

肝、肺及び脳のmRNA測定用サンプルは4℃で一晩保存後、肝はサンプル重量測定し、超低温庫（-80℃）で凍結して保存した。

これらの保存サンプルは、解剖から1週間以内にドライアイスを詰めて、下記宛先に送付した。

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

毒性部 高橋 裕次

2-3-4 病理学的検査

(1) 剖検

全ての解剖動物について、肝、肺及び脳の肉眼的観察を行った。

(2) 臓器重量

全ての解剖動物について、肝の湿重量を測定した。

(3) 病理組織学的検査

2-3-3に記載した病理組織学検査用に採取した肝、肺及び脳について、切り出し、パラフィン包埋した。その後、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡により検査し、病理組織診断結果のみを報告した。なお、病理標本（パラフィンブロックとプレパラート）は日本バイオアッセイ研究センターで保管する。

2-4 数値の取り扱いと表示

各数値データは、測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は ppm を単位として測定し、表示した。

体重は g を単位とし、小数点以下第 1 位まで測定し、表示した。

臓器湿重量は、g を単位とし、小数点以下第 3 位まで測定し、表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は、上記に示す桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

3 試験成績

3-1 吸入チャンバー内の被験物質濃度

吸入チャンバー内の被験物質濃度を表 4 に示した。吸入チャンバー内の被験物質濃度は、目標投与濃度 0.03、0.10 及び 0.3 ppm に対し、測定値の平均±標準偏差は、それぞれ 0.0311 ± 0.0003 ppm、 0.105 ± 0.003 ppm 及び 0.312 ± 0.005 ppm であった。

3-2 動物の生死及び一般状態

全ての動物が、定期解剖時まで生存した。また、いずれの動物も特記すべき一般状態の変化を認めなかった。

3-3 体重

解剖時の体重(g)を表 5 に示した。

3-4 病理学的検査

3-4-1 剖検観察

肝、肺及び脳の剖検所見を表 6 に示した。

いずれの動物も特記すべき変化を認めなかった。

3-4-2 臓器重量

肝臓湿重量(g)を表 5 に示した。

3-4-3 病理組織学的検査

肝、肺及び脳の病理組織学的検査の結果を表 7 に示した。

いずれの動物も被験物質の影響は特に認めなかった。

表 1 吸入チャンバー内環境の測定結果：温度（2時間／日、単回暴露）

単位：℃

チャンバー 群	CH-1 対照群	CH-2 0.03 ppm 群	CH-3 0.10 ppm 群	CH-4 0.30 ppm 群
全期間				
平均値	22.5	22.4	22.7	22.4
標準偏差	0.1	0.1	0.1	0.2
時間別平均値				
投与開始～投与終了時	22.5	22.3	22.8	22.2
投与開始～投与開始 4 時間目	22.4	22.4	22.7	22.5
投与開始～投与開始 8 時間目	22.5	22.4	22.6	22.5
投与開始～投与開始 24 時間目	22.5	22.5	22.6	22.5

表 2 吸入チャンバー内環境の測定結果：湿度（2時間／日、単回暴露）

単位：%

チャンバー 群	CH-1 対照群	CH-2 0.03 ppm 群	CH-3 0.10 ppm 群	CH-4 0.30 ppm 群
全期間				
平均値	53.1	55.0	54.4	56.9
標準偏差	0.4	0.6	0.4	0.7
時間別平均値				
投与開始～投与終了時	53.2	55.3	54.5	57.7
投与開始～投与開始 4 時間目	52.9	54.5	54.1	56.5
投与開始～投与開始 8 時間目	52.8	54.5	54.1	56.1
投与開始～投与開始 24 時間目	53.6	55.6	55.0	57.1

表 3 吸入チャンバー内環境の測定結果：換気量と換気回数（2時間／日、単回暴露）

単位：換気量 L/min 換気回数 回/時

チャンバー 群	CH-1		CH-2		CH-3		CH-4	
	対照群		0.03 ppm 群		0.10 ppm 群		0.30 ppm 群	
	換気量	換気回数	換気量	換気回数	換気量	換気回数	換気量	換気回数
全期間								
平均値	211.8	12.0	213.1	12.1	213.0	12.1	212.2	12.0
標準偏差	0.5	0.0	0.8	0.1	0.5	0.1	0.6	0.0
時間別平均値								
投与開始～ 投与終了時	211.0	11.9	212.8	12.0	212.8	12.0	211.5	12.0
投与開始～ 投与開始4時間目	212.2	12.0	214.1	12.1	213.5	12.1	212.9	12.1
投与開始～ 投与開始8時間目	212.0	12.0	213.1	12.1	213.1	12.1	212.6	12.0
投与開始～ 投与開始24時間目	211.9	12.0	212.3	12.0	212.4	12.0	211.9	12.0

表 4 吸入チャンバー内の被験物質濃度 (2 時間/日、単回暴露)

	単位 : ppm			
	対照群	0.03 ppm群	0.10 ppm群	0.30 ppm群
平均濃度	0	0.0311	0.105	0.312
標準偏差	0	0.0003	0.003	0.005

表 5 解剖時体重及び肝臓重量 (2時間/日、単回暴露)

投与終了時解剖

群	動物番号	解剖時体重 (g)	肝臓重量 (g)	肝臓重量 平均値(g)	肝臓重量 標準偏差(g)
対照群	1001	25.6	1.295	1.203	0.090
	1002	23.5	1.199		
	1003	24.6	1.116		
0.03 ppm 群	1101	23.6	1.095	1.243	0.175
	1102	27.7	1.436		
	1103	25.8	1.198		
0.10 ppm 群	1201	25.3	1.284	1.181	0.128
	1202	23.6	1.038		
	1203	23.8	1.220		
0.30 ppm 群	1301	24.8	1.301	1.287	0.111
	1302	27.1	1.391		
	1303	25.3	1.170		

投与開始 4 時間目解剖

群	動物番号	解剖時体重 (g)	肝臓重量 (g)	肝臓重量 平均値(g)	肝臓重量 標準偏差(g)
対照群	1004	24.2	1.056	1.161	0.091
	1005	25.8	1.201		
	1006	26.8	1.225		
0.03 ppm 群	1104	23.3	1.048	1.134	0.078
	1105	24.2	1.151		
	1106	24.9	1.202		
0.10 ppm 群	1204	25.5	1.279	1.221	0.113
	1205	24.8	1.091		
	1206	25.7	1.294		
0.30 ppm 群	1304	24.4	1.176	1.209	0.110
	1305	23.8	1.119		
	1306	25.7	1.331		

投与開始 8 時間目解剖

群	動物番号	解剖時体重 (g)	肝臓重量 (g)	肝臓重量 平均値(g)	肝臓重量 標準偏差(g)
対照群	1007	25.0	1.049	1.038	0.010
	1008	24.2	1.029		
	1009	25.4	1.036		
0.03 ppm 群	1107	24.9	1.094	1.142	0.111
	1108	24.5	1.063		
	1109	26.7	1.268		
0.10 ppm 群	1207	25.5	0.886	1.011	0.110
	1208	26.6	1.093		
	1209	24.8	1.055		
0.30 ppm 群	1307	24.5	1.072	1.136	0.058
	1308	25.7	1.186		
	1309	26.5	1.150		

投与開始 24 時間目解剖

群	動物番号	解剖時体重 (g)	肝臓重量 (g)	肝臓重量 平均値(g)	肝臓重量 標準偏差(g)
対照群	1010	24.7	1.214	1.345	0.154
	1011	25.6	1.306		
	1012	27.6	1.515		
0.03 ppm 群	1110	26.9	1.448	1.398	0.111
	1111	25.5	1.271		
	1112	27.3	1.476		
0.10 ppm 群	1210	25.3	1.348	1.209	0.142
	1211	25.2	1.214		
	1212	27.8	1.064		
0.30 ppm 群	1310	26.5	1.538	1.339	0.189
	1311	23.9	1.162		
	1312	25.3	1.317		

表 6 剖検所見 (2時間/日、単回暴露)

投与終了時解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1001	著変なし	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1101	著変なし	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1201	著変なし	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1301	著変なし	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし	著変なし

投与開始 4 時間目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1004	著変なし	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1104	著変なし	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1204	著変なし	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1304	著変なし	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし	著変なし

投与開始 8 時間目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1007	著変なし	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1107	著変なし	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1207	著変なし	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1307	著変なし	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし	著変なし

投与開始 24 時間目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1010	著変なし	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1110	著変なし	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1210	著変なし	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1310	著変なし	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし	著変なし

表 7 病理組織所見 (2時間/日、単回暴露)

投与終了時解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1001	著変なし	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1101	著変なし	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1201	著変なし	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1301	著変なし	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし	著変なし

投与開始 4 時間目解剖

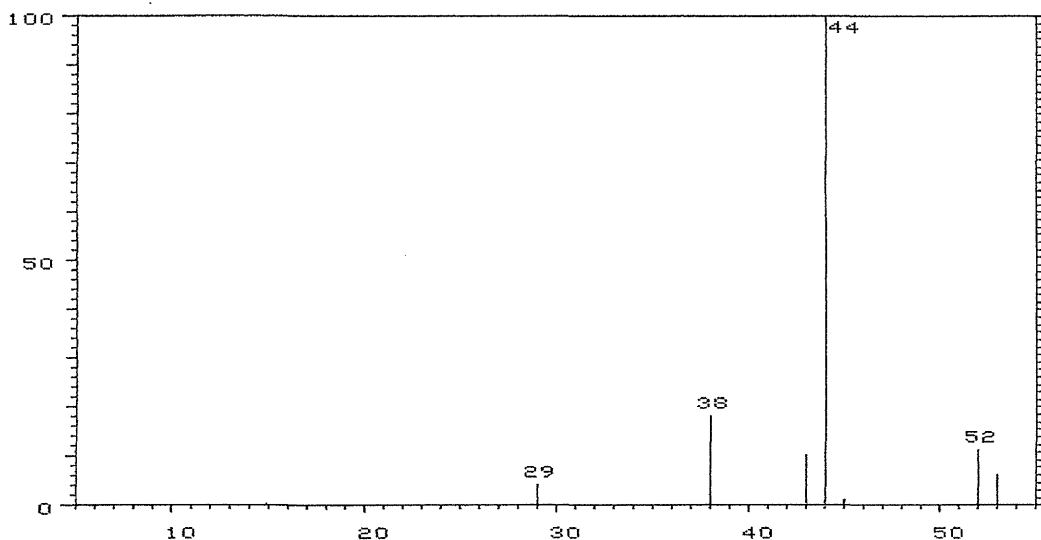
群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1004	著変なし	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1104	著変なし	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1204	著変なし	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1304	著変なし	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし	著変なし

投与開始 8 時間目解剖

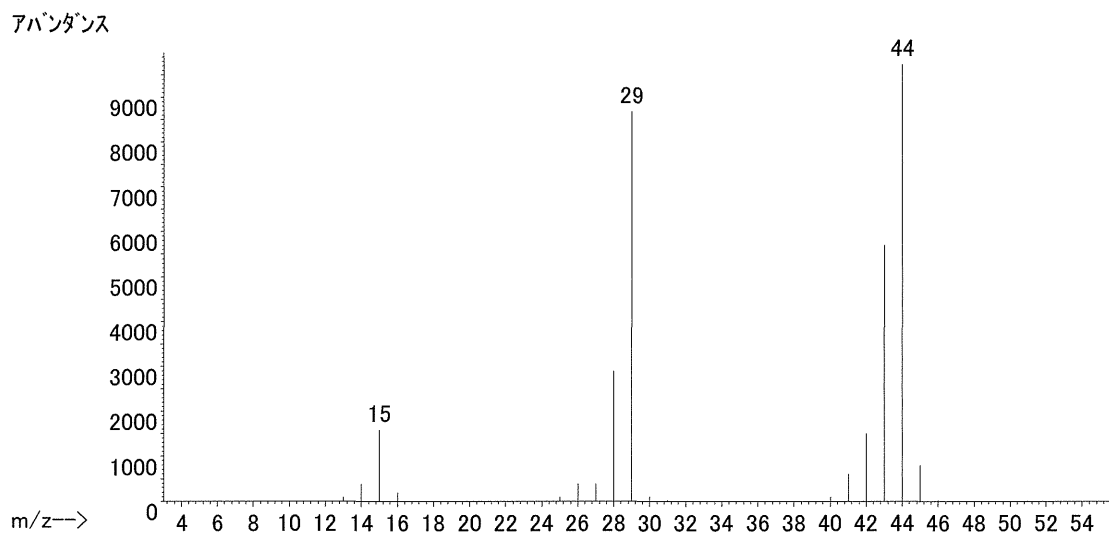
群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1007	著変なし	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1107	著変なし	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1207	著変なし	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1307	著変なし	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし	著変なし

投与開始 24 時間目解剖

群	動物番号	肝臓	肺	脳
対照群	1010	著変なし	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし	著変なし
0.03 ppm 群	1110	著変なし	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし	著変なし
0.10 ppm 群	1210	著変なし	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし	著変なし
0.30 ppm 群	1310	著変なし	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし	著変なし



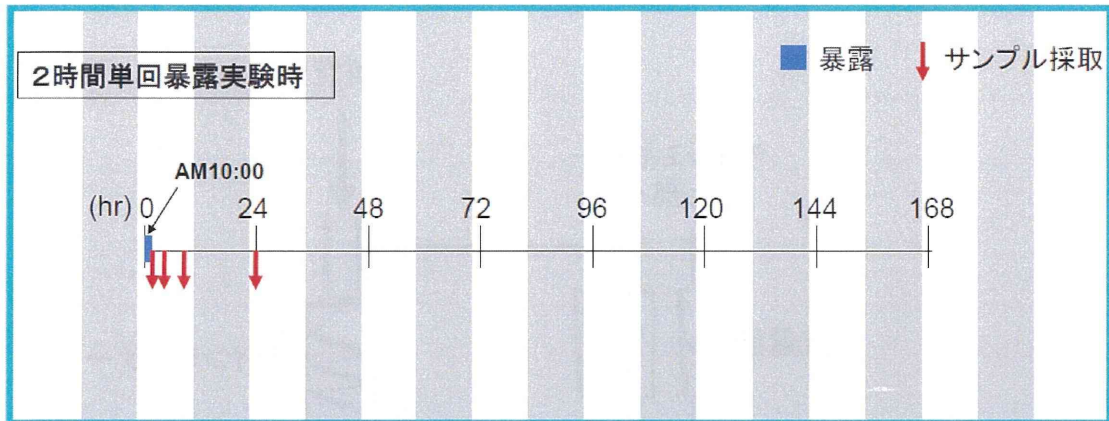
被験物質のマスペクトル



アセトアルデヒドのマスペクトル

McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data.
6th ed. New York, NY:John Wiley and Sons.

図1 マスペクトル



暴露2、4、8、24時間後に観測 [刻：12時、14時、18時、10時]

図2 試験スケジュール (2時間/日、単回暴露)

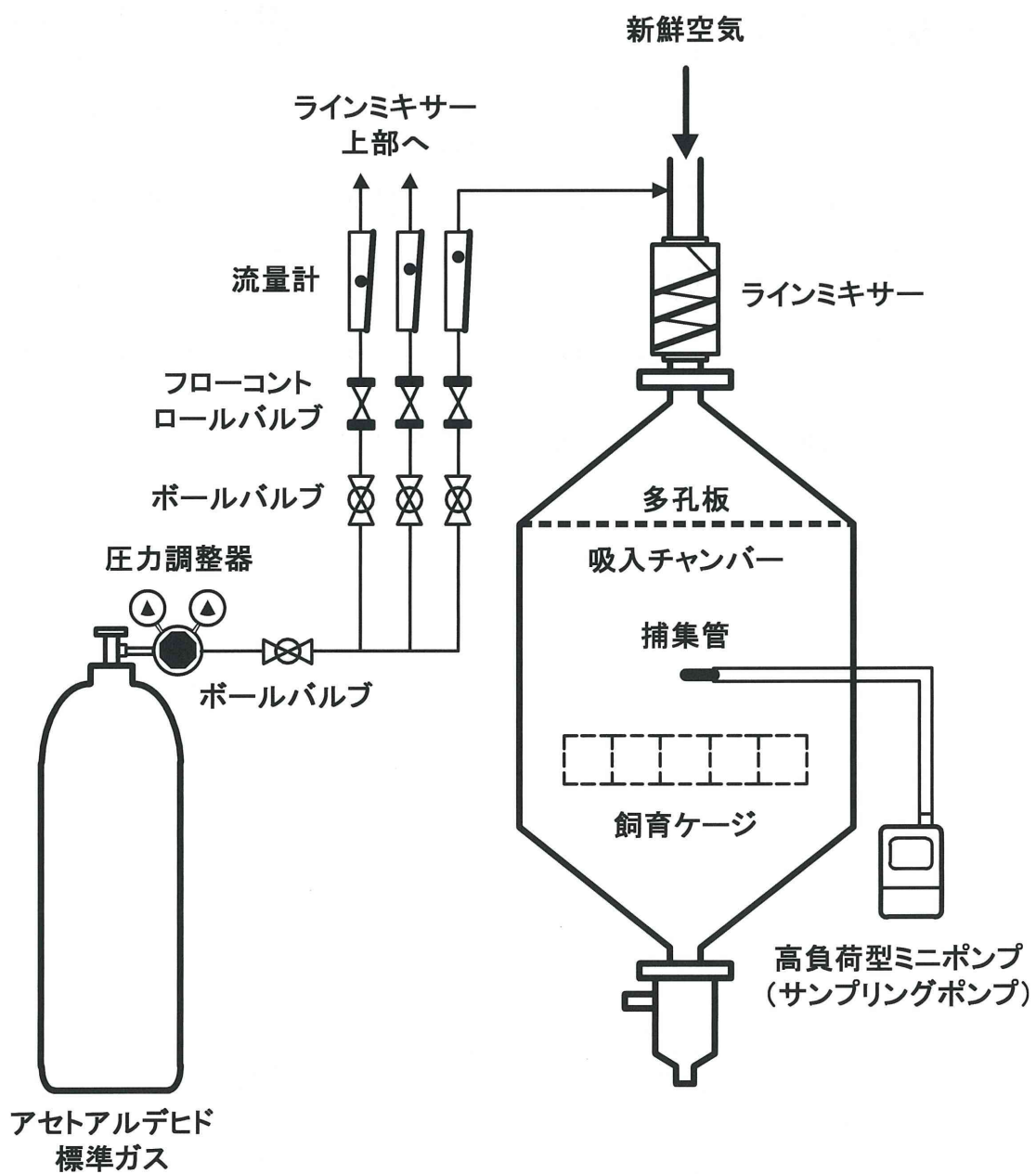


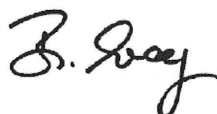
図3 吸入装置のシステム

別紙-1

SIGMA-ALDRICH®3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA
Email USA: techserv@sial.com Outside USA: eurtechserv@sial.com**Certificate of Analysis**

Product Name: ACETALDEHYDE
ReagentPlus™
Product Number: 00071
Batch Number: STBD7279V
Brand: Fluka
CAS Number: 75-07-0
Formula: CH₃CHO
Formula Weight: 44.05
Storage Temperature: 2-8 C
Quality Release Date: 19 DEC 2013

TEST	SPECIFICATION	RESULT
APPEARANCE (COLOR)	COLORLESS	COLORLESS
APPEARANCE (FORM)	LIQUID	LIQUID
PURITY (GC AREA %)	≥ 99.0 %	> 99.9 %
REFRACTIVE INDEX N20/D	1.331 - 1.333	1.332
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS
ACIDITY	≤ 1 % (AS ACOH)	0.1 %



Dr. Beril Eray, Manager
 Quality Control
 Steinheim, Germany

Sigma-Aldrich warrants that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

ガス分析試験成績書

2015年4月17日

No.15503027901

御注文先


 **高千穂化学工業株式会社**
 町田事業所 計測ガス工場
 〒194-0004
 東京都町田市鶴間1557
 TEL.042-796-5501 FAX.042-795-7163

殿

ガス名	容器番号
GAS MIXTURE	CQB 13320
試験方法	GAS CHROMATOGRAPHY METHOD
容器種類、材質	47 L (アルミ)(アルミニウム)
充填量	11.8MPa
充填日	2015/ 3/26
分析日	2015/ 4/17
室内温度	20℃
貯蔵温度	0℃ ~ 35℃
出荷条件	容器賃貸(2016/ 4迄)
備考	

ガス名	分析値	仕様
Acetaldehyde	50.6 ppm	50 ppm
Nitrogen	Balance	

試験結果

分析責任者 	総合判定	合格
--	------	----

平成 27 年度厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業、H26-化学一般-001）
分担研究報告書

分担研究課題： 人への外挿にかかわる臨床的解析、及びヒト気道上皮細胞系による
毒性応答メカニズムの研究

研究分担者 慶長直人（公財）結核予防会 結核研究所 生体防御部 部長

研究協力者 松下育美、土方美奈子 同部

研究要旨 化学物質が気道を通じて吸入される場合、低濃度でも人体に有害な影響を与えることが知られており、シックハウス症候群として総称されているが、背景にどのようなメカニズムが存在するか十分に解明されていない。シックハウス症候群について、ヒトの細胞モデル系を構築することは、その発症メカニズムを知る上で重要な研究方法の一つと考えられる。ヒトの肺は常に外界の吸入粉塵や微生物に曝されており、そこに吸入化学物質が加わった場合、相乗的に気道系の炎症が惹起される可能性があり、我々はこれまでそのモデルとして、ヒト気道上皮細胞株を用いて炎症応答に対するホルムアルデヒド添加による *in vitro* での影響を検討してきた。本年度、これまで指標としてきた炎症応答関連のサイトカインに加え、実験動物による吸入毒性試験において遺伝子発現の変動が見られた因子(DUSP1)について、複合効果の有無を検討した。また、同様の実験動物による吸入毒性試験において、吸入暴露後の情動認知行動の異常が認められたキシレンについては、動物モデルで有意な遺伝子発現変化が報告された IL-1 β の変動についても検討した。DUSP1 については、パラジクロロベンゼン、キシレン、クロルピリホス、アセトアルデヒド等いくつかの化学物質の存在下で、遺伝子発現増強傾向が認められた。また、キシレンに関しては、poly I:C 単独に比べて、poly I:C+キシレンで、単球および T 細胞の組織浸潤に関与する MCP-1、及び好酸球遊走に関与する RANTES の軽度の産生増強傾向が認められた。また、IL-1 β の発現量については、タンパクレベルでは差がみられなかったが、mRNA については、polyI:C 刺激に関わらず、高濃度添加した場合には、IL-1 β mRNA の発現が上昇した。DUSP1 遺伝子発現に対する化学物質の効果が認められたが、必ずしも動物モデルと細胞モデルで、増強、減弱の方向が一致していなかった。今後、シックハウス症候群の細胞モデルにおいて変動の認められる遺伝子として、IL-1 β と DUSP1 は、さらに注意深く検討することが必要と思われた。

A. 研究目的

ヒトの肺は、常に外界の吸入粉塵や微生物に曝されており、これまで無菌であると考えられていた肺にも microbiome 解析を試みると、従来の方法では分離培養できない微生物の核酸が数多く見いだされることが近年、明らかになっている。ここに吸入化学物質が加わった場合、相乗的に気道系の炎症が誘発される可能性がある。環境中の微量な化学物質に反応して心身の不調を引き起こす「シックハウス症候群」に関連して指針に定められている 13 種の化学物質のうち、これま

で我々はホルムアルデヒドを中心に検討を重ねてきた。すなわち、気道上皮細胞の炎症応答に及ぼす影響を検討するため、ヒト気道上皮細胞株 BEAS2B を用いて、日常的な経気道性のウイルス曝露などを念頭に置いた poly I:C の低濃度刺激下での炎症応答に対する化学物質添加による *in vitro* での影響を定量 RT-PCR で検出する系を確立してきた。ホルムアルデヒドの系ではさらに、培養上清中のサイトカイン、ケモカイン類を測定し、さらにシグナル伝達に関するタンパクのリン酸化について検討を行ない、polyI:C によ

る IL-8 遺伝子発現がそれら3つの主要なシグナル伝達系に依存していること、特に JNK 系が IL-8 遺伝子増強効果に関わっている可能性を示した。

これまで確立したヒト気道上皮細胞系による poly I:C の低濃度刺激下での化学物質添加による炎症応答への影響を検討する *in vitro* 実験系において、シックハウス症候群関連 13 化学物質のうち、9 種類の化学物質の影響を検討してきたが、本年度はこれらから得られた基礎データと吸入曝露動物モデルにより得られた有意な遺伝子発現様式との比較を行った。

また、キシレンに関しては、IL-8 以外に分泌される生理活性物質についても多項目、同時定量を行い、poly I:C と化学物質との複合効果について検討した。

B. 研究方法

「刺激物質」

外来性吸入粉塵や微生物を代表する物質として、自然免疫系が病原体(特にウイルス)を認識する際のレセプターの agonist として知られる Poly I:C (Sigma-Aldrich:P9582) を選択した。

「化学物質」

シックハウス症候群関連 13 化学物質のうち、DUSP-1 の遺伝子発現の変化を観察する目的には、パラジクロロベンゼン(和光純薬工業:047-01315)、キシレン(和光純薬工業:244-00081)、クロルピリホス(Tronto Research Chemicals 社(株):C425300)、アセトアルデヒド(和光純薬工業:015-09576)、トルエン(和光純薬工業:204-01866)、ホルムアルデヒド(Polysciences Inc.: Cat No. 18814)の6種の化学物質を用いた。生理活性物質の測定には、キシレンおよびダイアジノン(和光純薬工業:040-31891)を用いた。

「細胞」

これまでの検討から、ヒト気道上皮細胞株の中で最も正常の細胞に近い応答性を維持し

ている安定した株化細胞として、BEAS2B (ATCC:CRL-9609)を用いた。

「培養および刺激」

細胞株を 25 cm² コラーゲンコートフラスコ (IWAKI:4100-010)を用い、気管支上皮細胞用増殖培地 BEGM(三光純薬:CC-3170)で培養し(5 × 10⁵ cells /flask)、90% confluent で、poly I:C (1, 10 µg/ml) で 24 時間刺激後、各化学物質を段階希釈して各々数段階の濃度で 3 時間添加した後、細胞を回収、total RNA を抽出した(RNeasy Mini Kit, Qiagen:74106)。これまでの系と同様に、1 µg の total RNA を random primer (TakaRa:3802)を用いて逆転写反応を行い、反応液量の 1/20 を 1PCR 反応に持ち込み、IL8 の mRNA 発現レベルを TaqMan Gene Expression Assay (Hs00174103_m1)、DUSP1 については、TaqMan Gene Expression Assay (Hs00610256_g1)、IL-1b については、TaqMan Gene Expression Assay (Hs01555410_m1)を用いた定量的 RT/PCR(Life Technology:Real-Time PCR System Step One Plus)で測定した。内在性コントロールには Human GAPDH を用い、 $\Delta\Delta Ct$ 法で非刺激細胞での発現を1としたときの各細胞での相対発現量を求めた。

「生理活性物質の測定」

poly I:C と キシレンの複合効果については、培養上清に分泌される生理活性物質を、Bio-Plex サスペンションアレイシステム (Bio-Rad:Bio-Plex200)を用いた。対象は、27 種類のサイトカイン等の生理活性物質 (IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-15, IL-17, Eotaxin, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB, RANTES, TNF- α , VEGF) を選択、同時測定した (27-plex Group I、Bio-Rad: M50-OKCAFOY)。

(倫理面への配慮)

個人に由来するヒト検体を用いておらず、公に入手される細胞株のみを用いている。

C. 研究結果

吸入曝露動物モデルにより得られた遺伝子発現量に有意な変化が見られた DUSP1 について、その遺伝子発現様式を、ヒト気道上皮細胞株を用いた細胞モデルにおいて検討した。すなわち、DUSP1 の mRNA 発現量を指標にして、微生物関連物質 (polyI:C) と各種化学物質との複合効果が見られるか否かを観察した。化学物質としては、動物モデルで使用された A: パラジクロロベンゼン (100, 1000, 2000 μ M)、B: キシレン (10, 100, 1000 μ M)、C: ホルムアルデヒド (1, 10, 100 μ M)、D: クロルピリホス (28.5, 285, 570 μ M)、E: アセトアルデヒド (50, 500, 5000 μ M)、F: トルエン (10, 100, 1000 μ M) を選択し、BEAS2B 細胞株を poly I:C (10 μ g/ml) で 24 時間刺激後、各種化学物質を 3 時間添加することにより、DUSP1 mRNA の定量を実施した。

その結果、パラジクロロベンゼン、クロルピリホス、アセトアルデヒドでは、DUSP1 の産生増強傾向が認められた。キシレンにおいては、この傾向は弱く、ホルムアルデヒドにおいても、DUSP1 の発現増強効果は弱かった。トルエンにおいては、DUSP1 の発現増強傾向は認められなかった。(図 1A, B, C, D, E, F)。

図1A

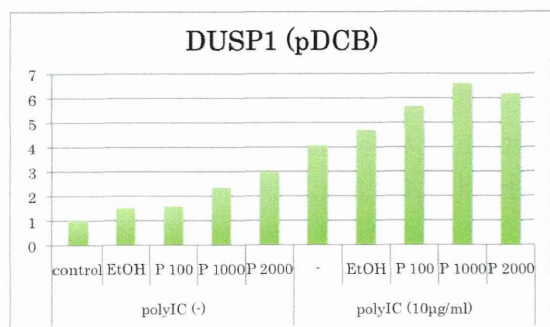


図 1B

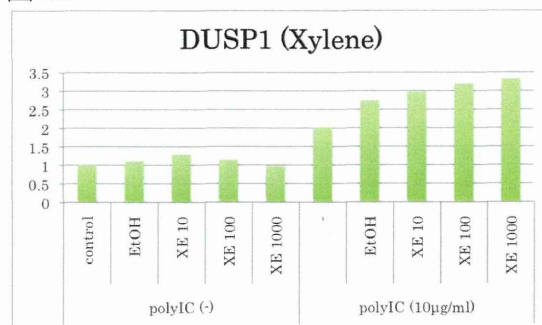


図 1C

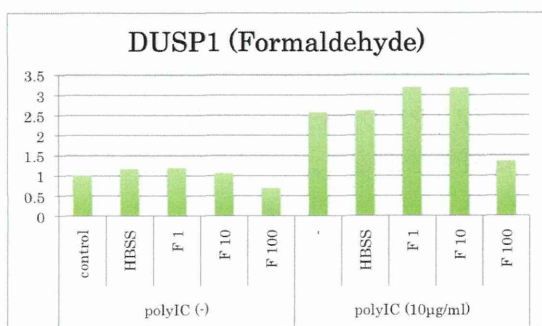


図 1D

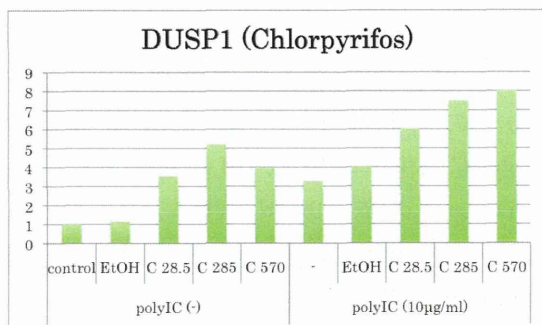


図 1E

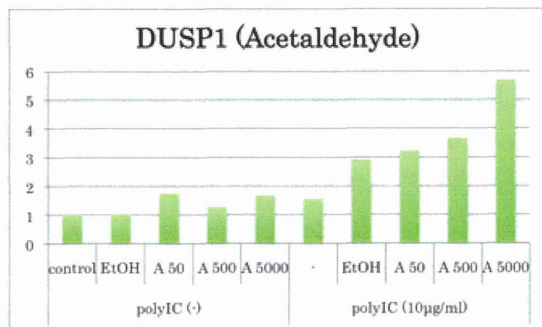


図1F

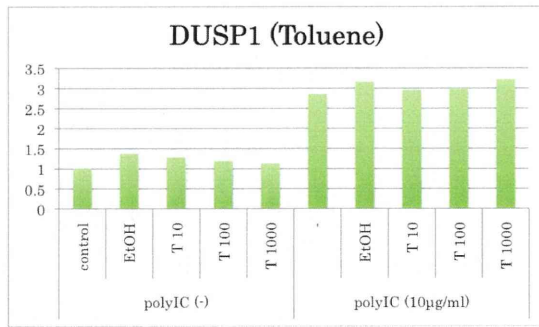


図1 Poly I:C (10 µg/ml)存在下 24 時間後、A: パラジクロロベンゼン、B: キシレン、C: ホルムアルデヒド、D: クロルピリホス、E: アセトアルデヒド、F: トルエン添加して、3時間後の DUSP1 の遺伝子発現量について、化学物質無添加を1としたときの相対発現レベルを表示した。

動物モデルで認められた DUSP1 以外の変化として、吸入暴露後の情動認知行動の異常が認められたキシレンと、IL-8 の発現増強効果が微弱ながら認められているダイアジノンについて、ヒト気道上皮細胞株を用いる *in vitro* の解析系にて、微生物関連物質 (polyI:C) と化学物質との複合効果がインターロイキン 8 の産生以外にも見られるかどうか、気道上皮細胞より分泌される多数の生理活性物質の同時定量を行なった。

その結果、poly I:C 曝露によりヒト気道上皮細胞株からは、IL-8 や IL-1β 以外の多数のサイトカイン・ケモカイン類が誘導されたが、化学物質として poly I:C にキシレンを加えた場合には、poly I:C 単独に比べて、炎症性疾患において単球および T 細胞の組織浸潤に関与するとされる MCP-1、及び好酸球性炎症に関与するケモカインとして知られる RANTES の産生増強効果が微弱ではあるが認められた(図 2A、B)。一方、ダイアジンを添加した場合、poly I:C 曝露単独に比べて、明らかな産生増強効果は認められなかった。

図 2A

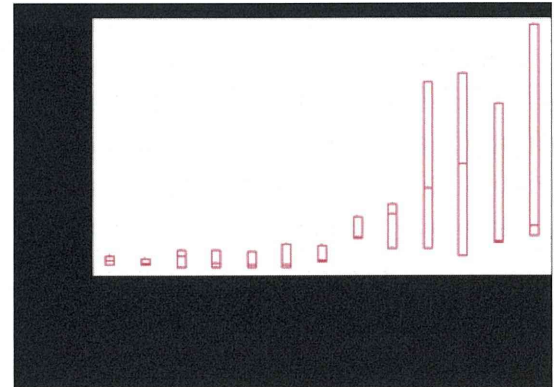


図 2B

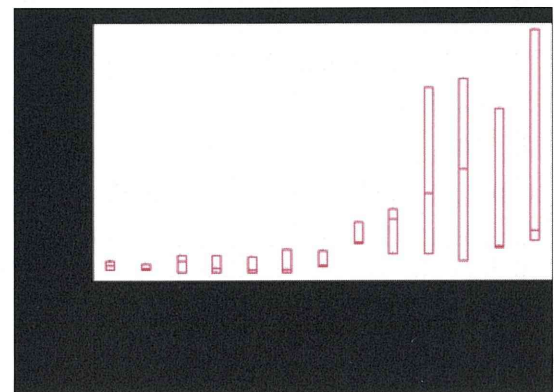


図 2 Poly I:C (10 µg/ml) 非存在(左)、存在(右) 24 時間後、キシレン添加3時間後の培養上清中の(A) MCP-1 (B) RANTES 量

また、吸入曝露動物モデルにより遺伝子発現の有意な差異が認められたことより昨年度測定対象とした IL-1β の発現量については、タンパクレベルでは差がみられなかったが、mRNA については、キシレン、ダイアジノンどちらの場合も polyI:C 刺激に関わらず、高濃度添加した場合には、IL1-β mRNA の発現が上昇した(図 3A、B)。