

平成29年度  
硫酸アンモニウムの生体影響調査

—吸入ばく露装置の導入・3か月間のばく露実験—

東京都健康安全研究センター  
生体影響研究科

1

## 吸入ばく露実験概要

### ばく露条件

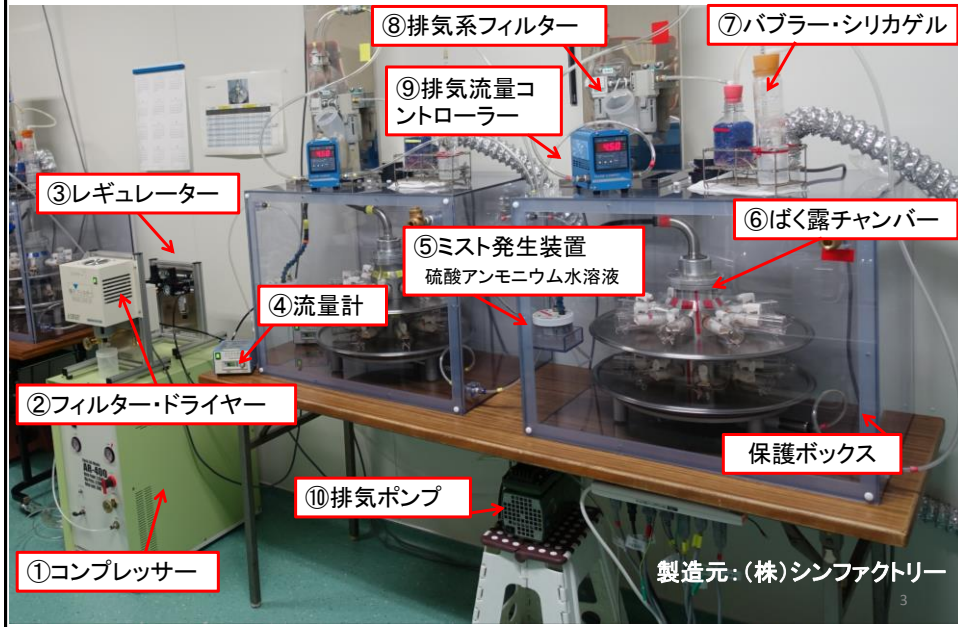
動物	BALB/c ♀ マウス 10週齢 1群16匹
ばく露形態	鼻部吸入ばく露装置
期間	3時間/日、5日間/週、3か月間 (ばく露日数の合計は68日)
群構成: 濃度 (mg/m <sup>3</sup> )	対照群: 0 (清浄空気) 低濃度群: 1 中濃度群: 10 高濃度群: 100

### 分析項目

基本事項	体重、臓器重量、摂餌量
病理組織学	呼吸器系を中心に各臓器
血液学	血球系検査
生化学	LDH活性、過酸化脂質(MDA)
免疫学	免疫グロブリン濃度 血中のリンパ球サブセット分析 肺胞洗浄液(BALF)中の細胞数 炎症関連遺伝子(定量的RT-PCR)

2

# 吸入ばく露装置の外観

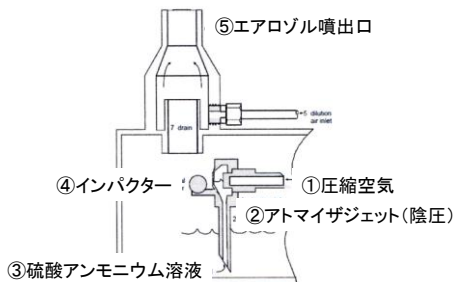


# 装置各部の詳細

ミスト発生装置

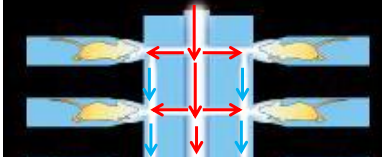


空気圧をかけることで、サブミクロンレベルのエアロゾルが得られる。



鼻部ばく露チャンバー

給気: 0.3L/min 排気: 0.28L/min



ばく露ポート



フローバスト方式  
呼気の影響を可能な限り排除

マウスホルダー

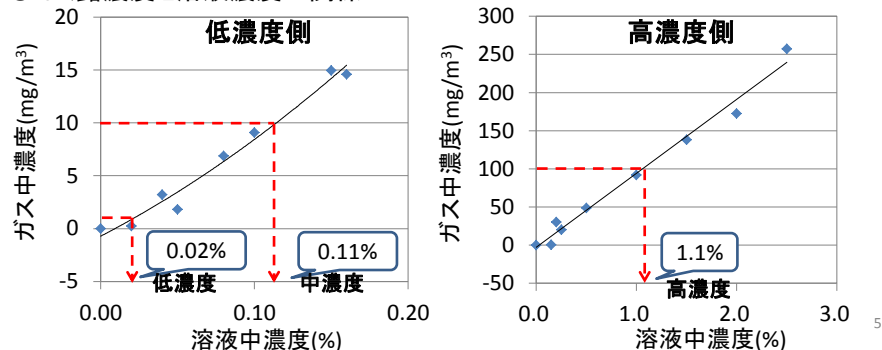


# 溶液濃度の設定

○ばく露濃度の測定

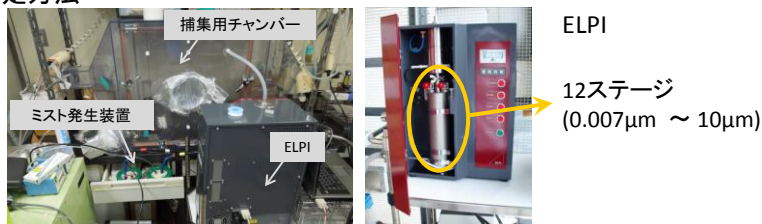


○ばく露濃度と溶液濃度の関係

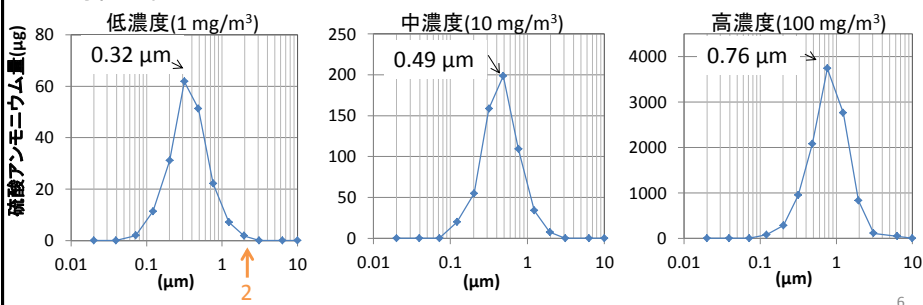


# 硫酸アンモニウムの粒子径分布

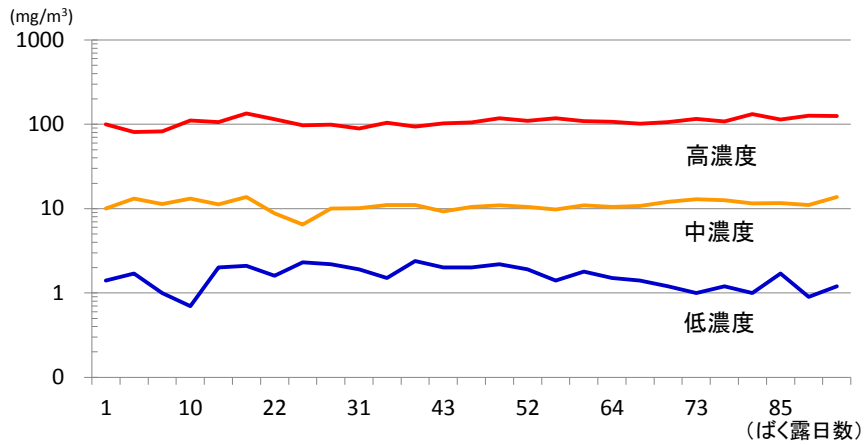
○測定方法



○平均粒子径

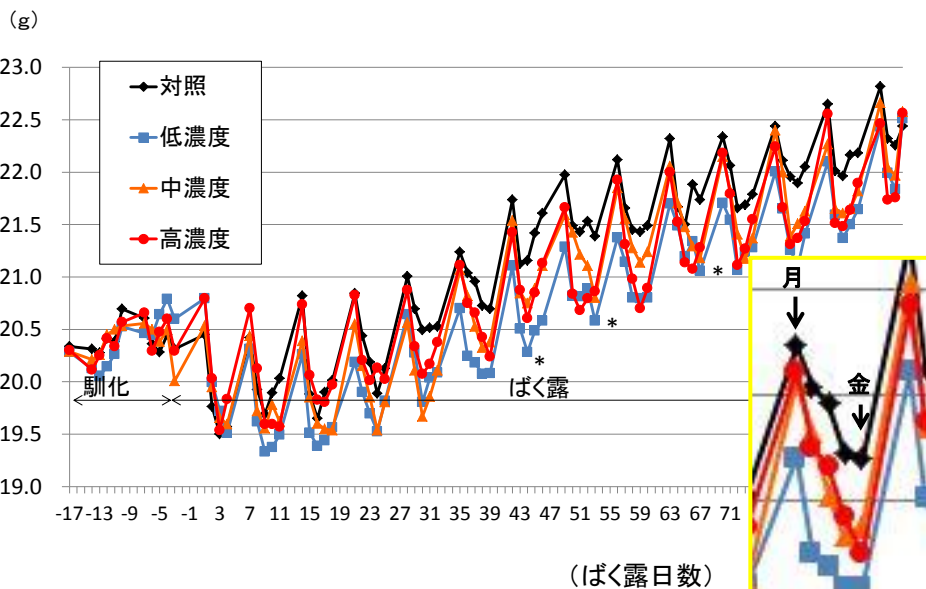


## 実験中のばく露濃度

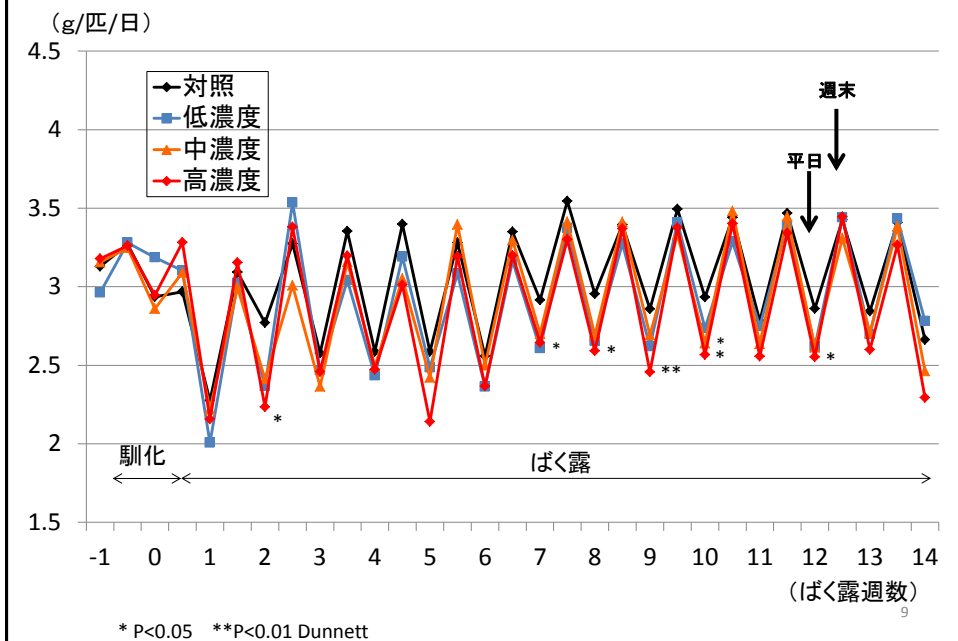


	低濃度	中濃度	高濃度
目標値(mg/m <sup>3</sup> )	1	10	100
平均値(mg/m <sup>3</sup> )	1.6±0.47	11.1±1.6	108±13.3
サンプリング日数	27	27	27

## 実験中の体重推移



## 摂餌量



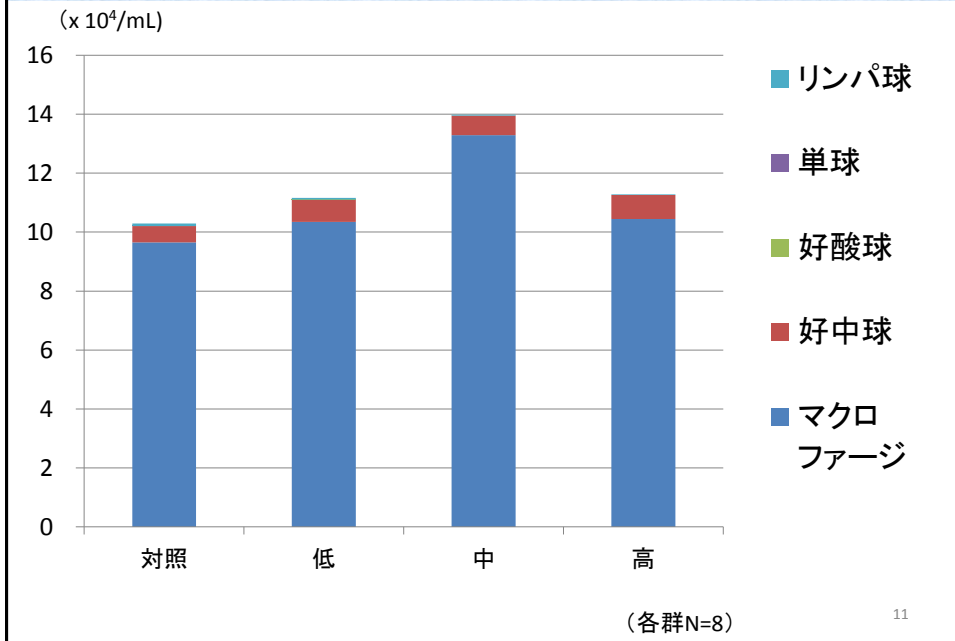
## 解剖時体重及び臓器重量

	対照	低	中	高
動物数	16	16	16	16
解剖時体重 (g)	22.2 ± 0.8	21.8 ± 1.1	22.1 ± 0.6	22.0 ± 0.8
副腎(左右) (mg)	6.59 ± 1.0	6.03 ± 1.0	5.99 ± 1.0	6.03 ± 0.7 <sup>c)</sup>
卵巣(左右) (mg)	8.62 ± 2.0	7.01 ± 2.1 *	7.31 ± 1.2	7.49 ± 1.8
胸腺 (mg)	21.6 ± 5.3	23.9 ± 3.5	24.1 ± 2.4	22.9 ± 5.2
脾臓 (mg)	92.1 ± 13.0	102.9 ± 55.5	90.4 ± 8.8	87.1 ± 11.9
腎臓(左右) (mg)	295.2 ± 21.6 <sup>b)</sup>	291.9 ± 27.0	287.8 ± 14.9	284.9 ± 12.6
心臓 (mg)	91.9 ± 5.3	91.4 ± 8.0	90.4 ± 5.0	91.2 ± 4.9
肺 <sup>a)</sup> (mg)	260.5 ± 31.0	255.4 ± 27.9	249.7 ± 35.3	245.7 ± 38.4
脳 (mg)	418.6 ± 28.0	421.3 ± 9.8	419.5 ± 10.4	419.4 ± 7.8
肝臓 (g)	0.977 ± 0.1	1.001 ± 0.1	1.000 ± 0.1	0.980 ± 0.1

\* P<0.05 Dunnett

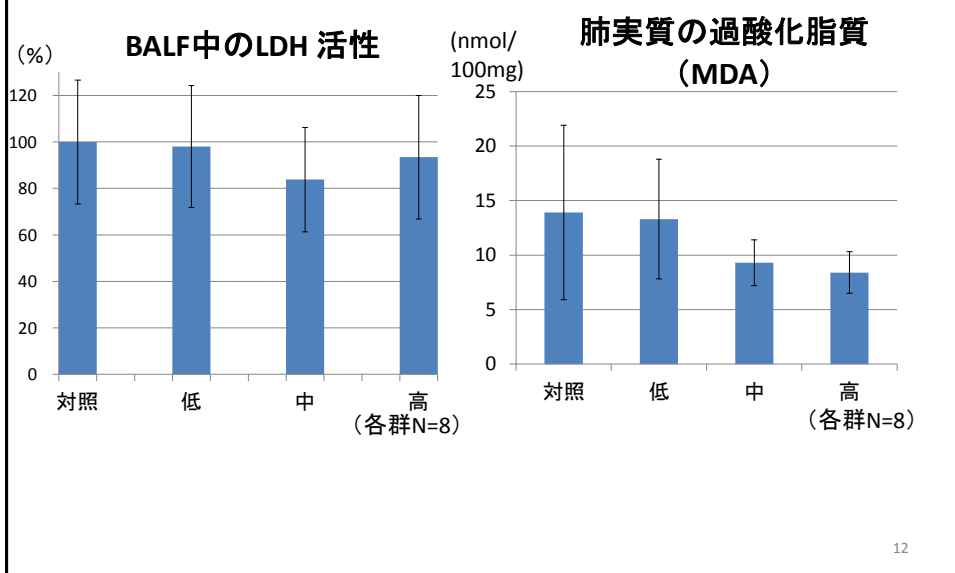
a) 肺: N=8、 b) 対照群の腎臓: N=15、 c) 高濃度群の副腎: N=15

## 肺胞洗浄液 (BALF) 中の細胞数



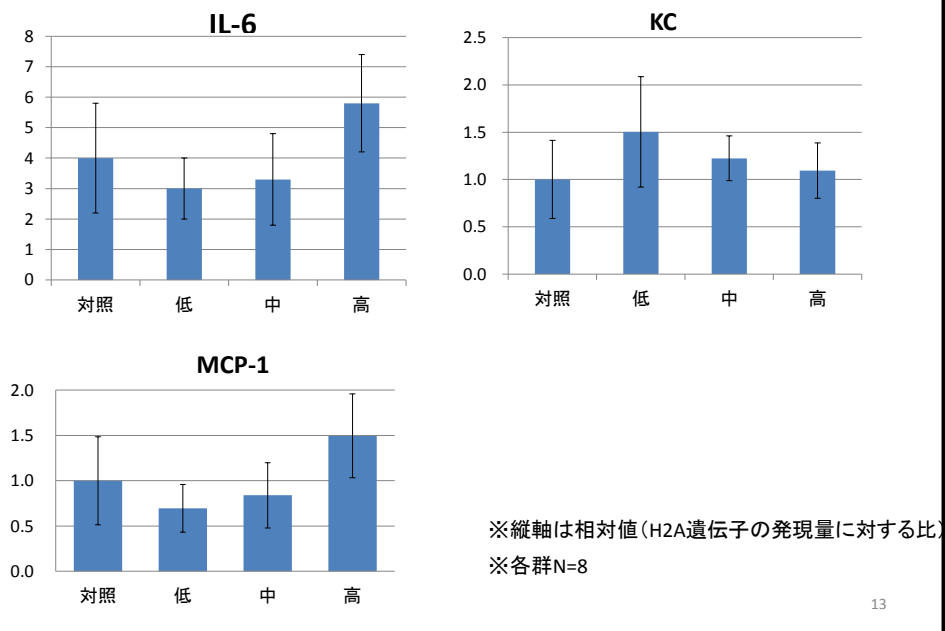
11

## 生化学的解析 (肺の障害性・酸化ストレス)



12

## 定量的RT-PCR(肺の炎症関連遺伝子)



13

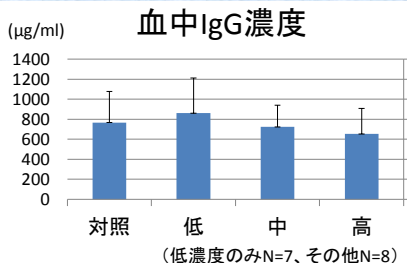
## 血球系検査

		対照 (N=16)	低 (N=15)	中 (N=16)	高 (N=16)
白血球数	$\times 10^2/\mu\text{L}$	21.6 ± 8.9	26.1 ± 12.9	19.4 ± 7.5	18.1 ± 5.6
好中球	$/\mu\text{L}$	2.6 ± 1.3	3.6 ± 1.4	2.9 ± 1.9	3.3 ± 1.3
リンパ球	$/\mu\text{L}$	9.7 ± 4.2	12.3 ± 5.7	8.5 ± 3.2	7.8 ± 3.3
単球	$/\mu\text{L}$	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
好酸球	$/\mu\text{L}$	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.3	0.2 ± 0.2
好塩基球	$/\mu\text{L}$	0	0	0	0
赤血球数	$\times 10^4/\mu\text{L}$	915 ± 36.9	922 ± 22.3	904 ± 28.6	899 ± 45.8
ヘモグロビン濃度	g/dL	13.8 ± 0.5	13.9 ± 0.4	13.7 ± 0.4	13.5 ± 0.7
ヘマトクリット値	%	45.9 ± 2.0	46.2 ± 1.2	45.4 ± 1.4	45.0 ± 2.3
平均赤血球容積	fL	50.2 ± 0.4	50.1 ± 0.4	50.2 ± 0.4	50.1 ± 0.5
平均ヘモグロビン量	pg	15.1 ± 0.2	15.0 ± 0.2	15.2 ± 0.2	15.0 ± 0.3
平均ヘモグロビン濃度	g/dL	30.2 ± 0.4	30.0 ± 0.2	30.2 ± 0.4	30.0 ± 0.5
血小板数	$\times 10^4/\mu\text{L}$	98.0 ± 6.1	96.5 ± 7.3	94.0 ± 11.0	101.0 ± 12.1

平均値 ± SD値

14

## 免疫学的解析



**血中IgE濃度**  
各群ともほぼ不検出

### 血中のリンパ球サブセット分析

	対照 (N=16)	低 (N=15)	中 (N=15)	高 (N=16)
白血球 ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	21.6 $\pm$ 8.9	26.1 $\pm$ 12.9	19.4 $\pm$ 7.5	18.1 $\pm$ 5.6
T細胞 ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	8.1 $\pm$ 3.3	10.5 $\pm$ 5.1	7.5 $\pm$ 3.1	7.1 $\pm$ 2.7
CD4 <sup>+</sup> T細胞 <sup>a)</sup> ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	6.3 $\pm$ 2.5	8.1 $\pm$ 3.9	5.8 $\pm$ 2.3	5.5 $\pm$ 2.1
CD8 <sup>+</sup> T細胞 <sup>b)</sup> ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	1.7 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 1.1	1.6 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.6
CD4 <sup>+</sup> T細胞/CD8 <sup>+</sup> T細胞 <sup>c)</sup>	3.9 $\pm$ 0.4	3.8 $\pm$ 0.4	3.9 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.6
B細胞 ( $\times 10^2/\mu\text{L}$ )	5.3 $\pm$ 3.1	6.6 $\pm$ 4.2	4.6 $\pm$ 2.9	3.4 $\pm$ 1.4

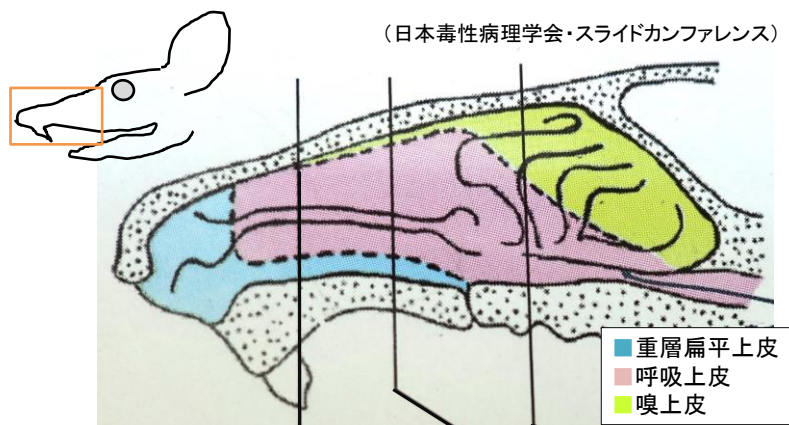
平均値  $\pm$  標準偏差

a) ヘルパーT細胞、b) 細胞傷害性T細胞、c) b)に対するa)の比

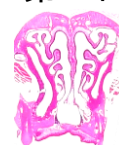
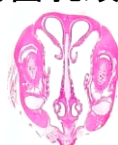
15

## 病理組織学的解析：鼻腔

(日本毒性病理学会・スライドカンファレンス)



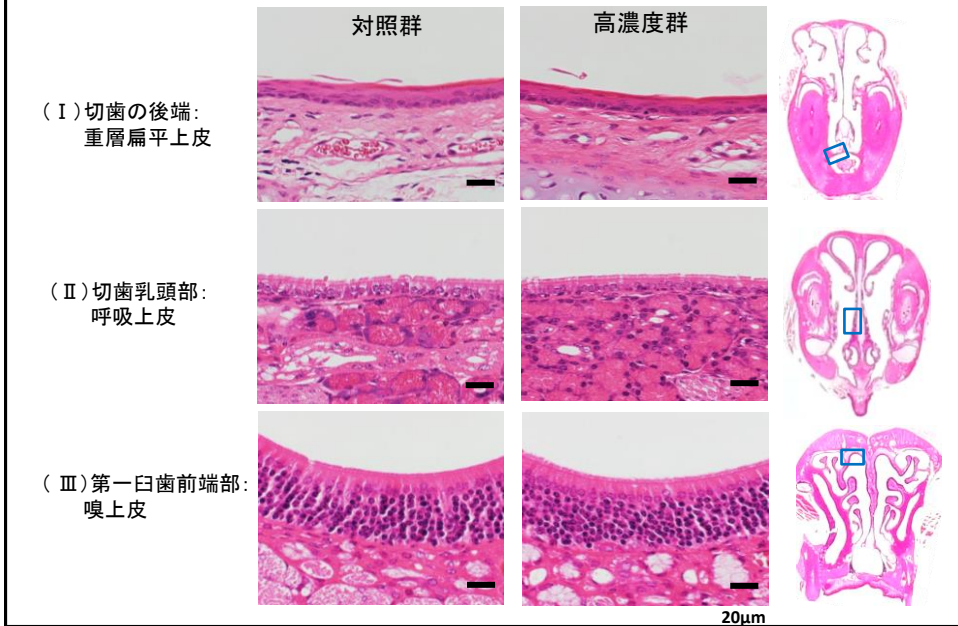
I: 切歯後端 II: 切歯乳頭部 III: 第一臼歯部



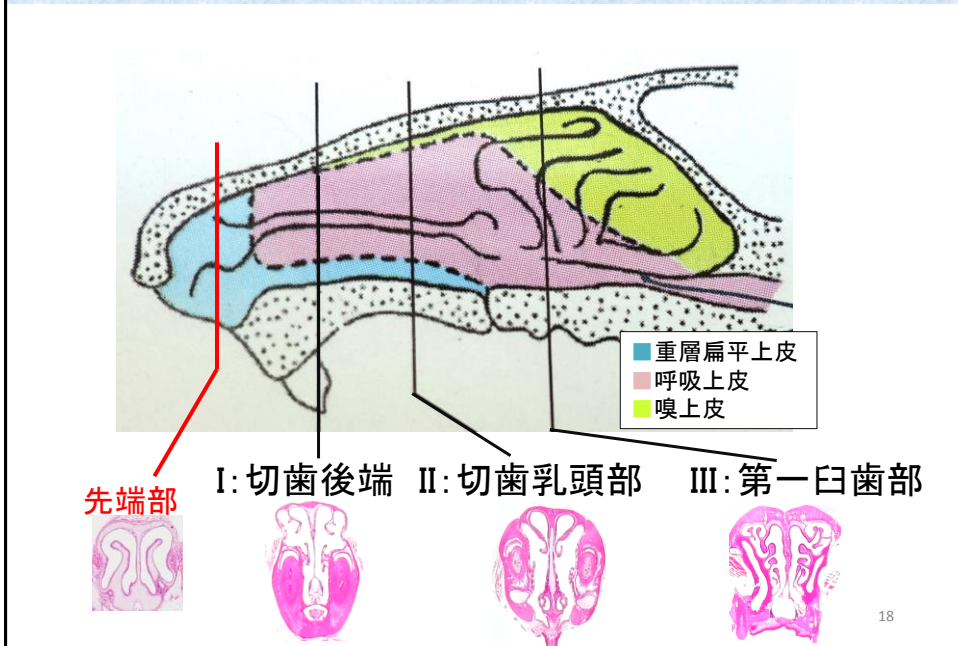
16



# 病理組織学的解析：鼻腔

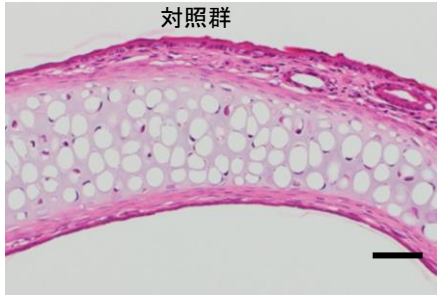


# 病理組織学的解析：鼻腔



# 病理組織学的解析：鼻腔

## 鼻腔先端部：重層扁平上皮



上皮の軽度肥厚と炎症性細胞浸潤

19

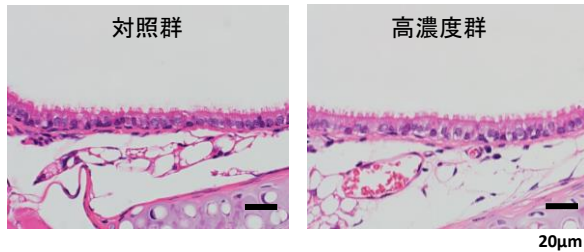
# 病理組織学的解析：鼻腔

各群N=16

部位	上皮の種類	所見	対照	低	中	高
先端部	重層扁平上皮	炎症性細胞浸潤	0	1	1	2
I	重層扁平上皮	肥厚	0	0	0	0
	呼吸上皮	炎症性細胞浸潤	0	1	0	0
		線毛消失	0	0	0	0
		壊死	0	0	0	0
II	重層扁平上皮	炎症性細胞浸潤	0	0	0	0
		肥厚	0	0	0	0
	呼吸上皮	線毛消失	0	0	0	0
		壊死	0	0	0	0
	嗅上皮	壊死	0	0	0	0
III	呼吸上皮	線毛消失	0	0	0	0
		壊死	0	0	0	0
	嗅上皮	壊死	0	0	0	0

20

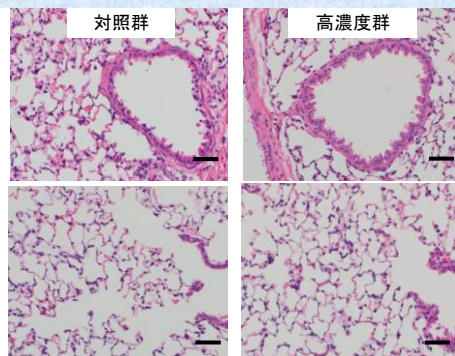
## 病理組織学的解析：気管・気管支



所見	各群N=16			
	対照	低	中	高
線毛消失	0	0	0	0
粘液貯留	0	0	0	0
杯細胞化生	0	0	0	0
気管及び気管支平滑筋肥大	0	0	0	0
気管上皮の変性(線毛消失)	0	0	0	0
好酸球浸潤	0	0	0	0
炎症性細胞浸潤	0	0	0	0
気管/気管支周囲線維化	0	0	0	0

21

## 病理組織学的解析：肺実質・細気管支



所見	各群N=16			
	対照	低	中	高
被膜下における細胞浸潤	2	2	1	2
細気管支周囲の細胞浸潤	3	0	1	2
マクロファージ集簇	1	0	0	1
局所性炎症	0	0	0	1
肉芽腫様炎症	0	0	0	0
肺胞上皮の肥大	0	0	0	0
肺胞壁線維化	0	0	0	0

22

## まとめ

### ○ばく露条件

- ・おおむね目標濃度を維持することができた。
- ・粒子径は0.5 $\mu$ m前後で、都内環境中の粒子径と同程度かつマウスの肺の深部まで届く大きさ(1 $\mu$ m未満)であった。

### ○体重

ばく露期間(平日)に体重が抑制される傾向は、ばく露群で強かった。硫酸アンモニウムのばく露によるストレスで摂餌量が減少したことと関係すると思われる。

### ○呼吸器系

- ・各種の分析結果において、ばく露による顕著な影響は認められなかった。
- ・ばく露群の動物にのみ、鼻腔の先端部にわずかな炎症巣を認めた。

### ○免疫系

- ・免疫グロブリンや免疫担当細胞などにばく露による影響は見られなかった。

文献値(0.1~1.0mg/m<sup>3</sup>)や都内大気中濃度(0.002mg/m<sup>3</sup>)に比べて、1000倍から50000倍程度の高いばく露濃度であるにも関わらず、正常マウスに対する生体影響は認められなかった。  
H31年度には、ぜん息症状に及ぼす影響を調べる。

23