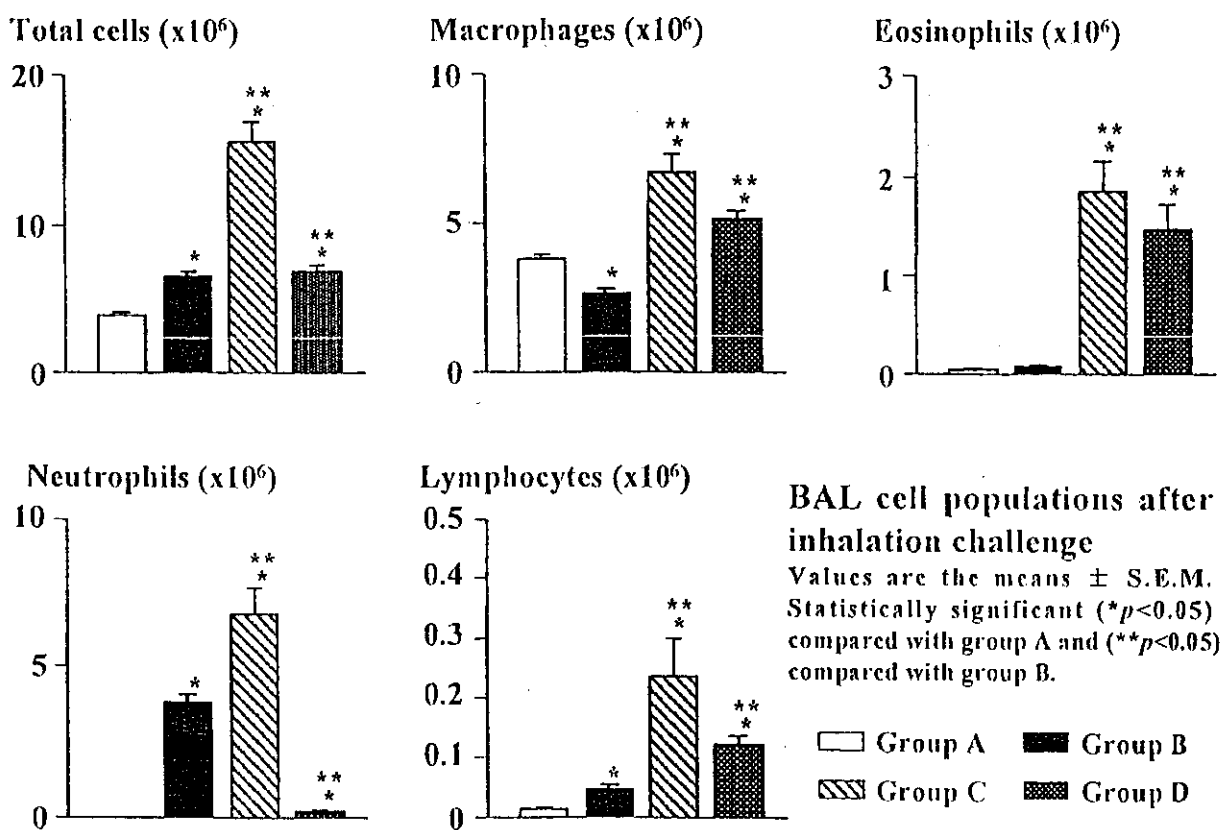
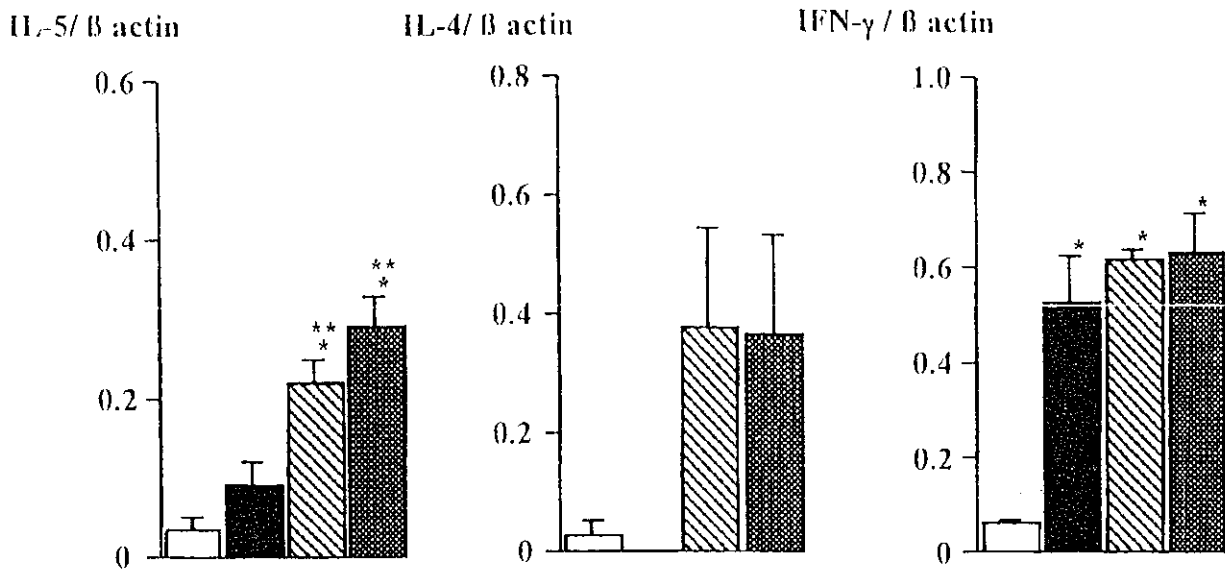


图 2

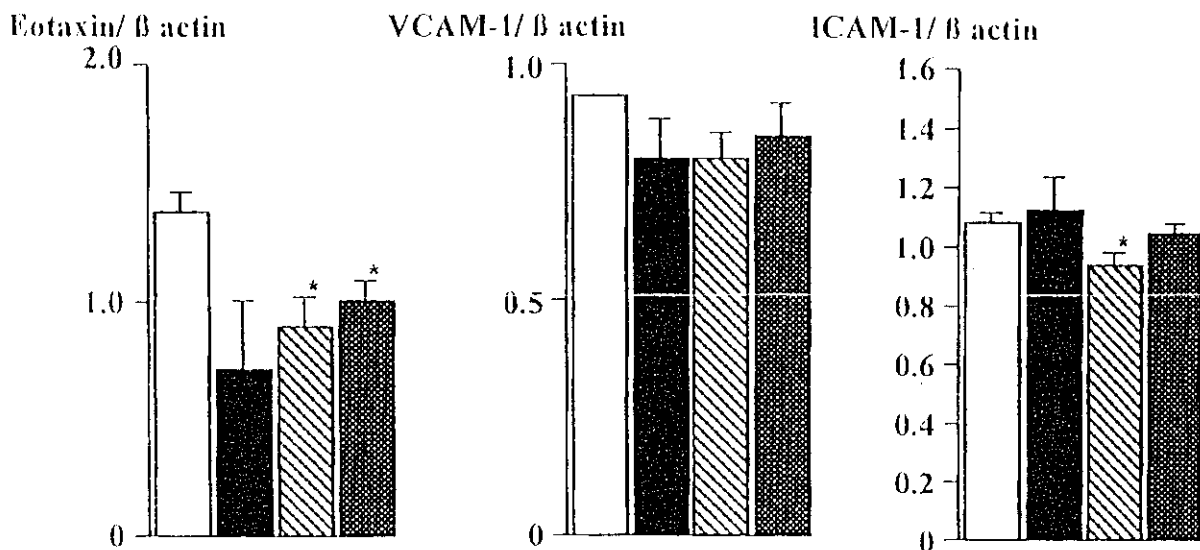




Expression of IL-4, IL-5 and IFN-γ in BAL cells.

mRNA expression is expressed as relative units normalized on the expression of β actin. Values are the means ± S.E.M. Statistically significant (* $p < 0.05$) compared with group A and (** $p < 0.05$) compared with group B.

□ Group A ■ Group B ▨ Group C ▩ Group D



Expression of Eotaxin, VCAM-1 and ICAM-1 in lung tissues.

mRNA expression is expressed as relative units normalized on the expression of β actin. Values are the means ± S.E.M. Statistically significant (* $p < 0.05$) compared with group A and (** $p < 0.05$) compared with group B.

□ Group A ■ Group B ▨ Group C ▩ Group D

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

ホルムアルデヒドとパラジクロロベンゼンの併用吸入暴露の毒性学および
免疫学的影響評価に関する基礎的研究

分担研究者 五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所 療品部主任研究官
鎌田 栄一 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価室主任研究官
鹿庭 正昭 国立医薬品食品衛生研究所 療品部室長

研究要旨

ホルムアルデヒド(HCHO)とパラジクロロベンゼン(p-DCB)の併用吸入暴露による一般毒性とアレルギー反応性に対する効果について、BALB/c系マウスを用いて検討した。HCHO 0.5 ppm 単独暴露、p-DCB 50 ppm 単独暴露、HCHO と p-DCB の混合空気および空気のみを暴露する4群を設定し、1日6時間、7日間連続暴露を行った。体重についてはHCHOとp-DCB併用群で対照群に比べ、わずかに低い値が見られた。摂餌量は対照群とHCHO暴露群で雌雄とも差は見られなかった。血液形態学的検査では暴露によるものと考えられる変化は認めなかった。p-DCBを暴露された2群では血清生化学的検査において総コレステロール値と総タンパク質の増加が、また肝臓重量の増加が認められた。吸入暴露による皮膚感作反応、総IgE抗体価の増加および脾臓リンパ球の幼若化反応に変化は認めず、単独および併用暴露による免疫系の活性化はないと思われた。Trimellitic anhydride (TMA)および2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)の感作誘導期の耳介リンパ節細胞増殖反応については、HCHOとp-DCBの併用によるさらなる増強はなかった。TMA誘導による血清IgE抗体価の増加およびDNCBで惹起される耳腫脹反応は暴露群と対照群とで有意な差はなかった。暴露によるIL-4およびIFN- γ の産生は認めないが、TMAおよびDNCBにより誘導されるサイトカン産生は、HCHOとp-DCBの併用暴露により増加した。サイトカンの産生レベルでは暴露によって弱い増強効果が認められるが、個体レベルでの反応の差は認めなかった。したがって、今回用いた条件下でのHCHOおよびp-DCBの単独または併用暴露は、マウスに対して毒性学および免疫学的に著しい影響は及ぼさないとされた。

A. 研究目的

現在、世界で生産されている化学物質は数百万種以上にのぼり、それらの化学物質から合成される製品は、多種多様にわたり、私たちの身の回りに存在する。最近、省エネルギー化に基づく高断熱で密閉度の高い住宅が好まれて建築されるようになってきているが、その反面、住宅建材など多様な製品から揮発した化学物質が換気されずに室内空气中に長く、高濃度に存在することになっている。近年、種々の化学物質に過敏に反応して自律神経症状を呈する人が増加している。また、皮膚アレルギー、粘膜気道アレルギー疾患も急激に増加しているが、これらが大気汚染や家庭室内空气中の化学物質の連続暴露が原因ではないかと疑われている。

一般家庭内環境で特に多量かつ頻度高く検出される化学物質としては、ホルムアルデヒド(HCHO)、パラジクロロベンゼン(p-DCB)、有機リン系化合物やトル

エンなどがある。特に、HCHOについては壁紙、接着剤、テキスタイルなどから発生し、安全性評価から指針値も示されている。また、衣類の防虫剤として使われるp-DCBも、洋室へのクローゼットの設置により、常に高濃度で暴露されるようになっている。これらの化学物質の個々の一般毒性についてはある程度判明しているが、このように現実の環境では複雑に組み合わさって作用していると思われる。

我々は、昨年度までHCHOの吸入暴露装置を開発し、HCHO暴露による実験動物への影響を調べてきた。本年は、組み合わせさせて化学物質に暴露された場合の効果を見るため、HCHOとp-DCBを例にとり、マウスに対し、それらの単独または併用吸入暴露を行い、一般毒性とアレルギー症状の変化について検討した。

B. 研究方法

試薬：アレルギーンとして trimellitic anhydride (TMA)、dinitrochlorobenzene (DNCB)を用いた。ホ

ホルマリン溶液は和光純薬工業製特級を、p-DCBは関東化学製(純度99.0%、Lot.No. 207G1465)を用いた。

動物: BALB/c AnCrJ系マウス(日本チャールス・リバー)を4および7週齢で購入し、1週間の馴化飼育後、実験に供した。一般毒性試験で用いた動物(4週齢で購入)の暴露開始時の体重は雄21.0~25.3g、雌18.0~21.1gであった。動物は無作為に、雌雄各6匹ずつ4群に分け、ステンレス製金網ケージに各々3匹ずつ収容し、チャンバー内で飼育を行った。試験期間中、動物には飼料(CRF-1、船橋農場)およびマイクロフィルターを通過させた水道水を自由に摂取させた。

暴露条件の設定: HCHO単独暴露(HCHO群)、p-DCB単独暴露(p-DCB群)およびHCHOとp-DCBとの併用暴露する群(HCHO + p-DCB群)と空気のみを暴露する群(対照群)の計4群を設定した。HCHOの濃度は昨年度の試験において1.4ppm暴露群で感作誘導反応が増強されることが示されたことから、その約1/3の0.5ppmとした。p-DCBの暴露濃度の設定は500ppmで長期間暴露した実験で肝重量の増加が認められたとの文献を基に、その1/10の濃度で50ppmとした。²⁾ 暴露期間は1日6時間、7日間連続とした。

吸入装置: 装置は、p-DCBとHCHO混合空気発生する「発生装置」と実験動物を収容し暴露する「チャンバー」から構成される(図1、写真1)。

HCHO混合空気の調製(写真2) 精製水で一定濃度に希釈したホルマリン溶液を液体クロマトグラフィー(HPLC)用ポンプ(Beckman社製Model 110A、またはセンシュー科学製SSC-3460)にて70℃の恒温槽(柴田製作所製SGBR型)の円柱ガラス槽(柴田製作所製、直径12.5cm、高さ20cm、内容積2.3l、上部にはシリコンパッキングを付したステンレス製の蓋を装着した)内にセットされた噴霧器に導き、1.0ml/minの流量の空気で噴霧し、HCHO混合空気を作製した。

p-DCB混合空気の調製(写真3) 粉末p-DCBを2口丸底フラスコ(柴田製作所製、内容積1l)に収容し、そのフラスコ全体をマントルヒータ(柴田製作所製、SAFR)で約70℃に加温して、1.0l/min、1kg/cm²の空気を導入してp-DCB混合空気を作製した。

チャンバー内混合空気の作成 各混合空気は室内空気で希釈し、ステンレス製角錐型チャンバー(夏目製作所製、内容積1560l、120×120×210cm)内の総空気が340l/min、差圧-3~5mm H₂Oの条件になるように差圧調節バルブ調整した。チャンバー内の照明は、午前6時~午後6時の12時間点灯した。排気処理は、混合空気を活性炭に通過させることで行った。

HCHO濃度の測定: 理研計器製のTOXIC GAS MONITOR(Model fp-250flw, fp-250fl、テープ型式: FT-111)を使用してチャンバー内のHCHO濃度を30分間隔で自動測定した。

p-DCB濃度の測定: 自動ガスクロマトグラフ装置(GC-14A・PRG-102A・SLS-12・CR7A plus、島津製作所製)にFID検出器を接続し、40分間隔で濃度を測定した。GC条件を下記に示す。

カラム SBS-200 20% Shimalite W100/120 AW-DMCS packed stainless column (3.0 mm i.d.×2.0 m)

カラム温度 100℃

注入口および検出器温度 120℃

キャリアーガスおよび流量 N₂, 1.5 kg/cm²

一般状態観察: 暴露期間中、一般状態および死亡動物の有無を連日観察した。体重および摂餌量は暴露開始時と終了時に測定した。

血液学的検査: 暴露開始8日目に、各群の動物について血液形態学的検査、血液生化学的検査および病理学的検査を行った。血液形態学的検査は、動物をエーテル麻酔下で、心臓より5% EDTA-K入りのディスプレイ注射器を用いて約1.0ml採血し、多項目自動血球計数装置(Sysmex M-2000、シスメックス社)を用い、血液生化学的検査では、血液自動分析装置(HITACHI AUTOMATIC ANALYZER 7150、日立製作所製)を用いて表1に示す項目について測定した。

病理学的検査: 採血後、注意深く剖検し、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、精巣および胸腺を摘出後、直ちにその湿重量を測定した。

リンパ球幼若化試験: 以下のアレルギー反応に及ぼす影響に関する試験では、いずれも雌性7週齢のマウス(1群3または6匹)を用いた。7日間暴露終了後、翌日、各群のマウスの脾臓(n=3)を摘出し、試験群ごとに集めた後、ステンレスメッシュを用いて脾臓細胞を分離した。赤血球を溶血した後、ハンクス液を加え、4℃、1500 rpmで2回遠心して洗浄後、牛胎児血清を10%含有するRPMI1640培地に浮遊させた。リンパ球は5×10⁵個/200μlずつ96穴プレートの各穴に入れ(1群4穴)、各mitogen(Con A 2μg/ml、LPS 1μg/mlおよびPHA-P 10μg/ml)を加えて、37℃で72時間培養した。培養終了6時間前に、³H-thymidine (³HTdR) 0.25μCiを添加して、さらに培養した。培養終了後、セルハーベスターで細胞を回収し、細胞内に取り込まれた³HTdR量(dpm)を液体シンチレーションカウンターによって測定した。

感作誘導期の反応に及ぼす影響: Local lymph node assay (LLNA)³⁾を用いて検討した。雌性マウス(1群3匹)に7日間吸入暴露した後、両耳に1% DNCB、10% TMAのアセトン: オリーブ油(4:1)(AOO)溶液、またはAOOのみを25μlずつ3日間連続で塗布した。最終塗布の翌日、耳介リンパ節を取り出し試験群ごとにまとめた後、リンパ節重量を測定した。リンパ節細胞(LNC)を分離し、ハンクス液で洗浄後、牛胎児血清

を10%含有するRPMI1640培地に浮遊させ、総LNC数を測定した。LNCを 1×10^6 個ずつ96穴プレートの各穴に入れ(1群4穴)、 ^3H -thymidine ($^3\text{HTdR}$) 0.5 μCi を添加して、37°Cで24時間培養した。培養終了後、セルハーベスターで細胞を回収し、細胞内に取り込まれた $^3\text{HTdR}$ 量(dpm)を液体シンチレーションカウンターによって測定した。

耳腫脹試験⁴⁾: HCHOに対する感作の成立を見るため、HCHO群およびHCHO + p-DCBを暴露終了の翌日、マウス(1群6匹)の耳の厚さを測定した後、ホルマリン5%のアセトン溶液25 μl を耳に塗布し、24時間および48時間後の耳の厚さを測定した。p-DCBに対する皮膚感作の成立は、p-DCB群およびHCHO + p-DCB群について、10% p-DCBのアセトン溶液25 μl を耳に塗布し、24時間および48時間後の耳の厚さを測定した。

惹起反応に対する暴露の効果については、別に試験した。1% DNCBまたは25% TMAのAOO溶液50 μl を毛刈りした腹部に塗布し、さらに7日目に、先の半分の濃度の各溶液を塗布して感作させた。2回目塗布の翌日から、HCHOおよびp-DCBを7日間吸入暴露し、その翌日、マウスの耳の厚さを測定した後、1% DNCB溶液または12.5% TMA溶液25 μl を塗布して惹起し、24時間および48時間後の耳の厚さを測定し、腫脹度を求めた。

IgEアッセイ:⁵⁾ 25% TMAのAOO溶液またはAOOのみ50 μl をマウス(1群6匹)の毛刈りした腹部に塗布し、さらに7日目に、先の半分の濃度の各溶液を塗布して感作させた。2回目塗布の翌日から、HCHOおよびp-DCBを7日間吸入させた。暴露終了の翌日、心臓採血して血清を分離、ELISA法によってIgE抗体価を測定した。

サイトカンの測定: 1% DNCBまたは10% TMAのAOO溶液50 μl を毛刈りしたマウスの腹部(1群6匹)に塗布し、5日目に同様の操作を行った。さらに5日後から3日間連続で、同溶液を25 μl ずつ両耳に塗布した。HCHOおよびp-DCBは2回目の塗布の翌日から7日間吸入させた。最終塗布および暴露終了の翌日に、耳介リンパ節を取り出し試験群ごとにまとめた後、LNCを分離し、牛胎児血清を10%含有するRPMI1640培地に浮遊させた。LNCを 1×10^7 個/1 mlずつ24穴プレートの各穴に入れ、Con Aを2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加または未添加で、24~120時間37°Cで培養し、3000 rpmで10分間遠心して上清を回収した。Con Aを添加して24時間培養した上清についてはIL-4を、未添加で120時間培養したものについてはIFN- γ 濃度を市販ELISAキットで測定した。

統計学的処理方法: 体重、血液学的検査、血清生化学的検査、臓器重量の成績についてはDunnnettの方法

で、耳腫脹反応および血清IgE抗体価については、t検定で有意差検定を行った。

C. 研究結果

1. 暴露濃度

チャンバー内のp-DCB濃度は、p-DCB群で50.0 \pm 0.8 ppm、p-DCB + HCHO群で48.9 \pm 2.0 ppmであった。一方、HCHO濃度は、HCHO群で0.57 \pm 0.11 ppm、p-DCB + HCHO群で0.54 \pm 0.1 ppmであった。

2. 体重および摂餌量

体重については、p-DCB + HCHO群の雌雄ともに対照群と有意差は認められなかったが、やや低い値を示した(表2)。一方、摂餌量については、雌雄とも暴露群と対照群とで差は見られなかった。

3. 血液形態学的検査結果

HCHO群の雄のMCHと雌雄のMCHCに有意な増加が見られたが、その他の関連項目に変化が見られなかった(表3)。

4. 血液生化学的検査結果

総コレステロール値(CHO)は、p-DCB群およびp-DCB + HCHO群の雌雄で有意な増加が、HCHO群の雄では有意な減少が見られた。総タンパク質(TP)はp-DCB群およびp-DCB + HCHO群の雌で有意な増加が、アルブミン値(ALB)はHCHOおよびp-DCBを暴露した全群の雌に有意な増加が見られた(表4)。

5. 臓器重量

肝臓ではp-DCB群の雄の絶対重量および相対重量に有意な増加が見られ、p-DCB群の雌およびp-DCB + HCHO群の雌雄でも絶対重量および相対重量に増加傾向が見られた(表5)。

6. 脾臓リンパ球幼若化試験

T細胞mitogenであるPHA-P、B細胞mitogenであるLPSおよび両細胞に作用するmitogenのCon Aに対する脾臓リンパ球の幼若化反応は、暴露群と対照群とで変化は認めなかった(表6)。

7. 耳介リンパ節細胞増殖反応

TMAおよびDNCBによる感作誘導に伴う反応に対する吸入暴露の効果をLLNAで検討した。吸入暴露後、アレルゲンを塗布し、耳介LNC増殖反応を調べた。DNCBを塗布することによるリンパ節重量の変化はHCHOおよびp-DCBでわずかに増加したが、これらの併用による増強効果は認めなかった。一方、TMAによるLNC反応は吸入暴露による効果は認めなかった(表7)。

8. 耳腫脹反応

MEST法を用いて、吸入暴露によってHCHOおよびp-DCBに対する感作が成立するかどうか確かめた。暴露終了後、ホルマリン溶液またはp-DCB溶液を耳に塗布したが、耳の腫脹反応は認められなかった。

次に、惹起反応に対する HCHO の吸入暴露の効果調べた。DNCEB および TMA を腹部に 2 回塗布して感作を行い、吸入終了後、14 日目に惹起を行った。耳の厚さの平均値で見ると、HCHO 暴露で対照群に比べわずかに増加傾向が認められるものの有意な差はなかった。p-DCB 暴露ではむしろ低下した(図 2)。TMA による感作惹起でも同様に差は認めなかった(図 3)。さらに、これらの耳腫脹反応は併用暴露によっても変化しなかった。

9. 血清 IgE 抗体価

総 IgE 抗体価は対照群で $0.64 \pm 0.21 \mu\text{g/ml}$ 、HCHO 群で $0.63 \pm 0.10 \mu\text{g/ml}$ 、p-DCB 群で $0.30 \pm 0.14 \mu\text{g/ml}$ 、および HCHO + p-DCB 群で $0.49 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ と、吸入暴露群と対照群とで差はなかった。吸入暴露によって抗体産生はなく、I 型アレルギーも誘導されなかった。TMA 誘導による血清 IgE 抗体価も暴露群と対照群とで有意な差はなかった。また、併用吸入暴露による増強も認められなかった(図 4)。

10. サイトカン産生

DNCEB により誘導される IFN- γ の産生は、HCHO 吸入暴露によってわずかに増加した。p-DCB 群と対照群との差は見られず、併用によるさらなる増強も見られなかった(表 6)。TMA による IL-4 産生は、HCHO 吸入暴露によってわずかに増加したが、p-DCB 群では変化なかった。HCHO と p-DCB の併用暴露の場合、他の群よりも高い値を示した(表 7)。

D. 考察

HCHO などの吸入試験は、暴露する化学物質が一定濃度で存在するように条件を設定する必要がある。今年度は HCHO に続いて p-DCB について吸入装置を開発した。暴露については、昨年度のように 28 日間の長期間暴露を、さらには 1 日 24 時間の連続暴露をする予定であった。しかし、p-DCB についてはもともとが固体のものを気化して噴霧するため、経過時間とともに装置内で凝縮してしまう事例が重なったため、当初の計画通りにはならなかった。したがって、本試験では、p-DCB の問題が起らない限界期間として、1 日 6 時間で 7 日間連続暴露することとした。

昨年度の試験において、HCHO 1.4 ppm 暴露群で DNCEB の感作誘導反応が増強され、TMA の感作誘導反応についてはその 1/10 の濃度でも増強されることが示された。したがって、今年度の HCHO 濃度は 0.5 ppm とした。p-DCB の暴露濃度の設定は 50 ppm とした。²⁾ p-DCB 単独暴露群(50.0ppm)と p-DCB + HCHO の混合暴露群(48.9ppm)の暴露濃度に差が見られた。しかし、その差が約 3% であることから、濃度差が試験結果に影響することはなかったと思われる。

摂餌量および血液学的検査において、暴露によると

思われる変化は見られなかったが、体重については対照群に比べて HCHO + p-DCB 併用群で、ごく軽度の増加抑制が見られた。600 mg/kg の p-DCB を週 5 日で 13 週間経口投与されたマウスでは体重に変化がみられず⁹⁾、600 mg/kg 投与されたマウスの発がん性試験でも体重減少は見られていないことから、⁷⁾ 本試験において観察された軽度の体重減少は偶発的な変化と思われる。

p-DCB を暴露された 2 群に血清中 CHO と TP の増加と肝重量の増加が観察されたが、NTP の 13 週間の試験でも同様に観察されている。⁷⁾ p-DCB 単独暴露群と併用暴露群を比較すると、これらの項目についてはほぼ同様な値を示していることから、HCHO の存在が p-DCB の肝への作用を増強するとは考えられなかった。以上の結果から、本実験条件下での HCHO および p-DCB 吸入暴露による明らかな毒性はないと考えられた。

脾臓リンパ球の各 mitogen に対する反応性は HCHO および p-DCB 暴露群と対照群とで差は認めず、T リンパ球および B リンパ球など特定のリンパ球サブセットだけの増強はなかった。また、脾臓およびリンパ節重量も変化なかった。したがって、吸入暴露による免疫機能の活性化は認められなかった。

吸入暴露後、各マウスにホルマリン溶液または p-DCB 溶液を塗布しても耳の腫脹反応は認められず、本条件では HCHO や p-DCB に対する感作は成立しないことがわかった。また、血清中の総 IgE 抗体価についても、暴露群と対照群とで有意な差はなく、I 型アレルギーの誘導はないと思われた。HCHO については感作性が既に知られているが、主に接触による皮膚感作と考えられる。HCHO は皮膚アレルギーを起こすことが知られているが、気管支興奮などの I 型アレルギーの誘導はないと考えられている。⁸⁻¹¹⁾ 一方、p-DCB については、皮膚感作が起こったという事例はない。

次に、他の化学物質へのアレルギー反応に対する HCHO および p-DCB 暴露の効果調べた。感作性物質としては、IgE 抗体が産生される I 型アレルギーを起こす TMA、および細胞性免疫の関与する IV 型アレルギーを起こす DNCEB を用いた。HCHO および p-DCB 暴露後、DNCEB を塗布したときのリンパ節重量は対照(未暴露)群に比べわずかに高い値を示すが、単独暴露群と併用暴露群とではほぼ同程度の値を示すことから、併用に伴う増強効果は認めなかった。一方、TMA による LNC 反応は吸入暴露による効果は認めなかった。昨年度の実験では、TMA および DNCEB による LNC 反応は HCHO 暴露で増加し、HCHO の吸入暴露は感作誘導を増強することを示した。Yoshida らは、B6C3F1 マウスに対し 500 ppb の HCHO を 6 週間にわたって吸入暴露させた結果、TMA による LNC

増殖は増加するが、oxazolone に対する反応はほぼ一定であったと同様な報告をしている。¹²⁾ これらの実験での結果の差は暴露期間の違いが大きいと考えている。

マウスに HCHO を吸入暴露させて前処理した場合、oxazolone による感作誘発段階ではむしろ抑制的に作用したとの報告がある。¹³⁾ Tarkowski と Gorski は ovalbumin で感作したマウスの IgE 価は HCHO 暴露で増加すると報告している。¹⁴⁾ 今回の実験では、血清 IgE 抗体価および耳腫脹反応には著しい変化はなかった。2 つの試験ともかなりバラツキがあり、明確な差が出にくい状況ではあるが、アレルギーの惹起段階の反応には HCHO および p-DCB の吸入は影響しないと考えられた。これらの実験での結果の差も暴露期間が影響していると思われる。

CD4+ T helper(Th)細胞は Th1 と Th2 の 2 つのグループに分けられ、これらは I 型と IV 型アレルギーの発症、反応性に関与する。¹⁵⁾ これらの細胞から産生されるサイトカイン動態は免疫反応の変化のメカニズムを知る上で重要である。DNCB により誘導される IFN- γ および TMA による IL-4 産生の産生は、HCHO 吸入暴露によってわずかに増加したが、p-DCB 暴露群は対照群と差は見られなかった。HCHO と p-DCB の併用暴露の場合、他の群よりも高い値を示した。個体レベルでは暴露に伴う反応の差は認められないので、今回のサイトカインの結果はこれを説明するのに十分ではない。サイトカイン量の測定は 1 回のみのものであるので、今回の差は測定の誤差範囲なのかもしれない。

以上の結果より、今回の HCHO および p-DCB の単独および併用吸入暴露条件では、毒性学および免疫学的に著しい影響は及ぼさないと結論した。

E. 結論

HCHO 0.5 ppm、p-DCB 50 ppm、HCHO と p-DCB の混合空気を 1 日 6 時間、7 日間連続暴露したときの一般毒性とアレルギー反応性に対する効果をマウスを用いて検討した。体重、摂餌量、血液形態学的検査では暴露によるものと考えられる変化は認めなかった。p-DCB を暴露された群では肝臓重量の増加が認められたが、HCHO のさらなる増強効果は認めなかった。吸入暴露によって、これらに対する皮膚反応、総 IgE 抗体価は変化を認めず、脾臓リンパ球の幼若化反応にも影響はなかった。TMA および DNCB の感作誘導に対する効果、TMA 誘導による血清 IgE 抗体価の増加および DNCB で惹起される耳腫脹反応についても暴露群と対照群とで有意な差はなかった。TMA および DNCB により誘導されるサイトカイン産生は、HCHO と p-DCB の併用暴露により弱い増強効果が認められたが、今回用いた条件下での HCHO および p-DCB の

単独または併用暴露は、マウスに対して毒性学および免疫学的に著しい影響は及ぼさないと考えた。

参考文献

1. 藤巻秀和, ファルマシア, 36, 207-210 (2000).
2. E. Loeser, and M.H. Litchfield. Food Chem. Toxicol., 21, 825-832(1983)
3. I. Kimber and C. Weisenberger. Arch. Toxicol., 63, 274-282 (1989).
4. S.C. Gad, B.J. Dunn, Debbs, D.W., C. Reilly and R.D. Walsh. Toxicol. Appl. Pharmacol., 84, 93-114 (1986).
5. J. Hilton, R.J. Derman, D.A. Basketter and I. Kimber. Toxicol. Methods 5, 51-60 (1995).
6. S.R. Eldridge, T.L. Goldsworthy, J.A. Popp, B.E. Carcinogenesis 13, 409-415 (1990)
7. NTP. Toxicology and carcinogenesis studies of 1,4-dichlorobenzene (CAS No.106-46-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC. National Toxicology Program. NTP TR 319, HIH Publication No.87-2575 (1987)
8. J. Hilton, R.J. Dearman, D.A. Basketter, E.W. Scholes and I. Kimber. Fd. Chem. Toxicol., 34, 571-578 (1996).
9. D.W. Potter and K.S. Wederbrand. Fund. Appl. Toxicol., 26, 127-135 (1995).
10. J.H.E. Arts, S.C.M. Droge, S. Spanhaak, N. Bloksma, A.H. Penninks and C.F. Kuper. Toxicology 117, 229-237 (1997).
11. J.D. Thrasher. Arch. Environmental Health 42, 347-350 (1987).
12. T. Yoshida and F. Kayama. Fund. Appl. Toxicol., suppl. 35, 195 (1997).
13. J.A. Kramps, L.T.C. Peltenburg, P.R.M. Kerklaan, F.T.M. Spieksma, R.M. Valentijn and J.H. Dijkman. Clin. Exp. Allergy 19, 509-514 (1989).
14. M. Tarkowski and P. Gorski. Int. Arch. Allergy Immunol., 106, 422-424 (1995).
15. T.R. Mosmann, H. Cherwinski, M.W. Bond, M.A. Giedlin and R.L. Coffman. J. Immunol., 136, 2348-2357 (1986).

F. 研究発表

1. 学会発表
1) 五十嵐良明, 鹿庭正昭, 中村晃忠: マウスにおけるホルムアルデヒドの吸入暴露によるマウスの化学物質に対するアレルギー反応性の増強. 第 27 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2000.6).

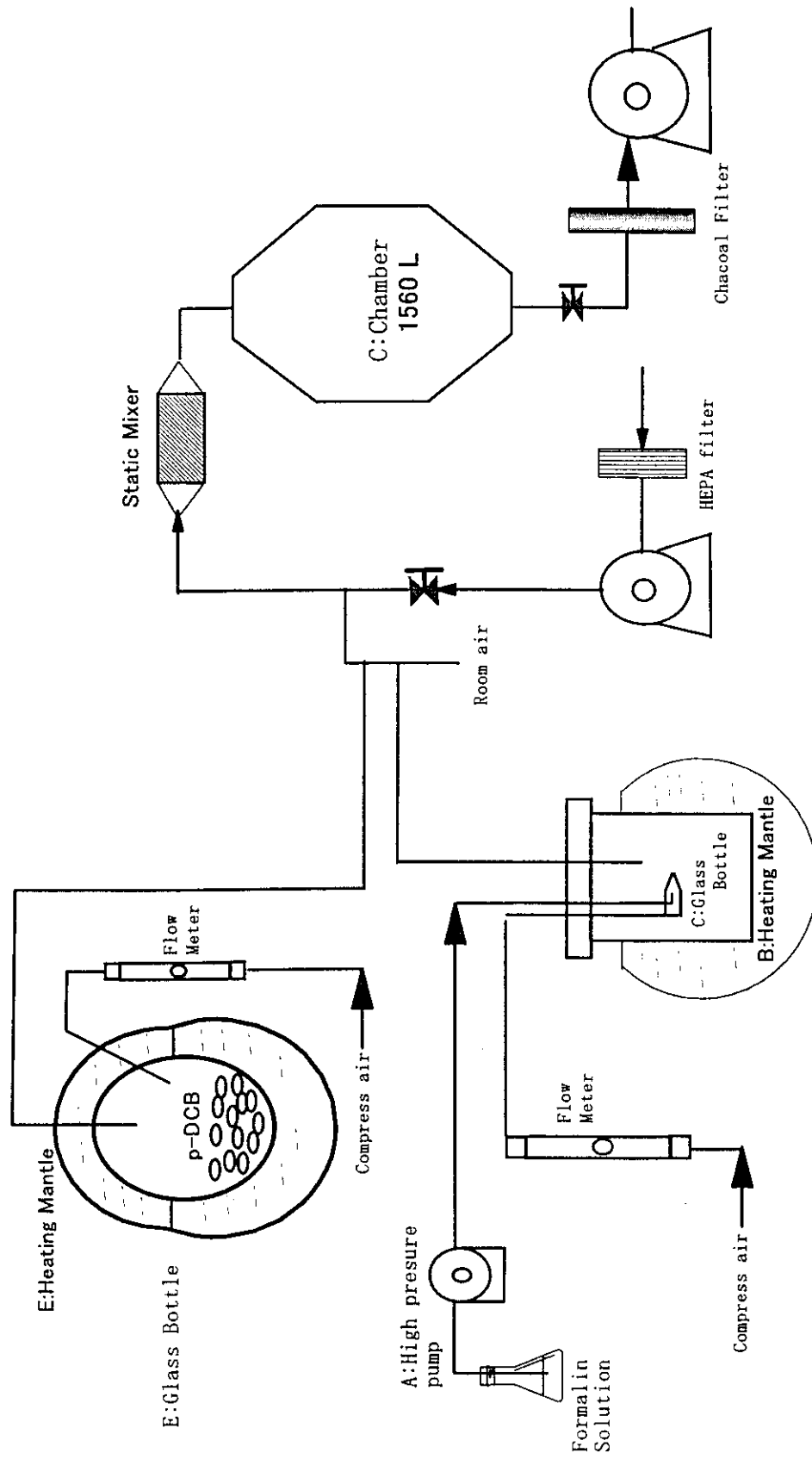


Fig.1 Schematic Illustration of the Exposure System

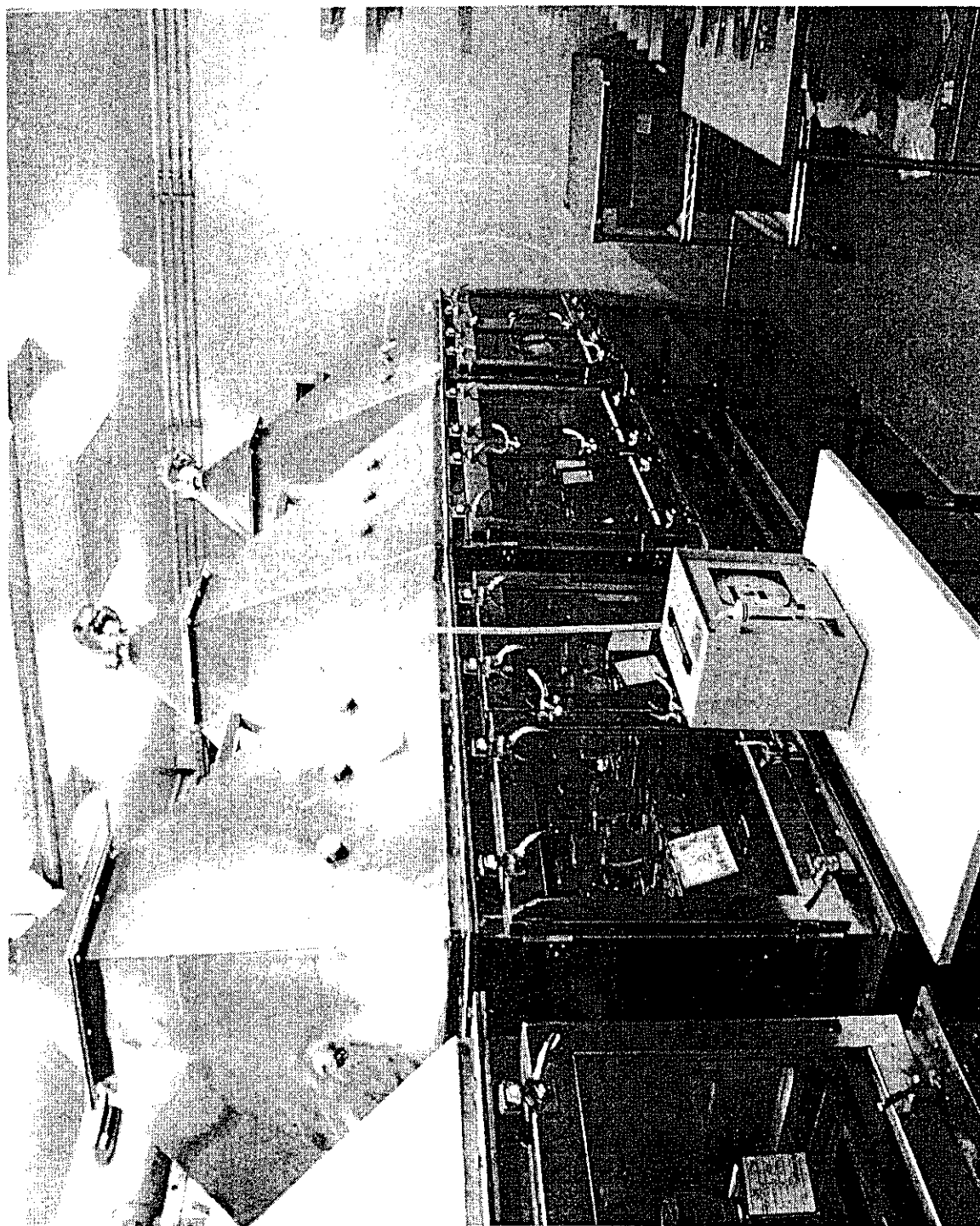


写真1 暴露チャンバーの全景

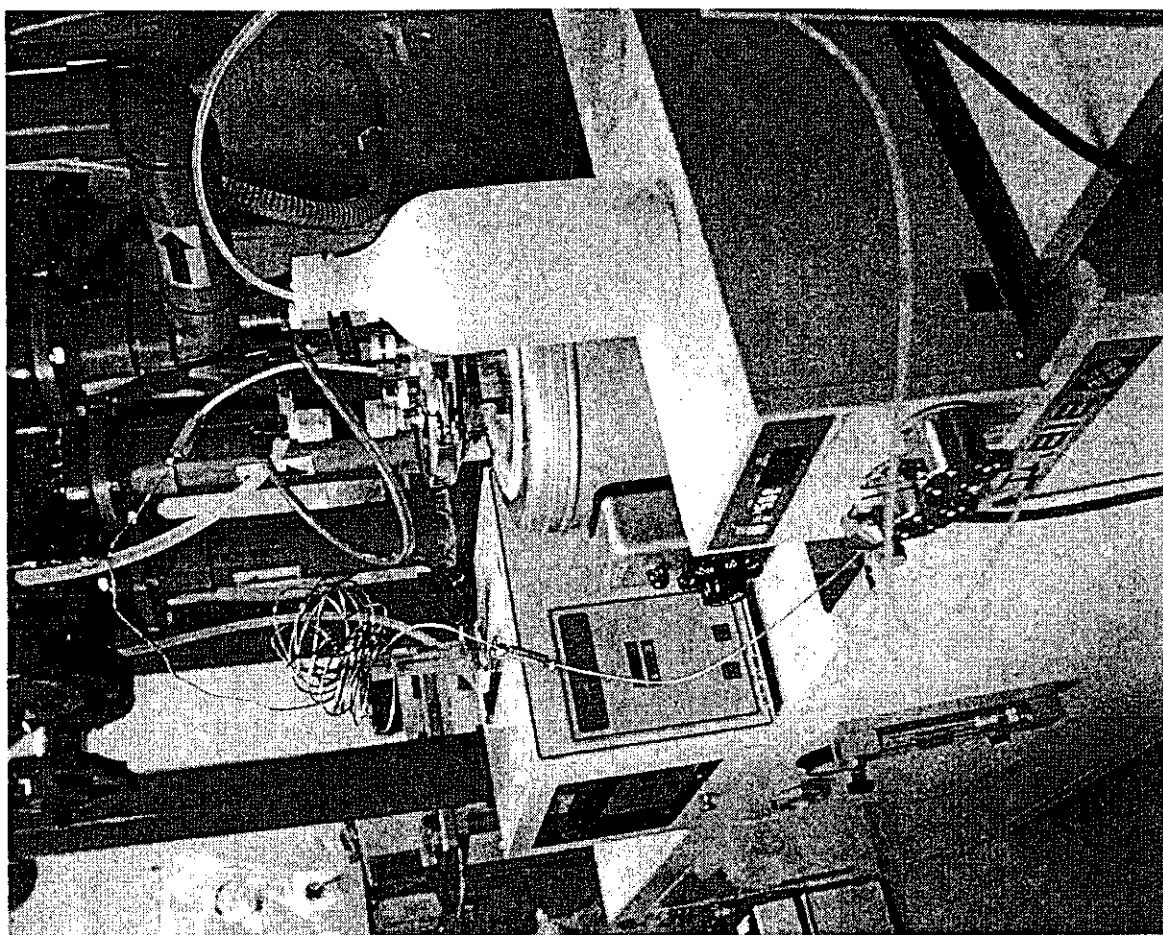


写真2 HCHO暴露装置

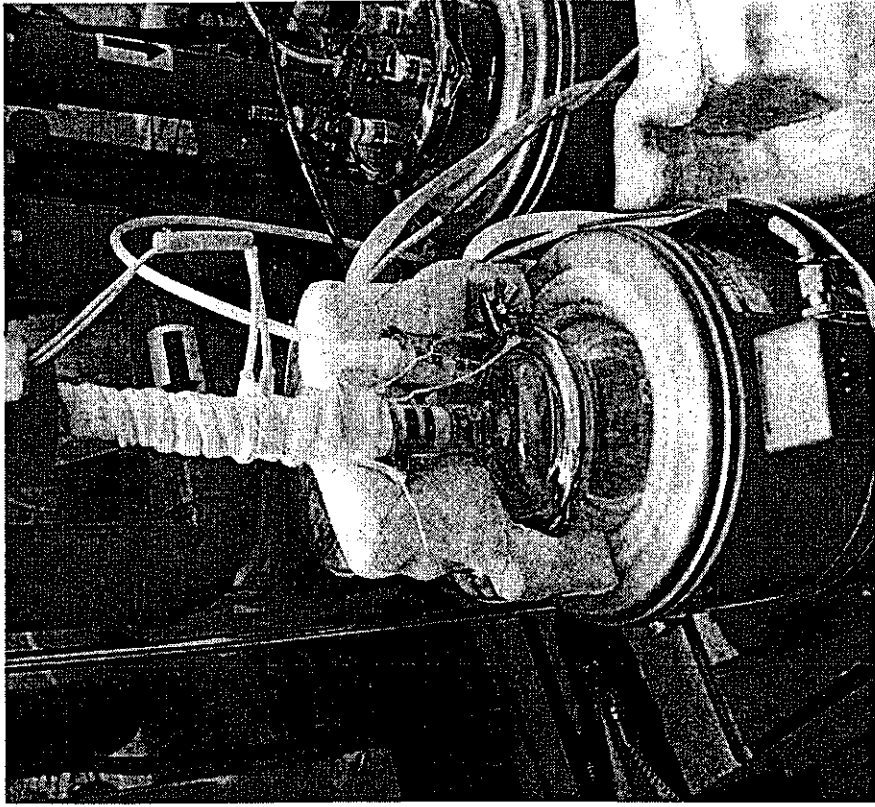


图3 p-DCB発生装置

表1. 血液学および血清学的検査項目

	Items of measurement	Abbreviation
Hematology	White blood cell count	WBC
	Red blood cell count	RBC
	Hemoglobin concentration	HGB
	Packed cell volume	PCV
	Mean cell volume	MCV
	Mean cell hemoglobin	MCH
	Mean cell hemoglobin concentration	MCHC
	Platelet count	PLT
Biochemistry	Total protein	TP
	Albumin	ALB
	Albumin-globulin ratio	A/G
	Blood urea nitrogen	BUN
	Glucose	GLU
	Triglycerides	TG
	Total cholesterol	CHO
	Alanine aminotransferase	ALT
	Aspartate aminotransferase	AST

表2. ホルムアルデヒド(HCHO)およびパラジクロロベンゼン(p-DCB)を7日間吸入暴露した時のマウスの体重変化

Sex	Group	Body weight (g)		
		0 day	7 days after	Gain
Male	Control	23.04 ± 1.40	24.96 ± 1.22	1.93
	HCHO	23.28 ± 1.44	25.21 ± 1.63	1.93
	p-DCB	23.38 ± 1.27	25.06 ± 0.95	1.68
	p-DCB+HCHO	23.52 ± 1.46	25.05 ± 0.99	1.53
Female	Control	19.64 ± 1.15	20.75 ± 1.14	1.11
	HCHO	19.65 ± 0.68	20.66 ± 0.87	1.00
	p-DCB	19.63 ± 1.13	21.11 ± 1.43	1.48
	p-DCB+HCHO	19.64 ± 1.11	20.50 ± 1.54	0.86

Value are mean ± SD (n=6).