

Fig. 3-2 アセトアルデヒド発生装置のガス発生原理は拡散法を使用した。

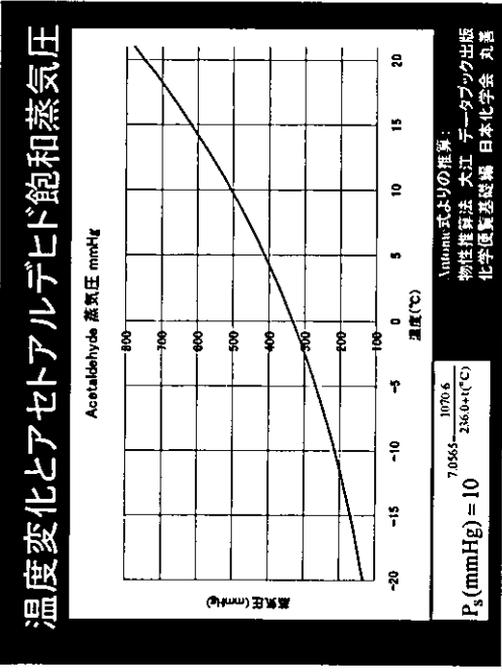


Fig. 3-3 拡散法にてアセトアルデヒドガスを発生させるに当たり使用した、アセトアルデヒド飽和蒸気圧のデータ

物性データとして 化学便覧 (日本化学会) のアントン式定数を使用し、アントン式にて飽和蒸気圧を求めた。



Fig. 3-4 拡散法にてアセトアルデヒドガスを発生させた際使用した理論式

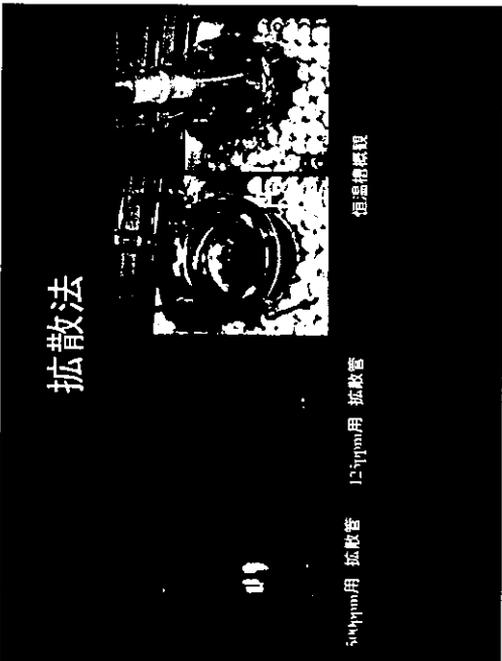


Fig. 3-5 アセトアルデヒドガス発生に際して使用した拡散管および恒温槽の概観

温度による濃度コントロール

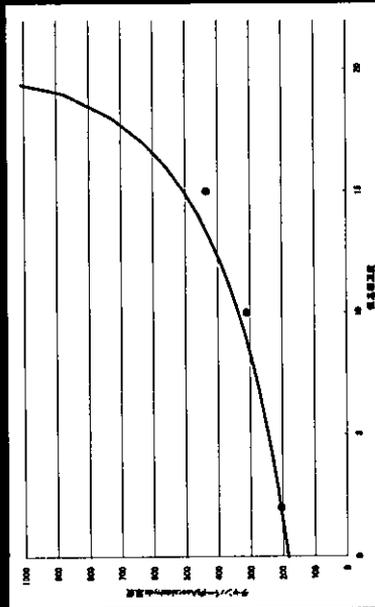


Fig. 3-6 アセトアルデヒドガス発生は、(1) 拡散管に投入したアセトアルデヒド溶液の液面の高さ (2) 拡散管の断面積 (3) ガス流量 (4) 恒温槽の温度調節で行った。黒丸は恒温槽の温度を変えた際の曝露チャンバー内のアセトアルデヒド濃度の実測値、桃色実線は理論式より導いた濃度予測値。

アセトアルデヒドガス曝露装置

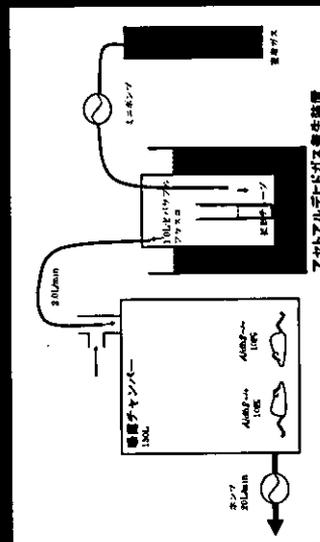


Fig. 3-7 アセトアルデヒドガス曝露装置の略図
 ガス発生装置には被検物質が酸化しないよう不活性ガスを投入。曝露チャンバー内の換気は18回/時
 間、曝露チャンバー内酸素濃度が18%以下にならないよう、アセトアルデヒドガス投入量は換気量の
 10%とした。

底面積500mm²時のチューブ長による濃度変動予測

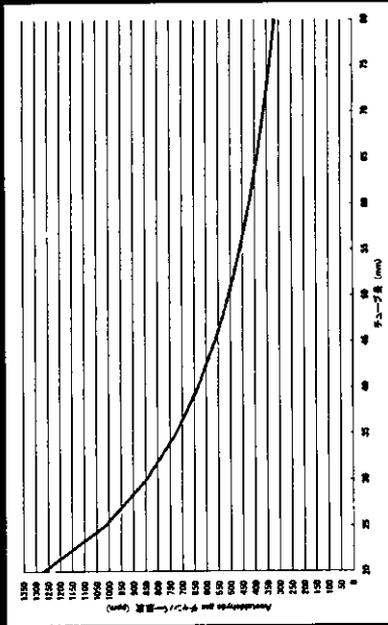


Fig. 3-8 アセトアルデヒドガス発生装置の濃度調節は (1) 拡散管に投入したアセトアルデヒド溶液の液面の高さ (2) 拡散管の断面積 (3) ガス流量 (4) 恒温槽の温度調節で行った。上図は (1) の変化によつての濃度変化の理論値、濃度変化の少ない液面の高さを使用した。

アセトアルデヒドガス発生装置

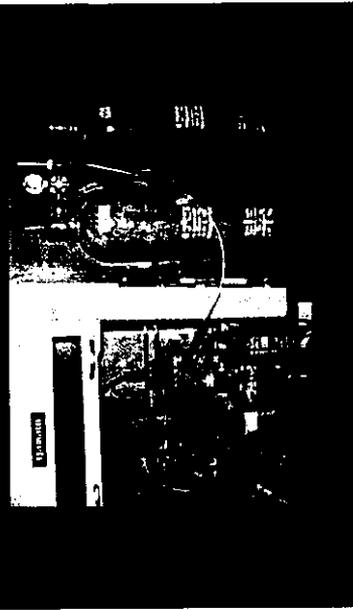


Fig. 3-9 アセトアルデヒドガス発生装置



Fig. 3-10 曝露チャンバー内のアセトアルデヒド濃度は3種類の測定法で濃度を確認した。

水晶振動子アセトアルデヒドガスセンサ

アセトアルデヒドが吸着
 アセトアルデヒドが脱着

アセトアルデヒド分子鏝型に吸着した分子の重量を検知し、濃度を水晶振動子の周波数変化として検出する。
 経時的観測が可能
 比較的安価
 計測が簡便
 湿度変化に影響を受ける
 競合物質に影響を受ける
 感度は現在のところ数10ppmまで

Fig. 3-11 水晶振動子アセトアルデヒドセンサの原理と特徴

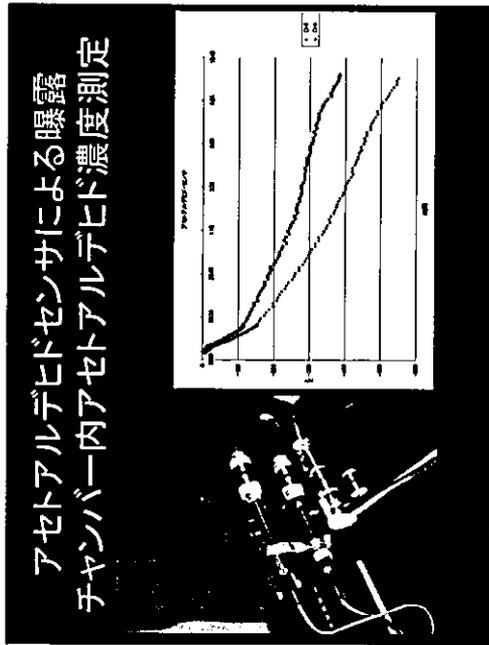


Fig. 3-12 水晶振動子アセトアルデヒドセンサによる曝露チャンバー内のアセトアルデヒド濃度の測定
 曝露チャンバーの2箇所に感度の異なるセンサを設置した。グラフは実際に500ppmのアセトアルデヒドを発生させた際の結果。アセトアルデヒド濃度が変化すると、センサの周波数が変化する。周波数変化を電圧変化として出力、記録したデータ。

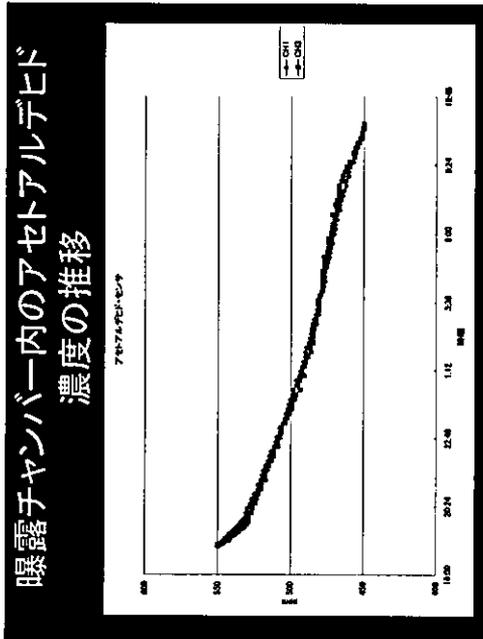


Fig. 3-13 曝露チャンバー内のアセトアルデヒド濃度変化
 前頁のデータ解析の結果。アセトアルデヒド濃度の変化は電圧変化のデータとして記録される。この電圧変化データをセンサ毎の物理定数(センサ一厚み、周波数特性等)を基にアセトアルデヒド濃度を計算した。曝露チャンバー内のアセトアルデヒド濃度は安定しており、時間とともに緩やかに低下していることが分かる。

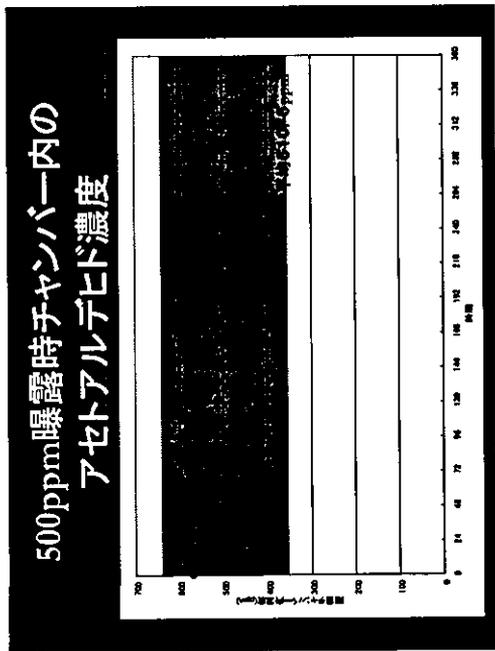


Fig. 3-14 14日間23時間/日500ppmアセトアルデヒド曝露時の曝露チャンバー内の濃度推移
後知管、センサによりアセトアルデヒド濃度を測定した。青色実線および点がチャンバー内アセト
アルデヒド濃度。緑細線は500ppm±30%の範囲を示している。500ppmアセトアルデヒド平均濃度は
510.5ppmであり、500ppm±30%のアセトアルデヒド曝露が行われたことが示された。

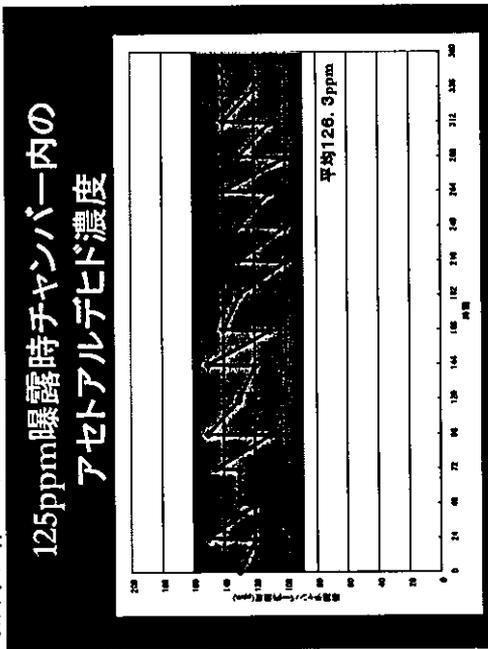


Fig. 3-15 14日間23時間/日125ppmアセトアルデヒド曝露時の曝露チャンバー内の濃度推移
後知管、センサによりアセトアルデヒド濃度を測定した。青色実線および点がチャンバー内アセト
アルデヒド濃度。緑細線は125ppm±30%の範囲を示している。アセトアルデヒド平均濃度は126.3ppm
であり、125ppm±30%のアセトアルデヒド曝露が行われたことが示された。

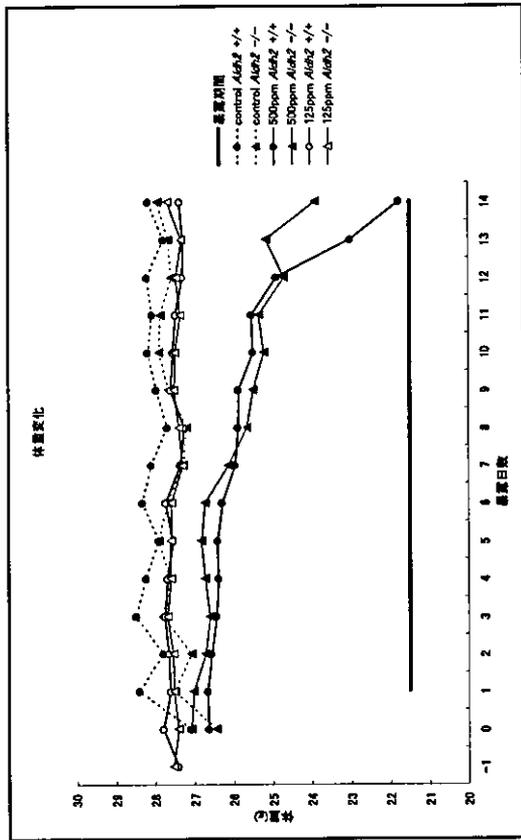


Fig. 3-16 アセトアルデヒド曝露による体重変化

125ppm, 500ppm アセトアルデヒド曝露時の血中アセトアルデヒド濃度の測定

1. Head-space GC-MS法 (Iase et al. 2002)を用いて血中アセトアルデヒド濃度を測定した。
2. アセトアルデヒド標準曲線

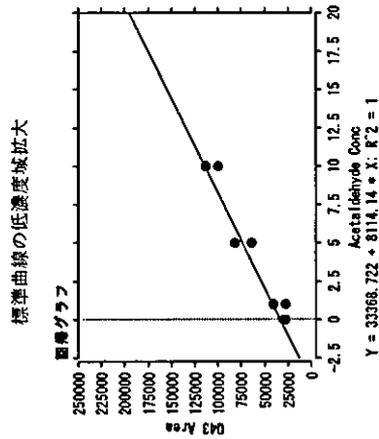
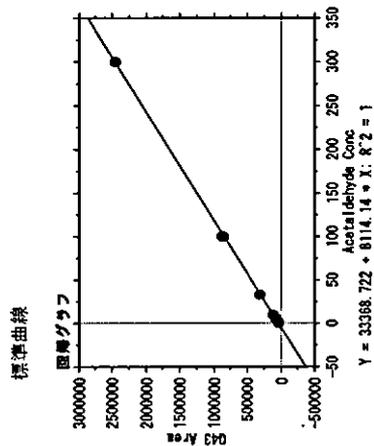


Table 3-2 アセトアルデヒド 2 週間曝露後の血中アセトアルデヒド濃度(μM)

	<i>Aldh2</i> +/+	<i>Aldh2</i> +/-
125ppm		
#1	1.27	1.52
#2	1.68	1.63
#3	2.01	4.03
Average	1.65	2.39
500ppm		
#1	1.06	5.33
#2	1.43	6.89
#3	2.67	14.49
Average	1.72	8.90

500ppm 曝露時の血中濃度のみより判断すると、*Aldh2*-/-の体内アセトアルデヒド曝露量を *Aldh2*+/-の体内曝露量まで削減するには、*Aldh2*-/-の投与曝露濃度を 5.6 分の 1 ずつならわら、約 90ppm とすればよいことが推算された。

一方、別の推算方として以下の仮定のもと、繰り返し薬物投与のコンパートメントモデルより体内曝露量削減の係数を求めた。アセトアルデヒド曝露内投与時の *Aldh2*-/-の血中濃度消失速度定数は *Aldh2*+/-に比べ 1.65 倍速いこと、解剖学的にアセトアルデヒド吸気部位の変化のないこと、アセトアルデヒド代謝能と呼吸数および循環動態などが 2 週間曝露前後で大きな差がないことと仮定した。この結果 *Aldh2*-/-の体内アセトアルデヒド曝露量を *Aldh2*+/-の体内曝露量まで削減するには、*Aldh2*-/-の投与曝露濃度を何分の 1 にすればよいか計算すると、6 分の 1~10 分の 1 という値が導き出された。

曝露動物の外観所見

- 外見所見
 - 目立った外見所見なし
 - 500ppm曝露群のみ呼吸音に喘鳴？
- 体重変化
 - 500ppm曝露群に有意な体重減少
 - 125ppm曝露群に体重増加停止傾向
 - Aldh2遺伝型による有意差なし

Fig. 3-17

曝露動物の肉眼的解剖所見

- 解剖所見
 - 目立った外見所見なし
 - 500ppm曝露群の消化管は空：食餌減少所見
 - 500ppm曝露群に鼻粘膜浮腫を認める
 - 500ppm曝露群に鼻粘膜浮腫はAldh2-の方がAldh2+/+より強い印象あり
 - 500ppm曝露群Aldh2遺伝子型で脾臓重量に差

Fig. 3-18

500ppm全身曝露マウスの臓器採取

- ホルモン固定
 - 脳腫 1匹
 - 喉頭-気道-気管支-肺(左葉) 10匹
 - 皮膚(背中、耳介) 10匹
 - 肝臓 10匹
- 凍結保存
 - 断頭体幹全血 1匹
 - 鼻腔粘膜 1匹
 - 血液 1匹
 - 肺(右葉) 10匹
 - 肝臓 10匹
- 生
 - 血液 10匹
 - 精巣上体 10匹
 - 精巣 10匹

Fig. 3-19

Table 1 Results of Hematoxylin-Eosin (HE) staining in *Alch2*^{+/+} and *Alch2*^{-/-} mice.
 (): The numbers of specimens.

	<i>Alch2</i> ^{+/+}				<i>Alch2</i> ^{-/-}			
	Control		Acetaldehyde exposure		Control		Acetaldehyde exposure	
	125ppm	500ppm	125ppm	500ppm	125ppm	500ppm	125ppm	500ppm
I. Nose (n)	(5)	(5)	(4)	(5)	(5)	(5)	(4)	(5)
A. Squamous epithelium								
Hyperkeratinization	0	0	0	4 (80%)	0	1 (25%)	5 (100%)	0
Broadness to respiratory epithelium	0	0	0	0	0	0	0	0
Erosion	0	0	0	0	0	0	0	0
Degeneration (atrophy)	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight								
Moderately								
Severe								
Hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight								
Moderately								
Severe								
B. Respiratory epithelium								
Broadness to olfactory epithelium	0	0	0	0	0	0	0	0
Erosion	0	0	1 (25%)	1 (20%)	0	0	0	5 (100%) (Ulcer!)
Degeneration (atrophy)	0	0	2 (50%)	3 (60%)	0	0	3 (75%)	4 (80%)
Slight			0	1	0	0	0	0
Moderately			2	2	3	3	2	2
Severe			0	0	0	0	0	2

1. 鼻腔のトリミング



嗅球を傷つけないように注意して脳を取り出す。



嗅頭鼻部より固定液を注入する。
 固定液に頭部を浸し、次に嗅頭鼻部から固定液を注入し、鼻腔内の空気を押し出す(気泡が出なくなるまで)。

Fig. 3-20

Edema	0	0	0	0	0	0	0	0	0
II. Nasal cavity	(5)	(4)	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)	(5)
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	1 (25%)	1 (20%)
Exudate	0	0	4 (80%)	0	0	0	0	5	(100%)
III. Paranasal sinuses	(5)	(4)	(5)	(5)	(4)	(5)	(4)	(5)	(5)
Sinusitis	0	0	1 (20%) (Hemorrhage?)	0	0	0	0	0	0
IV. Larynx, pharynx and trachea	(7)	(4)	(7)	(6)	(4)	(6)	(4)	(6)	(6)
A. Respiratory epithelium									
Erosion	1 (14%)	4 (100%)	1 (14%)	2 (25%)	3 (75%)	3 (35%)	3 (75%)	3 (35%)	3 (35%)
Degeneration (atrophy, disarrangement)	0	3 (75%)	0	0	0	0	0	3 (75%)	4 (44%)
Slight		1						2	2
Moderately		2						1	2
Severe		0						0	0
Hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
Squamous cell metaplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
Goblet cell metaplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
B. Subepithelium									
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Teleangiectasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Teleangiectasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
Squamous cell metaplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
Goblet cell metaplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
C. Olfactory epithelium									
Erosion	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Degeneration (atrophy, disarrangement)	0	1 (20%)	0	0	0	0	0	1 (20%)	1 (20%)
Slight		1						1	1
Moderately		0						0	0
Severe		0						0	0
Hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
Metaplasia to squamous epithelium	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
Metaplasia to respiratory epithelium	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slight									
Moderately									
Severe									
D. Subepithelium									
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	2 (50%)	4 (60%)
Teleangiectasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Infiltrate of inflammatory cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Infiltrate of inflammatory cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V. Tracheal cavity	(7)	(4)	(7)	(9)	(4)	(9)			(9)
Hemorrhage	0	0	1 (14%)	2 (22%)	0	1 (11%)			1 (11%)
VI. Lung	(10)	(4)	(10)	(9)	(4)	(10)			(10)
A. Bronchus									
Hemorrhage in bronchus	1 (10%)	0	0	1 (11%)	0	0			0
Erosion	0	0	0	0	0	0			0
Degeneration (atrophy)	0	0	0	0	0	0			0
Disarrangement)									
Slight									
Moderately									
Severe									
Hyperplasia	0	0	0	0	0	0			0
Slight									
Moderately									
Severe									
Squamous cell metaplasia	0	0	0	0	0	0			0
Slight									
Moderately									
Severe									
Goblet cell metaplasia	0	0	0	0	0	0			0
Slight									
Moderately									
Severe									
B. Pulmonary parenchyma									
Alveolar hemorrhage	2 (20%)	0	4 (40%)	1 (11%)	1 (25%)	2 (20%)			2 (20%)
Interstitial thickness	0	0	0	0	0	0			0
Peribronchial changes	0	0	0	0	0	0			0
Hemorrhage									
Edema									
Infiltrate of inflammatory cells									

VII. Liver	(10)	(4)	(10)	(10)	(4)	(10)			(10)
Changes near central vein	0	0	0	0	0	0			0
Hemorrhage									
Edema									
Infiltrate of inflammatory cells									
Degeneration									
Necrosis or apoptosis									
Changes near interlobular vessels	1 (10%)	2 (50%)	6 (60%)	2 (20%)	2 (50%)	6 (60%)			6 (60%)
Hemorrhage									
Edema									
Infiltrate of inflammatory cells									
Degeneration									
Necrosis or apoptosis	1	2	6	2	2	6			6

VIII. Auricle	(10)	(0)	(10)	(10)	(0)	(9)			
A. Squamous epithelium									
Hyperkeratinization	0		10 (100%)	5 (50%)		8 (89%)			0
Degeneration (atrophy, disarrangement)	0		0	0		0			0
Slight									
Moderately									
Severe									
Hyperplasia	0		0	0		0			0
Slight									
Moderately									
Severe									
B. Subepithelium									
Hemorrhage	0		0	0		0			0
Teleangiectasia	0		0	0		0			0
Infiltrate of inflammatory cells	0		0	0		0			0
Edema	0		0	0		0			0

	(10)	(0)	(10)	(10)	(10)	(9)
IX. Dorsal skin						
A. Squamous epithelium						
Hyperkeratinization	0	0	0	0	0	0
Degeneration (atrophy, disarrangement)	0	0	0	0	0	7 (75%)
Slight						3
Moderately						4
Severe						0
Hyperplasia	0	0	0	0	0	0
Slight						
Moderately						
Severe						
B. Subepithelium						
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0
Teleangiectasia	0	0	0	0	0	0
Infiltrate of inflammatory cells	0	0	0	0	0	0
Edema	0	0	0	0	0	0

Figure I-1 Nose
A Vertical view of the section levels for microscopic examination
B Distribution of three kinds of nasal epithelium

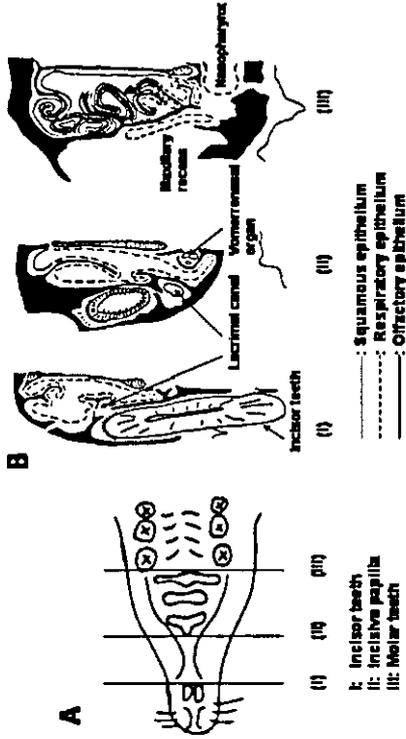
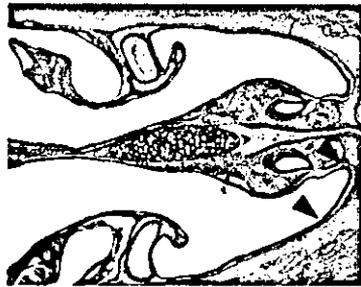
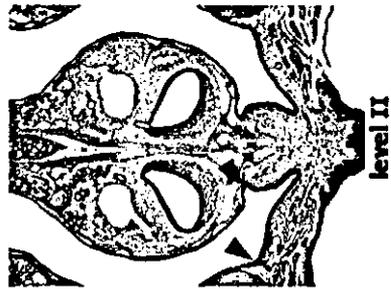


Figure I-2 Nose
Squamous epithelium
level I, *Aklh2* +/+ , control



level I

Arrow: squamous epithelium



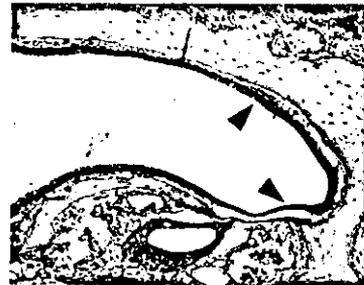
level II

Figure I-4 Nose
Squamous epithelium
level II, *Aklh2* +/+ , control



Arrow: squamous epithelium

Figure I-3 Nose
Squamous epithelium
level I, *Aklh2* +/+ , control



Arrow: squamous epithelium

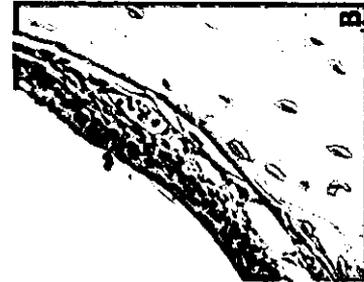


Figure I-5 Nose
Squamous epithelium: Hyperkeratosis and keratinosis
level II, *Aklh2* +/+ , 500ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-6 Nose
Squamous epithelium: Hyperkeratosis
level I, *Ahh2*^{-/-}, 125ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-7 Nose
Squamous epithelium: Hyperkeratosis and keratinosis;
level I&II, *Ahh2*^{-/-}, 500ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-8 Nose
Respiratory epithelium
level II&III, *Ahh2*^{+/+} control

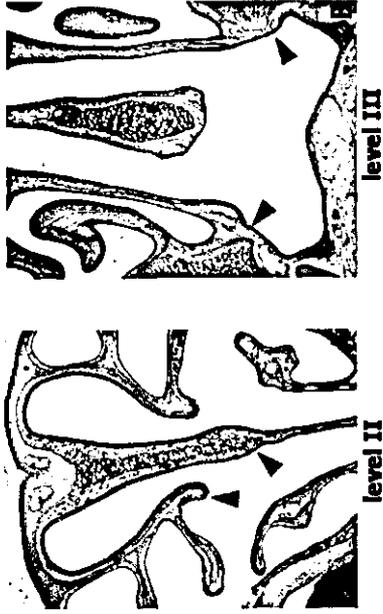


Figure I-9 Nose
Respiratory epithelium
level II, *Ahh2*^{+/+} control



Figure I-10 Nose
Respiratory and olfactory epithelium
level I, *Ah/a2* +/+ , control



Figure I-12 Nose
Respiratory epithelium, Erosion
level I, *Ah/a2* +/+ , 500ppm acetaldehyde exposure case

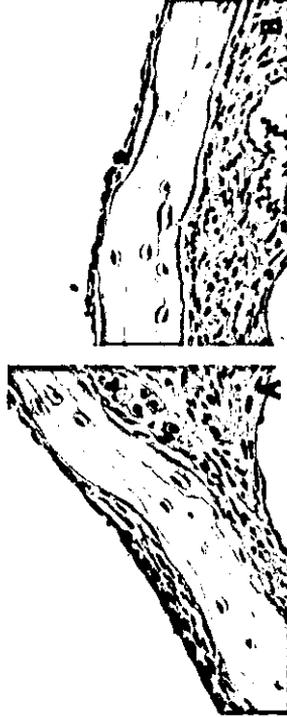


Figure I-11 Nose
Respiratory epithelium; Erosion
level I, *Ah/a2* +/+ , 125ppm acetaldehyde exposure case

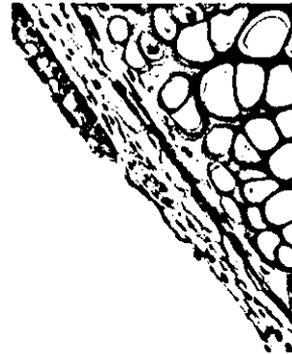


Figure I-13 Nose
Respiratory epithelium: Ulcer and nasal septum erosion
level II, *Ah/a2* -/- , 500ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-14 Nose
Respiratory epithelium: Moderately degeneration
level 1, *Alk2* +/+ , 125ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-16 Nose
Respiratory epithelium: Moderately degeneration
level II, *Alk2* -/- , 125ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-15 Nose
Respiratory epithelium: Slightly and moderately degeneration
level 1, *Alk2* +/+ , 500ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-17 Nose
Respiratory epithelium: Moderately and severe degeneration
level II, *Alk2* -/- , 500ppm acetaldehyde exposure case



Figure I-18 Nose
Olfactory epithelium
level II, *Alh2 +/+*, control



Figure I-19 Nose
Olfactory epithelium, Slightly degeneration
level II, *Alh2 +/+* and *Alh2 -/-*, 500ppm acetaldehyde
exposure case

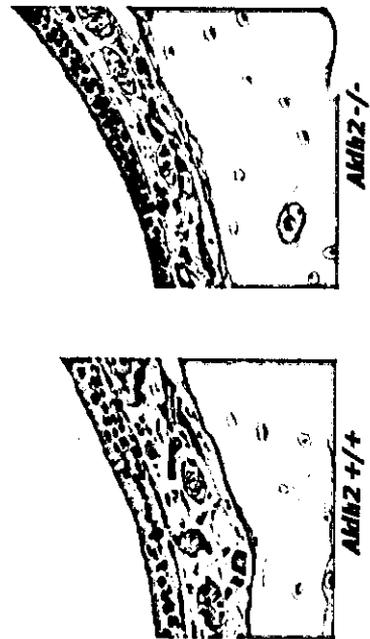
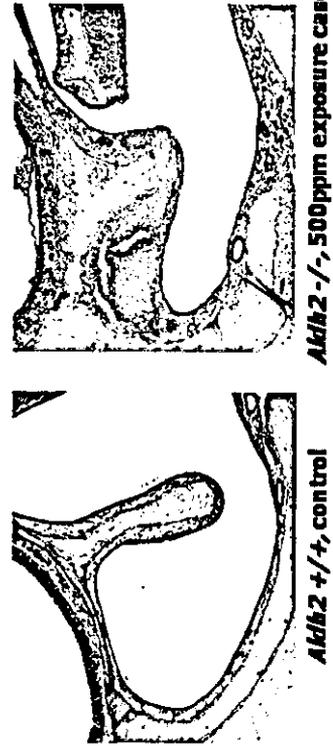


Figure I-20 Nose
Subepithelium: Hemorrhage
level I, *Alh2 -/-*, 125ppm acetaldehyde exposure case



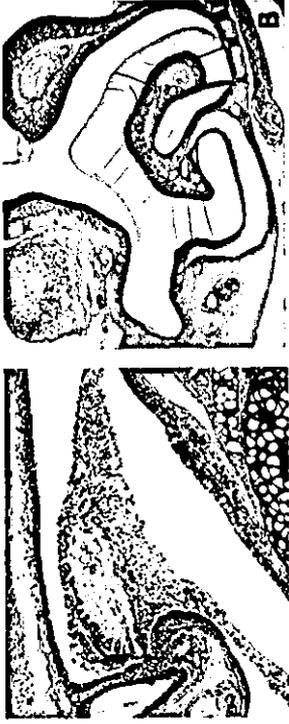
Figure I-21 Nose
Subepithelium: Hemorrhage
level I, *Alh2 +/+*, control and *Alh2 -/-*, 500ppm acetaldehyde
exposure case



**Figure I-22 Nose
Subepithelium and nasal cavity: Hemorrhage and exudate;
level I, *Alk2*^{-/-}, 500ppm acetaldehyde exposure case**



**Figure II-2 Nasal cavity
Exudate
level I&II, *Alk2*^{+/+}, 500ppm acetaldehyde exposure case**



**Figure II-1 Nasal cavity
Hemorrhage
level III, *Alk2*^{-/-}, 125ppm acetaldehyde exposure case**



**Figure II-3 Nasal cavity
Hemorrhage and Exudate
level III, *Alk2*^{-/-}, 500ppm acetaldehyde exposure case**



Figure III-1 Paranasal sinuses level II, *Ahh2 +/+*, control



Figure IV-1 Larynx, pharynx and trachea *Ahh2 +/+*, control

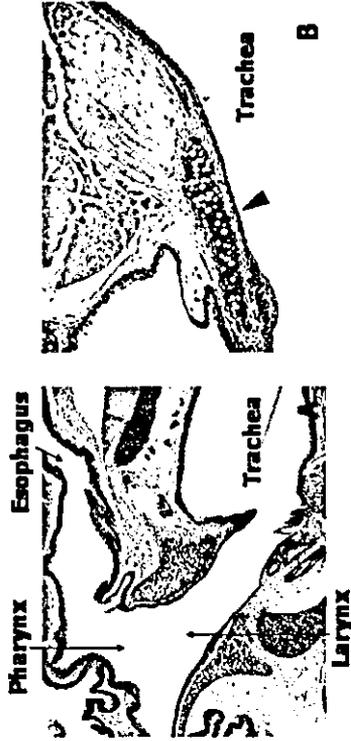


Figure III-2 Paranasal sinuses Normal and hemorrhage level II, *Ahh2 +/+*, 500ppm acetaldehyde exposure case

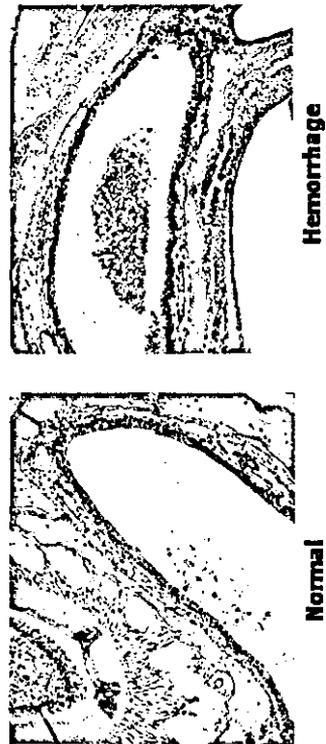
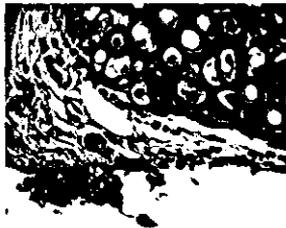


Figure IV-2 Trachea Erosion *Ahh2 +/+*, control and 125ppm acetaldehyde exposure case

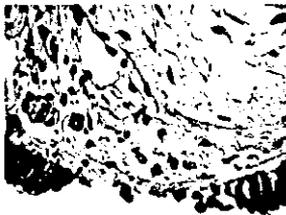


Figure IV-3 Trachea
Erosion

***Ahh2* -/-, 125ppm and 500ppm acetaldehyde exposure case**



125ppm exposure case



500ppm exposure case

Figure IV-5 Trachea
Moderately degeneration

***Ahh2* -/-, 125ppm acetaldehyde exposure case**

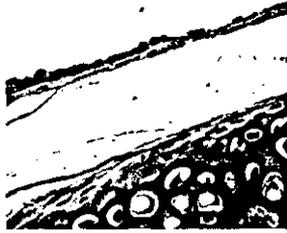


Figure IV-4 Trachea
Slight and Moderately degeneration

***Ahh2* +/-, 125ppm acetaldehyde exposure case**

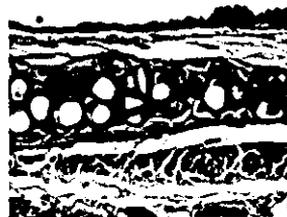


Figure IV-6 Trachea
Slight and Moderately degeneration

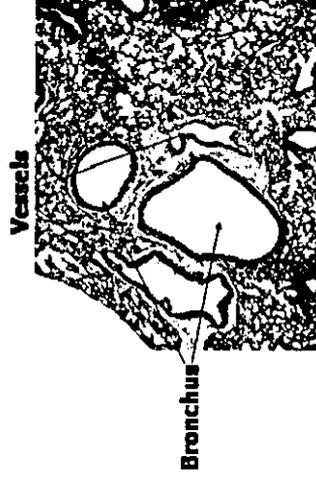
***Ahh2* -/-, 50ppm acetaldehyde exposure case**



**Figure V-1 Tracheal cavity
Hemorrhage and erosion
Aklh2 +/+, 500ppm acetaldehyde exposure case**



**Figure VI-1 Lung
Aklh2 +/+, control**



**Figure V-2 Tracheal cavity
Hemorrhage and erosion
Aklh2 -/-, control**



**Figure VI-2 Lung
Bronchial hemorrhage
Aklh2 +/+, control**

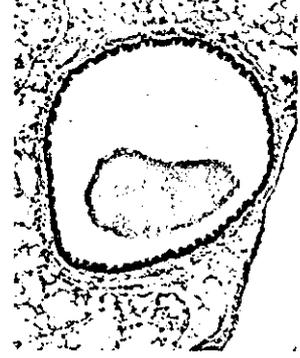


Figure VI-3 Lung
Alveolar hemorrhage
***Aklh2 +/+*, control**



Figure VI-5 Lung
Alveolar hemorrhage
***Aklh2 -/-*, 125 and 500ppm acetaldehyde exposure case**

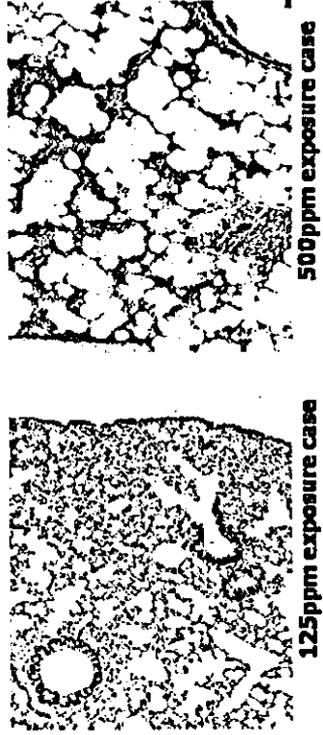


Figure VI-4 Lung
Alveolar hemorrhage
***Aklh2 +/+*, 500ppm acetaldehyde exposure case**

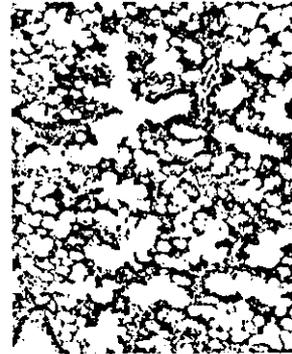


Figure VII-1 Liver
***Aklh2 +/+*, control**

